

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4434580号
(P4434580)

(45) 発行日 平成22年3月17日 (2010.3.17)

(24) 登録日 平成22年1月8日 (2010.1.8)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 K 16/10 (2006.01)

C O 7 K 16/10

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 1/21

請求項の数 50 (全 216 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2002-545639 (P2002-545639)
 (86) (22) 出願日 平成13年11月28日 (2001.11.28)
 (65) 公表番号 特表2004-534513 (P2004-534513A)
 (43) 公表日 平成16年11月18日 (2004.11.18)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2001/044807
 (87) 国際公開番号 W02002/043660
 (87) 国際公開日 平成14年6月6日 (2002.6.6)
 審査請求日 平成16年11月26日 (2004.11.26)
 (31) 優先権主張番号 09/724, 396
 (32) 優先日 平成12年11月28日 (2000.11.28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 09/724, 531
 (32) 優先日 平成12年11月28日 (2000.11.28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 504333972
 メディミュン、エルエルシー
 アメリカ合衆国 20878 メリーラン
 ド州、ゲイサーズバーグ、ワン メディミ
 ユン ウェイ
 (74) 代理人 100091096
 弁理士 平木 祐輔
 (74) 代理人 100118773
 弁理士 藤田 節
 (74) 代理人 100111741
 弁理士 田中 夏夫
 (72) 発明者 ヤング、ジェームズ、エフ.
 アメリカ合衆国 20854 メリーラン
 ド州、ボトマック、リバー ビュー コー
 ト 9905

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 予防及び治療のために抗RSV抗体を投与／処方する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

呼吸器合胞体ウイルス (RSV) F抗原に特異的に結合する抗体であって、
 配列番号254で表されるアミノ酸配列を含む可変重鎖 (VH chain) 及び
 配列番号255で表されるアミノ酸配列を含む可変軽鎖 (VL chain) を含む、前記抗体。

【請求項2】

呼吸器合胞体ウイルス (RSV) F抗原に特異的に結合する抗体であって、
 配列番号10で表されるアミノ酸配列からなるVH CDR1、配列番号19で表されるアミノ酸配
 列からなるVH CDR2、及び配列番号20で表されるアミノ酸配列からなるVH CDR3を含む可変
 重鎖 (VH chain) 又は可変重 (VH) ドメイン、並びに
 配列番号39で表されるアミノ酸配列からなるVL CDR1、配列番号5で表されるアミノ酸配列
 からなるVL CDR2、及び配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるVL CDR3 を含む可変軽
 鎖 (VL chain) 又は可変軽 (VL) ドメインを含む、
 前記抗体。

【請求項3】

図2に示されるフレームワーク領域を含む請求項2に記載の抗体。

【請求項4】

前記抗体がモノクローナル抗体である請求項1又は3記載の抗体

【請求項5】

前記抗体がFab又は F(ab')₂ フラグメントである請求項2又は3記載の抗体。

【請求項 6】

前記抗体がヒト化抗体である請求項2記載の抗体。

【請求項 7】

前記フレームワーク領域が一つ以上のアミノ酸の変異を含む請求項3記載の抗体。

【請求項 8】

請求項1-7いずれか1項記載の抗体及び製薬上許容されうる担体を含む組成物。

【請求項 9】

前記組成物が製薬組成物である請求項8記載の組成物。

【請求項 10】

請求項1,2又は3に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子。

10

【請求項 11】

請求項10記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項 12】

核酸分子の発現を制御するヌクレオチド配列を更に含む請求項11記載のベクター。

【請求項 13】

請求項10記載の核酸分子を含む又は発現するように遺伝子操作された宿主細胞。

【請求項 14】

請求項11記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 15】

宿主細胞が哺乳類の宿主細胞である請求項13又は14記載の宿主細胞。

20

【請求項 16】

哺乳類宿主細胞が、CHO, VERY, BHK, HeLa, COS, MDCK, 292, 3T3 W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20, T47D, NS0, CRL7030 及び HsS78Bst からなる群から選ばれる哺乳類細胞である請求項15に記載の宿主細胞。

【請求項 17】

請求項13～16いずれか1項に記載の宿主細胞を前記核酸分子が発現される条件下で培養することを含む、抗体の製造方法。

【請求項 18】

使用説明書及び容器内の請求項 1～7 いずれか1項に記載の抗体、を含むキット。

【請求項 19】

使用説明書及び容器内の請求項10に記載される核酸分子、を含むキット。

30

【請求項 20】

非-IgGポリペプチドが組換え法により融合された請求項1～7いずれか1項に記載の抗体を含む融合タンパク質。

【請求項 21】

請求項20の融合タンパク質及び製薬上許容されうる担体を含む組成物。

【請求項 22】

前記組成物が医薬組成物である請求項21記載の組成物。

【請求項 23】

使用説明書及び容器に入れられた請求項20記載の融合タンパク質、を含むキット。

40

【請求項 24】

非-IgGポリペプチドが化学的にコンジュゲートされた請求項1～7いずれか1項記載の抗体を含む抗体コンジュゲート。

【請求項 25】

前記非-IgGポリペプチドが診断剤又は治療剤である請求項24記載の抗体コンジュゲート。

【請求項 26】

請求項24又は25記載の抗体コンジュゲート及び製薬上許容されうる担体を含む組成物。

【請求項 27】

前記組成物が医薬組成物である請求項26に記載の組成物。

50

【請求項 28】

使用説明書及び容器に入れられた請求項24又は25に記載の抗体コンジュゲート、を含むキット。

【請求項 29】

請求項20に記載される融合タンパク質の製造方法であって、

- (a) 前記融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列に制御可能に結合されたプロモーターを含むベクターで宿主細胞を形質転換し、そして
- (b) 該宿主細胞を培養して該融合タンパク質を生産することを含む、前記方法。

【請求項 30】

in vitro でRSV感染を検出する方法であって、

10

- (a) 被験者の細胞又は組織のサンプルを請求項1～7いずれか1項に記載の抗体と接触させ、そして
- (b) 該細胞又は組織のサンプル中のRSV F抗原のレベルを検出することを含み、ここで、RSVに感染していない細胞又は組織中のRSV F抗原の対照レベルと比較して被験者の細胞又は組織サンプル中のRSV F抗原の増加をRSV感染の指標とする、前記方法。

【請求項 31】

in vitroでRSV感染を検出する方法であって、

- (a) 被験者の細胞又は組織のサンプルを請求項20に記載の融合タンパク質と接触させ、そして
- (b) 前記細胞又は組織サンプル中にRSV Fタンパク質のレベルを検出し、ここで、RSVに感染していない細胞又は組織中のRSV F抗原の対照レベルと比較して被験者の細胞又は組織サンプル中のRSV F抗原の増加をRSV感染の指標とする、前記方法。

20

【請求項 32】

in vitro でRSV感染を検出する方法であって、

- (a) 被験者の細胞又は組織のサンプルを請求項24又は25に記載の抗体コンジュゲートに接触させ、そして
- (b) 前記細胞又は組織サンプル中にRSV Fタンパク質のレベルを検出し、ここで、RSVに感染していない細胞又は組織中のRSV F抗原の対照レベルと比較して被験者の細胞又は組織サンプル中のRSV F抗原の増加をRSV感染の指標とする、前記方法。

30

【請求項 33】

筋肉内送達用に製剤化された請求項9に記載される組成物。

【請求項 34】

RSV感染又はその症状の防止に使用するための請求項21, 22, 26, 27, 又は33記載の組成物。

【請求項 35】

RSV感染又はその症状の治療に使用するための請求項21, 22, 26, 27, 又は33記載の組成物。

【請求項 36】

RSV感染又はその症状の診断に使用するための請求項21, 22, 26, 27, 又は33記載の組成物。

40

【請求項 37】

哺乳類におけるRSV感染又はその症状の予防に使用するための医薬の製造における請求項1～7いずれか1項に記載の抗体の使用。

【請求項 38】

哺乳類におけるRSV感染又はその症状の予防に使用するための医薬の製造における請求項8又は9に記載の組成物の使用。

【請求項 39】

哺乳類におけるRSV感染又はその症状の予防に使用するための医薬の製造における請求項3に記載の組成物の使用。

【請求項 40】

50

哺乳類におけるRSV感染又はその症状の治療に使用するための医薬の製造における請求項1～7いずれか1項に記載の抗体の使用。

【請求項41】

哺乳類におけるRSV感染又はその症状の治療に使用するための医薬の製造における請求項8又は9に記載の組成物の使用。

【請求項42】

哺乳類におけるRSV感染又はその症状の治療に使用するための医薬の製造における請求項3に記載の組成物の使用。

【請求項43】

哺乳類におけるRSV力価の低下に使用するための医薬の製造における請求項1～7いずれか1項に記載の抗体の使用。

10

【請求項44】

哺乳類におけるRSV力価の低下に使用するための医薬の製造における請求項8又は9に記載の組成物の使用。

【請求項45】

哺乳類におけるRSV力価の低下に使用するための医薬の製造における請求項33に記載の組成物の使用。

【請求項46】

筋肉内に投与される、請求項37～45のいずれか1項に記載の使用。

【請求項47】

20

哺乳類がヒト被験者である請求項37～45いずれか1項記載の使用。

【請求項48】

哺乳類が老人ホームにおけるヒト被験者、孤児院のヒト被験者、骨髄移植を受けたヒト被験者、老齢のヒト被験者又は嚢胞性線維症、気管支肺異形成、先天性心疾患、先天性免疫不全もしくは後天性免疫不全を患うヒト被験者である、請求項37～45のいずれか1項に記載の使用。

【請求項49】

哺乳類がヒト幼児である、請求項37～45のいずれか1項に記載の使用。

【請求項50】

哺乳類が未熟児であるかまたはRSV感染で入院するリスクのあるヒト幼児である、請求項37～45のいずれか1項に記載の使用。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

1. 緒言

本発明はRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片を含んでなる組成物、及び前記組成物を用いて呼吸器合胞体ウイルス(RSV)感染に関連した予防、治療または症状を改善する方法に関する。特に、本発明はRSV感染に関連した予防、治療または症状を改善する方法であって、ヒト被験者にRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の有効量を投与し、前記ヒト被験者において前記抗体または抗体断片のある一定の血清力価(serum titer)を達成することを含んでなる前記方法に関する。本発明はまた、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片を含んでなる検出可能なまたは診断用の組成物ならびに前記組成物を利用してRSV感染を検出または診断する方法にも関する。

40

【背景技術】

【0002】

2. 発明の背景

呼吸器合胞体ウイルス(RSV)は、幼児及び小児における重篤な下気道疾患の主導的な病因である(Feigenら, 編, 1987, In: Textbook of Pediatric Infectious Diseases, WB Saunders, Philadelphia, 1653-1675頁; New Vaccine Development, Establishing Pr

50

iorities, Vol.1, 1985, National Academy Press, Washington DC, 397-409頁；及びRuuskanenら, 1993, Curr. Probl. Pediatr. 23:50-79)。世界中のRSV感染の年間流行特性は明らかであるが、所与のシーズンにおけるRSV疾患の発病率と重篤度は地域により変化する(Hall, C. B., 1993, Contemp. Pediatr. 10: 92-110)。北半球の温帯地域では、通常、晩秋に始まり晩春に終わる。院内流行時に、一次RSV感染が起こるのは6週～2歳齡の小児において最も高頻度であり、出生後最初の4週間においては珍しい(Hallら, 1979, New Engl. J. Med. 300:393-396)。RSV感染リスクの高い小児は、未熟児(Hallら, 1979, New Engl. J. Med. 300:393-396)ならびに気管支肺異形成症(Groothuisら, 1988, Pediatrics 82:199-203)、先天性心疾患(MacDonaldら, New Engl. J. Med. 307:397-400)、先天性もしくは後天性免疫不全(Ograら, 1988, Pediatr. Infect. Dis. J. 7:246-249；及びPohlら, 1992, J. Infect. Dis. 165:166-169)及び嚢胞性線維症(Abmanら, 1988, J. Pediatr. 113:826-830)を患う小児が挙げられる。心または肺疾患で入院中の幼児のRSV感染による致死率は3%～4%である(Navasら, 1992, J. Pediatr. 121:348-354)。

【 0 0 0 3 】

RSVは、幼児及び小児と同様に成人にも感染する。健康な成人において、RSVは主に上気道疾患を起こす。最近、複数の成人、特に高齢者は従来報じられていたより高頻度で合胞体ウイルスRSVに感染することが明らかになった(Evans, A. S. 編, 1989, Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control, 第3版, Plenum Medical Book, New York, 525-544頁)。複数の流行症例はまた、自宅療養患者及び公共施設に収容された若年成人の間でも報じられている(Falseey, A. R., 1991, Infect. Control Hosp. Epidemiol. 12:602-608；及びGarvieら, 1980, Br. Med. J. 281:1253-1254)。最後に、RSVは、免疫抑制性の人たち、特に骨髄移植患者に重篤な疾患を起こしうる(Hertzら, 1989, Medicine 68:269-281)。

【 0 0 0 4 】

確立したRSV疾患に対する治療選択肢は限られている。下気道の重篤なRSV疾患はしばしば相当な支援看護が必要であり、加湿酸素の投与及び呼吸補助が挙げられる(Fieldsら編, 1990, Fields Virology, 第2版, Vol.1, Raven Press, New York 1045-1072頁)。感染治療用に認可された唯一の医薬は、抗ウイルス剤リバビリン(ribavirin)である(American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases, 1993, Pediatrics 92:501-504)。これはRSV肺炎及び細気管支炎の治療に有効であって、免疫応答性小児の重篤なRSV疾患経過を和らげることが示されている(Smithら, 1991, New Engl. J. Med. 325:24-29)。しかしリバビリンは長期のエアロゾル投与が必要であるためにまた病院環境でのその投与中に薬物に曝される妊婦に対する潜在リスクの懸念があるために使用が限られる。

【 0 0 0 5 】

ワクチンがあればRSV感染を防止しうるが、この適応症に対するワクチンはまだ許可されてない。ワクチン開発の大きな障害は安全性である。ホルマリン不活化ワクチンは免疫原性をもつが、免疫感作した幼児において、同様に調製した三価パラインフルエンザワクチンで免疫感作した幼児におけるより高いかつより重篤なRSVによる下気道疾患の発生率を意外にも起こした(Kimら, 1969, Am. J. Epidemiol. 89:422-434；及びKapikianら, 1969, Am. J. Epidemiol. 89:405-421)。複数の候補RSVワクチンは断念されていてかつ他のワクチンは開発中である(Murphyら, 1994, Virus Res. 32:13-36)、しかし安全性問題が解決されたとしてもまたワクチン有効性が改善されなければならない。多数の解決すべき問題が残っている。下気道疾患のピーク発生率は2～5月齡であるので、新生児期初期に免疫感作が必要であろう。未成熟な新生児免疫応答とともに高い母性獲得RSV抗体の力価は、新生児期のワクチン免疫原性を低下させると予想される(Murphyら, 1988, J. Virol. 62:3907-3910；及びMurphyら, 1991, Vaccine 9:185-189)。最後に、一次RSV感染及び疾患はその後のRSV疾患を十分に保護しない(Hendersonら, 1979, New Engl. J. Med. 300:530-534)。

【 0 0 0 6 】

現在、RSV疾患の予防に対する唯一の認可された手法は受動免疫である。IgGの保護的役割を示唆する最初の確証は、フェレット (Prince, G. A., Ph.D. 学位論文, University of California, Los Angeles, 1975) 及びヒト (Lambrechtら, 1976, J. Infect. Dis. 134:211-217; 及び Glezenら, 1981, J. Pediatr. 98:708-715) の母性抗体に関わる観察から得られた。Hemmingら (Morellら, 編, 1986, Clinical Use of Intravenous Immunoglobulins, Academic Press, London, 285-294頁) は、新生児敗血症の疑いをもつ新生児の静脈内免疫グロブリン (IVIG) の薬理動態に関わる研究に、RSV感染の治療または予防におけるRSV抗体の効用の可能性を認識した。彼らは、その呼吸分泌物からRSVを得た1幼児がIVIG注入後に速やかに回復したことに注目した。その後のIVIGロットの分析は、RSV中和抗体 (RSV neutralizing antibody) の異常に高い力価を示した。次いでこの同じ研究者グループは、RSV中和抗体を強化した超免疫 (hyperimmune) 血清または免疫グロブリンについて、RSV感染に対してコトンラット (cotton rat) 及び霊長類を保護する能力を試験した (Princeら, 1985, Virus Res. 3:193-206; Princeら, 1990, J. Virol. 64:3091-3092; Hemmingら, 1985, J. Infect. Dis. 152:1083-1087; Princeら, 1983, Infect. Immun. 42:81-87; 及び Princeら, 1985, J. Virol. 55:517-520)。これらの研究結果は、予防的に与えたRSV中和抗体はコトンラットにおけるRSVの気道複製を抑制することを示唆した。治療的に与えると、RSV抗体はコトンラット及び非ヒト霊長類モデルの両方における肺ウイルス複製を低下した。さらに、免疫血清または免疫グロブリンを受動輸液すると、次いでRSVを用いてチャレンジしたコトンラットにおける肺病理の亢進が起らなかった。

10

20

【 0 0 0 7 】

最近の臨床研究は、この受動投与したRSV超免疫グロブリン (RSV IVIG) がRSVによる重篤な下気道感染のリスクから小児を保護する能力のあることを実証した (Groothuisら, 1993, New Engl. J. Med. 329:1524-1530; 及び The PREVENT Study Group, 1997, Pediatrics 99:93-99)。これはRSV感染予防における大きな進歩であるが、この治療は利用の普及にある一定の制限を課している。第1に、RSV IVIGを数時間にわたって静脈輸液して有効用量を達成しなければならない。第2に、超免疫グロブリン中の活性物質の濃度はリスクのある成人または感染無防備状態の心肺機能をもつほとんどの小児を治療するには不十分である。第3に、RSVシーズン中、静脈輸液のために毎月の病院通いが必要である。最後に、この製品需要を満たすRSV用超免疫グロブリンを生産するために十分な供与者を選択することが困難であることが判明するであろう。現在、正常な供与者のわずかほぼ8%しか、超免疫グロブリンを産生すると認定されるのに十分な高いRSV中和抗体力価を有しない。

30

【 0 0 0 8 】

免疫グロブリンの特異的活性を改良する1つの方法は1以上の高効力のRSV中和モノクローナル抗体 (MAbs) を開発することであろう。そのようなMAbsは、好都合な薬物動態を保持しかつRSVシーズン全体を通じての反復投与が必要であるのでヒトの抗マウス抗体応答の発生を避けるため、ヒトのものであるかまたはヒト化しなければならない。RSV表面上の2種の糖タンパク質、F及びGが中和抗体の標的であることは示されている (Fieldsら、1990、前掲; 及び Murphyら、1994、前掲)。これらの2種のタンパク質はまた、主にウイルスの認識及び標的細胞中への進入にも関わり; Gタンパク質は特定の細胞受容体と結合しかつFタンパク質はウイルスと細胞との融合を促進する。Fタンパク質はまた感染した細胞の表面上にも発現され、他細胞との融合に関わって次いで合胞体 (syncytia) の形成に至る。従って、Fタンパク質に対する抗体は直接、ウイルスを中和するかまたはウイルスの細胞中への進入をブロックするかまたは合胞体形成を防止する。G及びFタンパク質の両方についてサブタイプAとBの間の抗原性及び構造の相違が記載されているが、G糖タンパク質についてはより顕著な抗原性の相違が存在し、アミノ酸配列は53%しか相同的でなくかつ抗原性の関連性は5%である (Walshら, 1987, J. Infect. Dis. 155:1198-1204; 及び Johnsonら, 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:5625-5629)。逆に、F

40

50

タンパク質に対して産生される抗体はサブタイプ A と B ウイルスの間で高度の交差反応性を示す。Beeler 及び Coelingh (1989, J. Virol. 7:2941-2950) は、RSV F タンパク質に対する 18 種の異なるマウス抗体を徹底的に分析した。これらの MAbs の生物学的及び生化学的特性を比較して、3 つの明確な抗原部位を同定した (A、B、及び C と呼ぶ)。1956 ~ 1985 年に単離した RSV 株のパネルに対する中和研究を実施して、抗原部位 A 及び C 内のエピトープは高度に保存されるが、抗原部位 B のエピトープは可変性であることを実証した。

【0009】

RSV の F タンパク質の A 抗原部位のエピトープに対するヒト化抗体、SYNAGIS (登録商標) は、RSV により起こる重篤な下気道疾患を予防するため、RSV シーズン (北半球の 11 月 ~ 4 月) 全体を通して、15mg/kg 体重の推奨毎月用量で、小児患者に対する筋内投与が認可されている。SYNAGIS (登録商標) はヒト (95%) 及びマウス (5%) 抗体配列の複合物である。その全内容が本明細書に参照により組み入れられる Johnson ら, 1997, J. Infect. Diseases 176:1215-1224 及び米国特許第 5,824,307 号を参照すること。ヒト重鎖配列は、ヒト IgG₁ の定常ドメインならびに VH 遺伝子、または Cor (Press ら, 1970, Biochem. J. 117:641-660) 及び Cess (Takashi ら, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:194-198) の可変フレームワーク領域から誘導された。ヒト軽鎖配列は、C の定常ドメインならびに VL 遺伝子、J -4 をもつ K104 (Bentley ら, 1980, Nature 288:5194-5198) の可変フレームワーク領域から誘導された。マウス配列は、マウスモノクローナル抗体、Mab 1129 (Beeler ら, 1989, J. Virology 63:2941-2950) から、マウス相補性決定領域のヒト抗体フレームワーク中へのグラフト化に関わる方法で誘導された。

【0010】

SYNAGIS (登録商標) は小児患者の RSV 感染の予防に成功裏に利用されているが、予防効果を達成するために SYNAGIS (登録商標) の 15mg/kg の多重筋内投与が必要である。24 月齢未満の小児患者では SYNAGIS (登録商標) の半減期は 20 日であることがわかっていて、15mg/kg の毎月筋内投与により、30 日血清力価は、平均 ± 標準偏差で表わすと、最初の注射後に $37 \pm 21 \mu\text{g/ml}$ 、第 2 回注射後に $57 \pm 41 \mu\text{g/ml}$ 、第 3 回注射後に $68 \pm 51 \mu\text{g/ml}$ 、そして第 4 回注射後に $72 \pm 50 \mu\text{g/ml}$ を得ることが示されている (The IMPact RSV Study Group, 1998, Pediatrics 102: 531-537)。肺 RSV 複製を 100 倍だけ低下するために、 $30 \mu\text{g/ml}$ より高い血清濃度が必要であることが RSV 感染のコットンラットモデルで示されている。しかし 15mg/kg の抗体の多重筋内投与は患者にとっては不便である。従って、高い効力があり、改善された薬物動態プロファイルを有し、従って全体にわたり改善された治療プロファイルを有する、RSV 抗原と免疫特異的に結合する抗体に対するニーズがある。さらに、所要投与頻度の少ない、RSV 抗原と免疫特異的に結合する抗体に対するニーズがある。

【0011】

本明細書における参考文献の引用または考察は、それが本発明の先行技術であることを許容すると解釈してはならない。

【発明の開示】

【0012】

3. 発明の概要

本発明は、一部分は、哺乳類において呼吸器合胞体ウイルス (RSV) 抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片の予防または治療上有効な血清力価を、かかる抗体またはその断片を用いる受動免疫感作により達成するかまたは誘導する方法であって、従来公知の方法より低い用量及び / または少ない頻度の投与しか必要としない前記方法の開発に基づく。本発明はまた、一部分は、RSV 抗原に対してさらに高いアフィニティをもつ抗体であって、予防または治療上の利用の効果を増加し、より低い血清力価で予防または治療上有効であり、それによってより低い用量及び / または減少した頻度の投与を可能にする前記抗体の同定に基づく。

【0013】

本発明は、被験者の RSV 感染に関連した 1 以上の症状を予防、中和、治療及び改善する

方法であって、1以上のRSV抗原と高アフィニティ及び/または高アビディティで免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を前記被験者に投与することを含んでなる前記方法を提供する。かかる抗体または抗体断片の血清力価は公知の抗体の有効血清力価より低くても治療または予防上有効であるので、前記抗体または抗体断片のより低い用量を用いてRSV感染に関連する症状の予防、中和、治療、及び改善のための血清力価を達成することができる。1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその抗体断片のより低い用量を用いることにより、副作用の可能性が低減する。さらに、本発明の抗体またはその断片の高いアフィニティ及び/または高いアビディティにより、前記抗体または抗体断片の投与頻度を、従来、RSV感染に関連した症状を予防、中和、治療、及び改善するために必要であると考えられていたより少なくすることができる。

10

【0014】

本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつ例えば、SYNAGIS（登録商標）などの公知の抗体と比較して増加したin vivo半減期を有する抗体も提供する。特に、本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつ公知の抗体（例えば、SYNAGOS（登録商標））と比較して増加したin vivo半減期を有する抗体であって、前記増加した半減期は前記抗体のFcドメインとFcRn受容体との相互作用に関わることが確認されたアミノ酸残基の1以上の改変（例えば、置換、欠失、または挿入）により得られる抗体を包含する。本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつ例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知抗体と比較して増加したin vivo半減期を有する、PEG化抗体及びその断片も包含する。1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片のin vivo半減期の増加は、被験者への前記抗体またはその断片の投与の用量及び/または頻度を低下する。

20

【0015】

本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を投与するための徐放製剤を包含する。徐放製剤は被験者への前記抗体または抗体断片の投与の用量及び/または頻度を低下する。さらに徐放製剤を投与してある一定の期間、ある一定の最高血清力価を超えない治療または予防上有効な血清力価を維持することができる。

【0016】

本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片をRSV感染部位へ直接に送達する方法を包含する。特に、本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の肺送達を包含する。1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を送達する改良された方法は、被験者への前記抗体または抗体断片の投与の用量及び/または頻度を低下させる。

30

【0017】

本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつ結合速度定数すなわち k_{on} 速度（抗体(Ab) + 抗原(Ag) \rightarrow Ab-Agの k_{on} ）が少なくとも $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、または少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である抗体またはその断片を提供する。特に本発明は、RSV感染に関連する予防、治療または1以上の症状の改善に利用する本発明の組成物であって、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつ k_{on} 速度が少なくとも $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、または少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である1以上の抗体またはその断片を含んでなる前記組成物を提供する。

40

【0018】

本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつ k_{off} 速度（抗体(Ab) + 抗原(Ag) \rightarrow Ab-Agの k_{off} ）が 10^{-1} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-2} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-3} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-4} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-5} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-6} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-7} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-8} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-9} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ 未満、または 10^{-10} s^{-1} 未満である抗体またはその断片を提供する。特に本発明は、RSV感染に関連する予防、治

50

療または 1 以上の症状の改善に利用する本発明の組成物であって、1 以上の RSV 抗原と免疫特異的に結合しかつ k_{off} 速度が 10^{-1} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-2} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-3} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-4} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-5} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-6} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-7} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-8} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-9} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ 未満、または 10^{-10} s^{-1} 未満である 1 以上の抗体またはその断片を含んでなる前記組成物を提供する。

【0019】

本発明はまた、1 以上の RSV 抗原と免疫特異的に結合しかつアフィニティ定数または K_a (k_{on}/k_{off}) が少なくとも 10^2 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^3 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^4 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^5 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^6 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^7 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^8 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ である抗体またはその断片を提供する。特に本発明は、RSV 感染に関連する予防、治療または 1 以上の症状の改善に利用する本発明の組成物であって、1 以上の RSV 抗原と免疫特異的に結合しかつ K_a が少なくとも 10^2 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^3 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^4 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^5 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^6 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^7 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^8 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ である 1 以上の抗体またはその断片を含んでなる前記組成物を提供する。

【0020】

本発明はまた、1 以上の RSV 抗原と免疫特異的に結合しかつメジアン有効濃度 (EC_{50}) が *in vitro* マイクロ中和アッセイ (microneutralization assay) において 0.01 nM 未満、 0.025 nM 未満、 0.05 nM 未満、 0.1 nM 未満、 0.25 nM 未満、 0.5 nM 未満、 0.75 nM 未満、 1 nM 未満、 1.25 nM 未満、 1.5 nM 未満、 1.75 nM 未満、または 2 nM 未満である抗体またはその断片を提供する。特に本発明は、RSV 感染に関連する予防、治療または 1 以上の症状の改善に利用する本発明の組成物であって、1 以上の RSV 抗原と免疫特異的に結合しかつ EC_{50} が *in vitro* マイクロ中和アッセイにおいて 0.01 nM 未満、 0.025 nM 未満、 0.05 nM 未満、 0.1 nM 未満、 0.25 nM 未満、 0.5 nM 未満、 0.75 nM 未満、 1 nM 未満、 1.25 nM 未満、 1.5 nM 未満、 1.75 nM 未満、または 2 nM 未満である 1 以上の抗体またはその断片を含んでなる前記組成物を提供する。

【0021】

本発明はまた、表 2 に掲げたいずれかの VH ドメインのアミノ酸配列を有する VH ドメインを含有する抗体またはその断片、ならびに RSV 感染に関連する予防、治療または 1 以上の症状の改善に利用する前記抗体またはその断片を含んでなる組成物も提供する。本発明はまた、表 2 及び / または表 3 に掲げた 1 以上の VH CDR のアミノ酸配列を有する 1 以上の VH 相補性決定領域 (VH CDR) を含有する抗体またはその断片、ならびに RSV 感染に関連する予防、治療または 1 以上の症状の改善に利用する前記抗体または抗体断片を含んでなる組成物も提供する。本発明はまた、表 2 に掲げたいずれかの VL ドメインのアミノ酸配列を有する VL ドメインを含有する抗体またはその断片も提供する。本発明はまた、表 2 及び / または表 3 に掲げた 1 以上の VL CDR のアミノ酸配列を有する 1 以上の VL CDR を含有する抗体またはその断片、ならびに RSV 感染に関連する予防、治療または 1 以上の症状の改善に利

10

20

30

40

50

用する前記抗体または抗体断片を含んでなる組成物も提供する。本発明はさらに、表 2 に掲げたいずれかの VH ドメイン及び VL ドメインのアミノ酸配列を有する VH ドメイン及び VL ドメインを含有する抗体、ならびに RSV 感染に関連する予防、治療または 1 以上の症状の改善に利用する前記抗体またはその断片を含んでなる組成物を提供する。本発明はさらに、表 2 及び / または表 3 に掲げた 1 以上の VH CDR 及び 1 以上の VL CDR のアミノ酸配列を有する 1 以上の VH CDR 及び 1 以上の VL CDR を含有する抗体、ならびに RSV 感染に関連する予防、治療または 1 以上の症状の改善に利用する前記抗体または抗体断片を含んでなる組成物も提供する。上記の実施形態においては、好ましくは抗体は RSV 抗原と免疫特異的に結合する。

【 0 0 2 2 】

本発明はまた、哺乳類、好ましくは霊長類そして最も好ましくはヒトにおいて 1 以上の RSV 抗原と免疫特異的に結合する 1 以上の抗体またはその断片の少なくとも $40 \mu\text{g/ml}$ の血清力価を達成する方法を包含する。特に、本発明は、非霊長類哺乳類において RSV 抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片の少なくとも $40 \mu\text{g/ml}$ (好ましくは少なくとも $75 \mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも $100 \mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも $150 \mu\text{g/ml}$) の血清力価を達成する方法であって、抗体または抗体断片の 2.5 mg/kg 未満 (好ましくは 1.5 mg/kg 以下) の用量を非霊長類哺乳類に投与しかつその用量を非霊長類哺乳類に投与後少なくとも 1 日、抗体または抗体断片の血清力価を測定することを含んでなる前記方法を提供する。本発明はまた、非霊長類哺乳類において RSV 抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片の少なくとも $150 \mu\text{g/ml}$ (好ましくは少なくとも $200 \mu\text{g/ml}$) の血清力価を達成する方法であって、抗体または抗体断片のほぼ 5 mg/kg の用量を非霊長類哺乳類に投与しかつその用量を非霊長類哺乳類に投与後少なくとも 1 日、抗体または抗体断片の血清力価を測定することを含んでなる前記方法も提供する。

【 0 0 2 3 】

本発明はまた、霊長類において RSV 抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片の少なくとも $40 \mu\text{g/ml}$ の血清力価を達成する方法であって、抗体または抗体断片の 10 mg/kg (好ましくは 5 mg/kg 以下そしてさらに好ましくは 1.5 mg/kg 以下) の第 1 用量を霊長類に投与し、かつ第 1 用量を霊長類に投与後 20 日 (好ましくは 25、30、35 または 40 日) かついずれかのその後の用量の投与前に、抗体または抗体断片の血清力価を測定することを含んでなる前記方法も提供する。本発明はまた、霊長類において RSV 抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片の少なくとも $75 \mu\text{g/ml}$ (好ましくは少なくとも $100 \mu\text{g/ml}$ 、少なくとも $150 \mu\text{g/ml}$ 、または少なくとも $200 \mu\text{g/ml}$) の血清力価を達成する方法であって、抗体または抗体断片のほぼ 15 mg/kg の第 1 用量を霊長類に投与し、かつ第 1 用量を霊長類に投与後、20 日 (好ましくは 25、30、35 または 40 日) かついずれかのその後の用量の投与前に、抗体または抗体断片の血清力価を測定することを含んでなる前記方法も提供する。

【 0 0 2 4 】

本発明はまた、ヒト被験者において RSV 感染に関連した 1 以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、前記ヒト被験者に RSV 抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片のほぼ 15 mg/kg の第 1 用量を投与し、その結果、第 1 用量の投与後 30 日かつその後のいずれかの用量の投与前に、ヒト被験者が少なくとも $75 \mu\text{g/ml}$ 、好ましくは少なくとも $100 \mu\text{g/ml}$ 、少なくとも $150 \mu\text{g/ml}$ または少なくとも $200 \mu\text{g/ml}$ の血清抗体力価を有することを含んでなる前記方法も提供する。本発明はまた、ヒト被験者において RSV 感染に関連した 1 以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、前記ヒト被験者に RSV 抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片の 15 mg/kg 未満 (好ましくは 10 mg/kg 以下、さらに好ましくは 5 mg/kg 以下、そして最も好ましくは 1.5 mg/kg 以下) の第 1 用量を投与し、その結果、第 1 用量の投与後 30 日かつその後のいずれかの用量の投与前に、ヒト被験者が少なくとも $75 \mu\text{g/ml}$ 、好ましくは少なくとも $100 \mu\text{g/ml}$ 、少なくとも $150 \mu\text{g/ml}$ 、少なくともまたは $200 \mu\text{g/ml}$ の血清抗体力価を有することを含んでなる前記方法も提供する。本発明はさらにヒト被験者において RSV 感染に関連する 1 以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、前記ヒト被験者に RSV 抗原と免疫特異的に結合する抗体または

その断片の第1用量を投与して抗体または抗体断片の投与後30日以内に10 µg/ml未満の予防または治療上有効な血清力価を達成することを含んでなる前記方法を提供する。

【0025】

本発明は、哺乳類における治療または予防上有効な血清力価を達成する方法であって、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその k_{on} 速度（抗体(Ab) + 抗原(Ag) Ab-Agの k_{on} ）が少なくとも $2.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、好ましくは少なくとも $3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ または、少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である抗体またはその断片を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。特に、本発明は、治療または予防上有効な血清力価を達成する方法であって、前記有効血清力価はある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後にその期間内にいずれかの他の投与なしに30 µg/ml未満（そして好ましくは少なくとも2 µg/ml、さらに好ましくは少なくとも4 µg/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 µg/ml）であり、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその k_{on} 速度が少なくとも $2.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、好ましくは少なくとも $3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、または少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である抗体またはその断片を哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。好ましくは、抗体または抗体断片はSYNAGIS（登録商標）より高い k_{on} 速度を有する。

【0026】

本発明はまた、RSVを中和する方法であって、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその k_{on} 速度が少なくとも $2.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、好ましくは少なくとも $3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、または少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である抗体またはその断片を用いて予防または治療上有効な血清力価を達成し、ここで前記有効血清力価は投与後20、25、30または35日後に、いずれかの他の投与なしに、30 µg/ml未満（かつ好ましくは少なくとも2 µg/mlさらに好ましくは少なくとも4 µg/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 µg/ml）であることを特徴とする前記方法も提供する。好ましくは、抗体または抗体断片はSYNAGIS（登録商標）より高い k_{on} 速度を有する。

【0027】

本発明はまた、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその k_{on} 速度が少なくとも $2.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、好ましくは少なくとも $3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ または少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である抗体またはその断片の15mg/kg未満（好ましくは5mg/kg以下、さらに好ましくは3mg/kg以下、そして最も好ましくは1.5mg/kg以下）の用量を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法も提供する。好ましくは、抗体または抗体断片は、RSV F糖タンパク質に対してSYNAGIS（登録商標）より高い k_{on} 速度を有する。

【0028】

本発明は、哺乳類における治療または予防上有効な血清力価を達成する方法であって、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその K_{off} 速度（抗体(Ab) + 抗原(Ag) Ab-Agの K_{off} ）が $6.5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $3 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $2 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $1 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、または $5 \times 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ 未満である抗体またはその断片を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。特に、本発明は、治療または予防上有効な血清力価を達成する方法であって、前記有効血清力価はある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後にその期間内にいずれかの他の投与なしに、30 µg/ml未満（そして好ましくは少なくとも2 µg/ml、さらに好ましくは少なくとも4 µg/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 µg/ml）であり、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその K_{off} 速度が $6.5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $3 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $2 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $1 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、または $3 \times 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ 未満である抗

体またはその断片を哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。好ましくは、抗体または抗体断片はSYNAGIS（登録商標）より低い K_{off} 速度を有する。

【0029】

本発明はまた、RSVを中和する方法であって、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその K_{off} 速度が $6.5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $3 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $2 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $1 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、または $5 \times 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ 未満である抗体またはその断片を用いて予防または治療上有効な血清力価を達成し、ここで前記有効血清力価は投与後20、25、30または35日後に、いずれかの他の投与なしに、 $30 \mu\text{g/ml}$ 未満（かつ好ましくは少なくとも $2 \mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも $4 \mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも $6 \mu\text{g/ml}$ ）であることを特徴とする前記方法も提供する。好ましくは、抗体または抗体断片はSYNAGIS（登録商標）より低い K_{off} 速度を有する。

10

【0030】

本発明はまた、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその K_{off} 速度が $6.5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $3 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $2 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、 $1 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ 未満、または $5 \times 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ 未満である抗体またはその断片の 15mg/kg 未満（好ましくは 5mg/kg 以下、さらに好ましくは 3mg/kg 以下、そして最も好ましくは 1.5mg/kg 以下）の用量を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法も提供する。好ましくは、抗体または抗体断片は、RSV F糖タンパク質に対してSYNAGIS（登録商標）より低い K_{off} 速度を有する。

20

【0031】

本発明は、哺乳類における治療または予防上有効な血清力価を達成する方法であって、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつ EC_{50} がin vitroマイクロ中和アッセイにおいて 0.01nM 未満、 0.025nM 未満、 0.05nM 未満、 0.1nM 未満、 0.25nM 未満、 0.5nM 未満、 0.75nM 未満、 1nM 未満、 1.25nM 未満、 1.5nM 未満、 1.75nM 未満、または 2nM 未満である抗体またはその断片を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。特に、本発明は、治療または予防上有効な血清力価を達成する方法であって、前記有効血清力価はある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後にその期間内にいずれかの他の投与なしに、 $30 \mu\text{g/ml}$ 未満（そして好ましくは少なくとも $2 \mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも $4 \mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも $6 \mu\text{g/ml}$ ）であり、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその EC_{50} がin vitroマイクロ中和アッセイにおいて 0.01 nM 未満、 0.025 nM 未満、 0.05 nM 未満、 0.1 nM 未満、 0.25 nM 未満、 0.5 nM 未満、 0.75 nM 未満、 1 nM 未満、 1.25 nM 未満、 1.5 nM 未満、 1.75 nM 未満、または 2 nM 未満である抗体またはその断片を哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。好ましくは、抗体または抗体断片はSYNAGIS（登録商標）より低い EC_{50} を有する。

30

【0032】

本発明はまた、RSVを中和する方法であって、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその EC_{50} がin vitroマイクロ中和アッセイにおいて 0.01nM 未満、 0.025nM 未満、 0.05nM 未満、 0.1 nM 未満、 0.25nM 未満、 0.5nM 未満、 0.75nM 未満、 1nM 未満、 1.25nM 未満、 1.5nM 未満、 1.75nM 未満、または 2nM 未満である抗体またはその断片を用いて予防または治療上有効な血清力価を達成し、ここで、前記有効血清力価は投与後20、25、30または35日後に、いずれかの他の投与なしに、 $30 \mu\text{g/ml}$ 未満（かつ好ましくは少なくとも $2 \mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも $4 \mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも $6 \mu\text{g/ml}$ ）であることを特徴とする前記方法も提供する。好ましくは、抗体または抗体断片はSYNAGIS（登録商標）より低い EC_{50} を有する。

40

【0033】

本発明はまた、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつその EC_{50} がin vitroマイクロ中和アッセイにおいて 0.01nM 未満、 0.025nM 未満、 0.05nM 未満、 0.1nM 未満、 0.25nM 未満、 0.5nM 未満、 0.75nM 未満、 1nM 未満、 1.25nM 未満、 1.5nM 未満、 1.75nM 未満

50

、または2nM未満である抗体またはその断片の15mg/kg未満（好ましくは5mg/kg以下、さらに好ましくは3mg/kg以下、そして最も好ましくは1.5mg/kg以下）の用量を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法も提供する。好ましくは、抗体または抗体断片は、RSV F糖タンパク質に対してSYNAGIS（登録商標）より低い EC_{50} を有する。

【0034】

本発明は、哺乳類における治療または予防上有効な血清力価を達成する方法であって、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつRSV抗原に対するアフィニティ定数（ K_a ）が少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} または少なくとも $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ である抗体またはその断片を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。特に、本発明は、治療または予防上有効な血清力価を達成する方法であって、前記有効血清力価はある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後にその期間内にいずれかの他の投与なしに、 $30 \mu\text{g/ml}$ 未満（そして好ましくは少なくとも $2 \mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも $4 \mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも $6 \mu\text{g/ml}$ ）であり、RSV抗原と免疫特異的に結合しかつそのRSV抗原に対するアフィニティ定数（ K_a ）が少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} または少なくとも $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ である抗体またはその断片を哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。好ましくは、抗体または抗体断片はSYNAGIS（登録商標）より高いRSV F糖タンパク質に対するアフィニティを有する。

【0035】

本発明はまた、治療または予防上有効な血清力価を達成する方法であって、前記有効血清力価はある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後にその期間内にいずれかの他の投与なしに、 $30 \mu\text{g/ml}$ 未満（そして好ましくは少なくとも $2 \mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも $4 \mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも $6 \mu\text{g/ml}$ ）であり、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアピディティでRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片を哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。

【0036】

本発明はまた、RSVを中和する方法であって、RSV抗原に対するアフィニティ定数（ K_a ）が少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} または少なくとも $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ である抗体またはその断片を用いて予防または治療上有効な血清力価を達成する方法であって、ここで前記有効血清力価は投与後20、25、30または35日後に、いずれかの他の投与なしに、 $30 \mu\text{g/ml}$ 未満（かつ好ましくは少なくとも $2 \mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも $4 \mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも $6 \mu\text{g/ml}$ ）であることを特徴とする前記方法も提供する。好ましくは、抗体または抗体断片は、SYNAGIS（登録商標）より高いRSV F糖タンパク質に対するアフィニティを有する。本発明はまた、例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアピディティを有する抗体またはその断片を用いてRSVを中和する方法も提供する。

【0037】

本発明はまた、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予

10

20

30

40

50

防、治療または改善する方法であって、RSV抗原に対するアフィニティ定数 (K_a) が少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} または少なくとも $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ である抗体またはその断片の15mg/kg未満（好ましくは5mg/kg以下、さらに好ましくは3mg/kg以下、そして最も好ましくは1.5mg/kg以下）の用量を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法も提供する。好ましくは、抗体または抗体断片は、SYNAGIS（登録商標）より高いRSV F糖タンパク質に対するアフィニティを有する。本発明はまた、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティを有する抗体またはその断片の15mg/kg未満（好ましくは5mg/kg以下、さらに好ましくは3mg/kg以下、そして最も好ましくは1.5mg/kg以下）の第1用量を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法も提供する。

【0038】

本発明は、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、1以上のRSV抗原と例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはより高いアフィニティで免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の予防または治療上有効な量の第1用量を前記哺乳類に投与することを含んでなり、ここで前記有効量が前記抗体または抗体断片の15mg/kg未満（好ましくは5mg/kg以下、さらに好ましくは3mg/kg以下、そして最も好ましくは1.5mg/kg以下）であり、その用量により第1用量の投与後少なくとも20日（好ましくは、少なくとも25日、少なくとも30日、または少なくとも35日）かつその後の用量の投与前に、30 $\mu\text{g/ml}$ 未満（これは好ましくは少なくとも2 $\mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも4 $\mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも6 $\mu\text{g/ml}$ である）の血清力価を得ることを特徴とする前記方法を包含する。特に、本発明は、ヒト被験者におけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、RSV抗原と例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはより高いアフィニティで免疫特異的に結合する抗体（例えば、アフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である）またはその断片の5mg/kg未満（好ましくは3mg/kg以下、そして最も好ましくは1.5mg/kg以下）の第1用量を前記ヒト被験者に投与し、その結果、前記ヒト被験者が抗体または抗体断片の第1用量の投与後少なくとも20日（好ましくは、少なくとも25日、少なくとも30日、または少なくとも35日）かつその後の用量の投与前に、30 $\mu\text{g/ml}$ 未満（そして好ましくは少なくとも2 $\mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも4 $\mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも6 $\mu\text{g/ml}$ である）の血清抗体力価を有することを特徴とする前記方法を提供する。

【0039】

本発明はまた、哺乳類におけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、表2に掲げたいずれかのVHドメインのアミノ酸配列を有するVHドメインを含有する1以上の抗体またはその断片の第1用量を前記哺乳類に投与して治療または予防上有効な血清力価を達成することを含んでなり、ここで前記有効血清力価が、ある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後、かつその期間いずれの他の投与もなしにその後の用量の投与前に、30 $\mu\text{g/ml}$ 未満（そして好ましくは少なくとも2 $\mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも4 $\mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも6 $\mu\text{g/ml}$ である）であることを特徴とする前記方法も提供する。本発明はまた、哺乳類におけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、表2及び/または表3に掲げた1以上のVH CDRのアミノ酸配列を有する1以上のVH相補性

決定領域（VH CDR）を含有する 1 以上の抗体またはその断片の第 1 用量を前記哺乳類に投与して治療または予防上有効な血清力価を達成することを含んでなり、ここで前記有効血清力価が、ある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後、かつその期間いずれの他の投与もなしにその後の用量の投与前に、30 μ g/ml 未満（そして好ましくは少なくとも2 μ g/ml、さらに好ましくは少なくとも4 μ g/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 μ g/mlである）であることを特徴とする前記方法も提供する。好ましくは、前記抗体または抗体断片はRSV抗原と免疫特異的に結合する。

【0040】

本発明はまた、哺乳類におけるRSV感染に関連した 1 以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、表 2 に掲げたいずれかのVLドメインのアミノ酸配列を有するVLドメインを含有する 1 以上の抗体またはその断片の第 1 用量を前記哺乳類に投与して治療または予防上有効な血清力価を達成することを含んでなり、ここで前記有効血清力価が、ある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後、かつその期間いずれの他の投与もなしにその後の用量の投与前に、30 μ g/ml 未満（そして好ましくは少なくとも2 μ g/ml、さらに好ましくは少なくとも4 μ g/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 μ g/mlである）であることを特徴とする前記方法も提供する。本発明はまた、哺乳類におけるRSV感染に関連した 1 以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、表 2 及び / または表 3 に掲げた 1 以上のVL CDRのアミノ酸配列を有する 1 以上のVL CDRを含有する 1 以上の抗体またはその断片の第 1 用量を前記哺乳類に投与して治療または予防上有効な血清力価を達成することを含んでなり、ここで前記有効血清力価が、ある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後、かつその期間いずれの他の投与もなしにその後の用量の投与前に、30 μ g/ml 未満（そして好ましくは少なくとも2 μ g/ml、さらに好ましくは少なくとも4 μ g/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 μ g/mlである）であることを特徴とする前記方法も提供する。好ましくは、前記抗体または抗体断片はRSV抗原と免疫特異的に結合する。

【0041】

本発明はまた、哺乳類におけるRSV感染に関連した 1 以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、表 2 に掲げたいずれかのVHドメイン及びVLドメインのアミノ酸配列を有するVHドメイン及びVLドメインを含有する 1 以上の抗体またはその断片の第 1 用量を前記哺乳類に投与して治療または予防上有効な血清力価を達成することを含んでなり、ここで前記有効血清力価が、ある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後、かつその期間いずれの他の投与もなしにその後の用量の投与前に、30 μ g/ml 未満（そして好ましくは少なくとも2 μ g/ml、さらに好ましくは少なくとも4 μ g/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 μ g/mlである）であることを特徴とする前記方法も提供する。本発明はまた、哺乳類におけるRSV感染に関連した 1 以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、表 2 及び / または表 3 に掲げた 1 以上のVH CDR及び 1 以上のVL CDRのアミノ酸配列を有する 1 以上のVH CDR及び 1 以上のVL CDRを含有する 1 以上の抗体またはその断片の第 1 用量を前記哺乳類に投与して治療または予防上有効な血清力価を達成することを含んでなり、ここで前記有効血清力価が、ある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後、かつその期間いずれの他の投与もなしにその後の用量の投与前に、30 μ g/ml 未満（そして好ましくは少なくとも2 μ g/ml、さらに好ましくは少なくとも4 μ g/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 μ g/mlである）であることを特徴とする前記方法も提供する。好ましくは、前記抗体または抗体断片はRSV抗原と免疫特異的に結合する。

【0042】

ある特定の実施形態においては、本発明は、哺乳類におけるRSV感染に関連した 1 以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、配列番号：7、9、17、24、28、33、36、40、44、48、51、67、もしくは78のアミノ酸配列を有するVHドメイン及び / または配列番号：8、11、13、21、26、30、34、38、42、46、49、52、54、56、58、60、62、64、65、68、70、71、74もしくは76のアミノ酸配列を有するVLドメインを含有する 1 以上の抗体

またはその断片の第1用量を前記哺乳類に投与して治療または予防上有効な血清力価を達成することを含んでなり、ここで前記有効血清力価が、ある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後、かつその期間いずれの他の投与もなしにその後の用量の投与前に、30 $\mu\text{g/ml}$ 未満（そして好ましくは少なくとも2 $\mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも4 $\mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも6 $\mu\text{g/ml}$ である）であることを特徴とする前記方法を提供する。好ましい実施形態においては、本発明は、哺乳類におけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、配列番号：9、17、24、28、33、36、40、44、48、51、55、67、もしくは78のアミノ酸配列を有するVHドメイン及び/または配列番号：13、21、26、30、34、38、42、46、49、52、54、56、58、60、62、64、65、68、70、71、74もしくは76のアミノ酸配列を有するVLドメインを含有する1以上の抗体またはその断片の第1用量を前記哺乳類に投与して治療または予防上有効な血清力価を達成することを含んでなり、ここで前記有効血清力価が、ある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後、かつその期間いずれの他の投与もなしにその後の用量の投与前に、30 $\mu\text{g/ml}$ 未満（そして好ましくは少なくとも2 $\mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも4 $\mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも6 $\mu\text{g/ml}$ である）であることを特徴とする前記方法を提供する。他の実施形態においては、本発明は、哺乳類におけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、配列番号：3

、12、20、29、もしくは79を有するVH CDR3及び配列番号：6、16もしくは61を有するVL CDR3を含有する1以上の抗体またはその断片の第1用量を前記哺乳類に投与して治療または予防上有効な血清力価を達成することを含んでなり、ここで前記有効血清力価が、ある一定の日数（例えば、限定されるものでないが、20、25、30または35日）後、かつその期間いずれの他の投与もなしにその後の用量の投与前に、30 $\mu\text{g/ml}$ 未満（そして好ましくは少なくとも2 $\mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは少なくとも4 $\mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは少なくとも6 $\mu\text{g/ml}$ である）であることを特徴とする前記方法を提供する。

【0043】

本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片であって、そのFcドメインとFcRn受容体との間の相互作用に関わることが確認されたアミノ酸残基の1以上の改変の結果、既知の抗RSV抗体と比較して増加したin vivo半減期を有する前記抗体または抗体断片を含んでなる組成物も提供する。一実施形態においては、本発明の組成物はHL-SYNAGISまたはその抗原結合断片を含んでなる。他の実施形態においては、本発明の組成物は、例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはより高いアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合し（例えば、RSV抗原に対して少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティをもつ抗体または抗体断片）かつSYNAGIS（登録商標）のFcドメインと比較してFcRn受容体に対して増加したアフィニティをもつFcドメインを有する1以上の抗体またはその断片を含んでなる。この実施形態によれば、前記抗体または抗体断片のFcドメインの増加したアフィニティにより、少なくとも25日、好ましくは少なくとも30日、さらに好ましくは少なくとも30日、そして最も好ましくは少なくとも40日の前記抗体または抗体断片のin vivo半減期を得る。他の実施形態においては、本発明の組成物はHL-SYNAGISまたはその抗原結合断片、ならびに免疫特異的に1以上のRSV抗原と結合しかつSYNAGIS（登録商標）のFcドメインと比較して増加したFcRn受容体に対するアフィニティをもつFcドメインを有する1以上の抗体またはその断片を含んでなる。

【0044】

本発明はまた1以上のPEG化（pegylated）した抗体またはその断片であって、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する前記抗体及びその断片を含んでなる組成物も提供する。一実施形態においては、本発明の組成物は、PEG化SYNAGIS（登録商標）またはその断片を

含んでなる。他の実施形態においては、本発明の組成物は、例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び／またはより高いアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する、1以上のPEG化抗体またはその断片を含んでなる。さらに他の実施形態においては、本発明の組成物は、PEG化SYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片ならびに例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び／またはより高いアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する、1以上のPEG化抗体またはその断片を含んでなる。

【0045】

本発明はまた、SYNAGIS（登録商標）のFcドメインと比較して増加したFcRn受容体に対するアフィニティをもつFcドメインを有する、1以上のPEG化抗体及びその断片を含んでなる組成物も提供する。一実施形態においては、本発明の組成物は、PEG化HL-SYNAGISまたはその抗原結合部位を含んでなる。他の実施形態においては、本発明の組成物は、例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び／またはより高いアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつSYNAGIS（登録商標）のFcドメインと比較して増加したFcRn受容体に対するアフィニティをもつFcドメインを有する、1以上のPEG化抗体またはその断片を含んでなる。

【0046】

本発明は、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、HL-SYNAGISまたはその抗原結合断片の予防または治療上有効な量の第1用量を前記哺乳類に投与することを含んでなり、ここで前記有効量は前記抗体または抗体断片のほぼ15 mg/kgであり、その用量により第1用量の投与後少なくとも30日かつその後の用量の投与前に、少なくとも30 µg/mlの血清力価を得ることを特徴とする前記方法を包含する。特に、本発明は、ヒト被験者におけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、HL-SYNAGISまたはその抗原結合断片の15 mg/kg未満の第1用量を前記ヒト被験者に投与し、その結果、前記ヒト被験者が抗体または抗体断片第1用量の投与後少なくとも30日かつその後の用量の投与前に、少なくとも30 µg/mlの血清抗体力価を有することを特徴とする前記方法を提供する。

【0047】

本発明はまた、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、増加したin vivo半減期を有しかつ例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び／またはアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）の予防または治療上有効な量の第1用量を前記哺乳類に投与することを含んでなり、ここで前記有効量が前記抗体または抗体断片の15mg/kg未満（好ましくは5mg/kg以下、さらに好ましくは3mg/kg以下、そして最も好ましくは1.5mg/kg以下）であり、その用量により第1用量の投与後少なくとも20日（好ましくは、少なくとも25日、少なくとも30日、または少なくとも35日）かつその後の用量の投与前に、30 µg/ml未満（そして好ましくは少なくとも2 µg/ml、さらに好ましくは少なくとも4 µg/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 µg/mlである）の血清力価を得ることを特徴とする前記方法を包含する。特に、本発明は、ヒト被験者におけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、増加したin vivo半減期を有しかつ例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び／またはより高いアフィニティでRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）の5mg/

kg未満（好ましくは1.5mg/kg以下）の第1用量を前記ヒト被験者に投与し、前記ヒト被験者が抗体または抗体断片の第1用量の投与後少なくとも25日（好ましくは、少なくとも30日、少なくとも35日、または少なくとも40日）かつその後の用量の投与前に、30 µg/ml未満（そして好ましくは少なくとも2 µg/ml、さらに好ましくは少なくとも4 µg/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 µg/mlである）の血清力価を得ることを特徴とする前記方法を提供する。

【0048】

本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を含んでなる徐放製剤を包含する。一実施形態においては、徐放製剤はSYNAGIS（登録商標）またはその断片を含んでなる。他の実施形態においては、徐放製剤は、例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはより高いアフィニティでRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）を含んでなる。他の実施形態においては、徐放製剤は、SYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片ならびに例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはより高いアフィニティでRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）を含んでなる。他の実施形態においては、HL-SYNAGISまたはその抗原結合断片を徐放製剤中に製剤する。さらに他の実施形態においては、1以上のRSV抗原に対して例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはより高いアフィニティを有し（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）かつFcRnに対してSYNAGIS（登録商標）のFcドメインと比較して増加したアフィニティをもつFcドメインを有する、1以上の抗体またはその断片を徐放製剤中に製剤する。

【0049】

本発明はまた、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、徐放製剤中の1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の予防または治療上有効な量の第1用量を前記哺乳類に投与することを含んでなり、ここで前記有効量が前記抗体または抗体断片の15mg/kg以下の用量であり、好ましくはその用量により第1用量の投与後少なくとも20日（好ましくは25、30、35または40日）の間かつその後の用量の投与前に、少なくとも2 µg/ml（好ましくは少なくとも5 µg/ml、少なくとも10 µg/ml、少なくとも20 µg/ml、少なくとも30 µg/ml、または少なくとも40 µg/ml）の血清力価を得ることを特徴とする前記方法も提供する。

【0050】

一実施形態においては、哺乳類、好ましくはヒトに、徐放製剤中の予防または治療上有効な量のSYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片の第1用量を投与し、ここで前記有効量はSYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片のほぼ15mg/kgの用量であり、その用量により第1用量の投与後少なくとも30日（好ましくは少なくとも35日、さらに好ましくは少なくとも40日、そして最も好ましくは少なくとも45日）の間かつその後の用量の投与前に、少なくとも20 µg/ml（好ましくは少なくとも30 µg/ml、さらに好ましくは少なくとも40 µg/ml、そして最も好ましくは少なくとも50 µg/ml）の血清力価を得る。好ましい

実施形態においては、哺乳類、好ましくはヒトに、徐放製剤中の予防または治療上有効な量のSYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片の第1用量を投与し、前記有効量はSYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片の15mg/kg以下の用量であり、その用量により好ましくは第1用量の投与後少なくとも30日（好ましくは少なくとも35日、さらに好ましくは少なくとも40日、そして最も好ましくは少なくとも45日）かつその後の用量の投与前に、20 μ g/ml（好ましくは少なくとも30 μ g/ml、さらに好ましくは少なくとも40 μ g/ml、そして最も好ましくは少なくとも50 μ g/ml）の血清力価を得る。

【0051】

他の実施形態においては、哺乳類、好ましくはヒトに、徐放製剤中の例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはより高いアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）の予防または治療上有効な量の第1用量を投与し、ここで前記有効量は前記抗体または抗体断片の15mg/kg未満（好ましくは5mg/kg以下、さらに好ましくは3mg/kg以下、そして最も好ましくは1.5mg/kg以下）の用量であり、その用量により好ましくは第1用量の投与後少なくとも20日（好ましくは、少なくとも25日、少なくとも30日、少なくとも35日、または少なくとも40日）かつその後の用量の投与前に、30 μ g/ml未満（好ましくは少なくとも2 μ g/ml、さらに好ましくは少なくとも4 μ g/ml、そして最も好ましくは少なくとも6 μ g/ml）の血清力価を得る。好ましい実施形態においては、哺乳類、好ましくはヒトに、徐放製剤中の例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはより高いアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）の予防または治療上有効な量の第1用量を投与し、ここで前記有効量は前記抗体または抗体断片の15mg/kg未満の用量であり、その用量により好ましくは第1用量の投与後少なくとも20日（好ましくは、少なくとも25日、少なくとも30日、少なくとも35日、または少なくとも40日）かつその後の用量の投与前に、10 μ g/mlの血清力価を得る。この実施形態によれば、抗体または抗体断片の用量の予防または治療上有効な量は、ほぼ0.5mg/kg、好ましくは1mg/kg、1.5mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、7.5mg/kg、10mg/kg、12mg/kg、または14mg/kgである。他の実施形態においては、哺乳類、好ましくはヒトに、徐放製剤中の例えば、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはより高いアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）の予防または治療上有効な量の第1用量を投与し、ここで前記有効量は前記抗体または抗体断片の1.5mg/kgの用量であり、その用量により好ましくは第1用量の投与後少なくとも20日（好ましくは、少なくとも25日、少なくとも30日、少なくとも35日、または少なくとも40日）の間かつその後の用量の投与前に、10 μ g/mlの血清力価を得る。

【0052】

さらに、本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を含んでなる徐放組成物であって、被験者のある一定の血清力価をある一定の期間、特定の血清力価を超えることなく維持する前記徐放組成物を提供する。一実施形態においては、SYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片を含んでなる徐放製剤は、哺乳類、

10

20

30

40

50

好ましくはヒトの血清力価を、少なくとも20日間（好ましくは、少なくとも25、30、35、または40日間）、ほぼ100 $\mu\text{g/ml}$ （好ましくは75 $\mu\text{g/ml}$ ）の血清力価を超えることなくほぼ25 $\mu\text{g/ml}$ （好ましくは30 $\mu\text{g/ml}$ 、さらに好ましくは40 $\mu\text{g/ml}$ 、そして最も好ましくは50 $\mu\text{g/ml}$ ）に維持する。他の実施形態においては、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはより高いアフィニティをもつ1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を含んでなる徐放組成物は、哺乳類、好ましくはヒトの血清力価を、少なくとも20日間（好ましくは、少なくとも25、30、35、または40日間）、ほぼ40 $\mu\text{g/ml}$ （好ましくは75 $\mu\text{g/ml}$ ）の血清力価を超えることなくほぼ2 $\mu\text{g/ml}$ （好ましくは6 $\mu\text{g/ml}$ 、10 $\mu\text{g/ml}$ 、20 $\mu\text{g/ml}$ 、または30 $\mu\text{g/ml}$ ）に維持する。

【0053】

本発明は、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつ増加した *in vivo* 半減期を有する1以上の抗体またはその断片の徐放製剤を投与することによる前記方法を包含する。一実施形態においては、HL-SYNAGISまたはその抗原結合断片を含んでなる徐放製剤を、哺乳類、好ましくはヒトに投与してRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する。他の実施形態においては、例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合し（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）かつSYNAGIS（登録商標）のFcドメインと比較してFcRn受容体に対する増加したアフィニティをもつFcドメインを有する1以上の抗体またはその断片を含んでなる徐放製剤を哺乳類、好ましくはヒトに投与してRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する。

【0054】

本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を投与するための肺送達システムも提供する。特に、本発明は肺送達用の組成物であって、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を含んでなる前記組成物を提供する。SYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片を肺送達用の組成物中に組み込むことができる。HL-SYNAGISまたはその抗原結合断片を肺送達用の組成物中に組み込むことができる。例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）を肺送達用の組成物中に組み込むことができる。さらに、例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合し（例えば、RSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）かつSYNAGIS（登録商標）のFcドメインと比較してFcRn受容体に対する増加したアフィニティをもつFcドメインを有する1以上の抗体またはその断片を肺送達用の組成物中に組み込むことができる。

【0055】

本発明はまた、哺乳類、好ましくはヒトにおけるRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を含有する肺送達用の組成物を哺乳類、好ましくはヒトに投与する

ことを含んでなる前記方法も提供する。特に、本発明は、RSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、SYNAGIS（登録商標）またはその断片を含有する肺送達用の組成物を哺乳類、好ましくはヒトに投与することを含んでなる前記方法を提供する。本発明はまた、例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片（例えば、1以上のRSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）を含有する肺送達用の組成物を哺乳類、好ましくはヒトに投与する前記方法も提供する。

10

【0056】

一実施形態においては、SYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片を含有する組成物の予防または治療上有効な量の第1用量を哺乳類、好ましくはヒトの肺に投与して、それにより第1用量の投与後少なくとも20日（好ましくは、少なくとも25日、30日、35日、または40日）かつその後の用量の投与前に、肺タンパク質1mg当たり少なくとも20ng（好ましくは、少なくとも40ng/mg、少なくとも60ng/mg、少なくとも80ng/mg、少なくとも50ng/mg、少なくとも75ng/mg、少なくとも100ng/mg、または少なくとも150ng/mg）の抗体濃度を得る。好ましくは、予防または治療上有効な量はSYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片のほぼ0.01mg/kg（好ましくは少なくとも0.1mg/kg、少なくとも1mg/kg、少なくとも2mg/kg、少なくとも4mg/kg、少なくとも5mg/kg、または少なくとも10mg/kg）の用量である。

20

【0057】

他の実施形態においては、例えばSYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片（例えば、1以上のRSV抗原に対するアフィニティが少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ である抗体または抗体断片）を含有する組成物の予防または治療上有効な量の第1用量を、哺乳類、好ましくはヒトの肺に投与して、それにより第1用量の投与後少なくとも20日（好ましくは、少なくとも25日、30日、35日、または40日）かつその後の用量の投与前に、肺タンパク質1mg当たり20ng（好ましくは、少なくとも40ng/mg、少なくとも60ng/mg、少なくとも80ng/mg、少なくとも50ng/mg、少なくとも75ng/mg、少なくとも100ng/mg、少なくとも150ng/mg、少なくとも200 ng/mg、少なくとも250 ng/mg、少なくとも500 ng/mg、少なくとも750 ng/mg、少なくとも1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 、少なくとも2 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 、少なくとも5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 、少なくとも10 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 、少なくとも15 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 、または少なくとも25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ ）の抗体濃度を得る。好ましくは、予防または治療上有効な量は、前記抗体または抗体断片のほぼ0.001mg/kg（好ましくは少なくとも0.005 mg/kg、少なくとも0.01 mg/kg、少なくとも0.05 mg/kg、少なくとも0.1 mg/kg、少なくとも1 mg/kg、少なくとも2 mg/kg、少なくとも4 mg/kg、少なくとも5 mg/kg、または少なくとも10 mg/kg）の用量である。

30

40

【0058】

本発明はさらに、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体または抗体断片を利用する検出可能なまたは診断用の組成物、ならびに前記組成物を用いてRSV感染を検出または診断する方法を提供する。

【0059】

3.1. 定義

本明細書に使用される用語「類似体」は、あるRSVポリペプチド、あるRSVポリペプチドの断片、ある抗体、もしくはある抗体断片と類似のもしくは同一の機能を有するポリペプチドであって、必ずしも、あるRSVポリペプチド、あるRSVポリペプチドの断片、ある抗体

50

、もしくはある抗体断片と類似のもしくは同一のアミノ酸配列を含有するかまたはあるRSVポリペプチド、あるRSVポリペプチドの断片、ある抗体、もしくはある抗体断片と類似のもしくは同一の構造を持つものでない前記ポリペプチドを意味する。類似のアミノ酸配列を有するポリペプチドは、少なくとも次の(a)～(c)の1つを満たすポリペプチドを意味する：(a)本明細書に記載のRSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、抗体、もしくは抗体断片のアミノ酸配列と少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%、同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチド；(b)本明細書に記載のRSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、抗体、または抗体断片の少なくとも5個のアミノ酸残基、少なくとも10個のアミノ酸残基、少なくとも15個のアミノ酸残基、少なくとも20個のアミノ酸残基、少なくとも25個のアミノ酸残基、少なくとも40個のアミノ酸残基、少なくとも50個のアミノ酸残基、少なくとも60個のアミノ酸残基、少なくとも70個のアミノ酸残基、少なくとも80個のアミノ酸残基、少なくとも90個のアミノ酸残基、少なくとも100個のアミノ酸残基、少なくとも125個のアミノ酸残基、または少なくとも150個のアミノ酸残基をコードするヌクレオチド配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされたポリペプチド；ならびに(c)本明細書に記載のRSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、抗体、または抗体断片をコードするヌクレオチド配列と少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%、同一であるヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチド。本明細書に記載のRSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、抗体、または抗体断片と類似の構造をもつポリペプチドは、本明細書に記載のRSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、抗体、または抗体断片と類似の二次、三次または四次構造を有するポリペプチドを意味する。ポリペプチドの構造は、当業者が周知する方法により決定することができ、限定されるものでないが、X線結晶学、核磁気共鳴、及び結晶電子顕微鏡が挙げられる。

【0060】

本明細書に使用される用語「誘導体」が意味するポリペプチドは、アミノ酸残基の置換、欠失または付加の導入により改変されているRSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、RSVポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体、またはRSVポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体断片である。本明細書に使用される用語「誘導体」はまた、修飾されている、すなわち、いずれかの型の分子をポリペプチドに共有結合することにより改変されている、RSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、RSVポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体、またはRSVポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体断片を含んでなるポリペプチドも意味する。例えば、限定されるものでないが、RSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、抗体、または抗体断片は、例えば、グリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸エステル化、アミド化、既知の保護/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質との連結などにより修飾することができる。RSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、抗体、または抗体断片の誘導体は、当業者が周知している技術を用いて化学修飾により修飾してもよく、限定されるものでないが、特異的化学的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成などが挙げられる。さらに、RSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、抗体、または抗体断片の誘導体は、1以上の非古典的アミノ酸を含有してもよい。あるポリペプチド誘導体は、本明細書に記載のRSVポリペプチド、RSVポリペプチドの断片、抗体、または抗体断片と類似のまたは同一の機能を有する。

【0061】

本明細書に使用される用語「有効な中和力価」は、臨床的に（ヒトにおいて）効能があるかまたは例えばコトナラットにおいてウイルスを99%だけ低下することが示されている、動物（ヒトまたはコトナラット）血清中に存在する量に対応する抗体量を意味する。99

10

20

30

40

50

%低下は、特定のRSVのチャレンジ（例えば、 10^3 pfu、 10^4 pfu、 10^5 pfu、 10^6 pfu、 10^7 pfu、 10^8 pfu、または 10^9 pfu）により規定する。

【0062】

本明細書に使用される用語「エピトープ」は、動物、好ましくは哺乳類、そして最も好ましくはヒトにおいて、抗原性または免疫原性活性を有するRSVポリペプチドの部分の意味する。免疫性原活性を有するエピトープは、動物において抗体応答を誘発するRSVポリペプチドの一部である。抗原性活性を有するエピトープは、抗体が免疫特異的に結合するRSVポリペプチドの一部であって当技術分野で周知のいずれかの方法、例えば、本明細書に記載のイムノアッセイによって決定される。抗原性エピトープは必ずしも免疫原性であることを必要としない。

10

【0063】

本明細書に使用される用語「断片（fragment）」はペプチドまたはポリペプチドであって、RSVポリペプチドまたはRSVポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体のアミノ酸配列の少なくとも5個の連続アミノ酸残基、少なくとも10個の連続アミノ酸残基、少なくとも15個の連続アミノ酸残基、少なくとも20個の連続アミノ酸残基、少なくとも25個の連続アミノ酸残基、少なくとも40個の連続アミノ酸残基、少なくとも50個の連続アミノ酸残基、少なくとも60個の連続アミノ酸残基、少なくとも70個の連続アミノ酸残基、少なくとも80個の連続アミノ酸残基、少なくとも90個の連続アミノ酸残基、少なくとも100個の連続アミノ酸残基、少なくとも125個の連続アミノ酸残基、少なくとも150個の連続アミノ酸残基、少なくとも175個の連続アミノ酸残基、少なくとも200個の連続アミノ酸残基、または少なくとも250個の連続アミノ酸残基を含んでなる前記ペプチドまたはポリペプチドを意味する。

20

【0064】

本明細書に使用される用語「ヒト幼児（human infant）」は、24月未満、好ましくは16月未満、12月未満、6月未満、3月未満、2月未満、1月未満の月齢のヒトを意味する。

【0065】

本明細書に使用される用語「ヒト未熟児」は、40週未満在胎齢、好ましくは35週未満在胎齢で出生しかつ6月齢未満、好ましくは3月齢未満、さらに好ましくは2月齢未満、そして最も好ましくは1月齢未満であるヒトを意味する。

【0066】

「単離された」または「精製された」抗体またはその断片は、細胞物質またはタンパク質が誘導された細胞もしくは組織供給源由来の他の汚染タンパク質を実質的に含まないか、または化学合成したときの化学前駆体もしくは他の化学品を実質的に含まない。表現「細胞物質を実質的に含まない」は、それから抗体または抗体断片が単離されたか組換えにより産生された元の細胞の細胞成分から分離された抗体または抗体断片の調製物にもあてはまる。従って、細胞物質を実質的に含まない抗体または抗体断片としては、ほぼ30%、20%、10%、または5%（乾燥重量で）未満の異種タンパク質（本明細書では「汚染タンパク質」とも呼ぶ）しか有しない抗体または抗体断片の調製物が挙げられる。抗体または抗体断片を組換えにより生産するときは、培地も実質的に含まないことが好ましく、すなわち、培地はタンパク質調製物のほぼ20%、10%、または5%未満である。抗体または抗体断片を化学合成により生産するときは、化学前駆体または他の化学品を実質的に含まない、すなわち、タンパク質合成に関わる化学前駆体または他の化学品が分離されていることが好ましい。従って、抗体または抗体断片は、目的の抗体または抗体断片以外の化学前駆体または化合物をほぼ30%、20%、10%、5%（乾燥重量で）未満しか有しない。好ましい実施形態においては、本発明の抗体またはその断片は単離されるかまたは精製される。

30

40

【0067】

「単離された」核酸分子は、核酸分子の天然源中に存在する他の核酸分子を分離した核酸分子である。さらに、DNA分子などの「単離された」核酸分子は、組換え技術により生産するときには他の細胞物質もしくは培地を実質的に含まないであろうし、また、化学的に合成するときには化学前駆体または他の化学品を実質的に含まないであろう。好ましい

50

実施形態においては、本発明の抗体またはその断片をコードする核酸分子は単離されるかまたは精製されている。

【0068】

本明細書に使用される用語「融合タンパク質」は、抗体またはその断片のアミノ酸配列及び異種ポリペプチド（例えば、非抗RSV抗原抗体）のアミノ酸配列を含んでなるポリペプチドを意味する。

【0069】

本明細書に使用される用語「高効力（high potency）」は、本明細書に記載した生物学的活性（例えば、RSVの中和）についての様々なアッセイで定量して高効力を示す抗体またはその断片を意味する。例えば、本発明の高効力抗体またはその断片は、本明細書に記載のマイクロ中和アッセイにより測定して0.01nM未満、0.025nM未満、0.05nM未満、0.1nM未満、0.25nM未満、0.5nM未満、0.75nM未満、1nM未満、1.25nM未満、1.5nM未満、1.75nM未満、または2nM未満の EC_{50} 値を有する。さらに、本発明の高効力抗体またはその断片は、 10^5 pfuによるチャレンジ5日後のコトンラットにおいて、前記抗体または抗体断片を投与していないコトンラットと比較して、少なくとも75%、好ましくは95%そしてさらに好ましくは99%低いRSV力価を得る。本発明のある特定の実施形態においては、本発明の高効力抗体またはその断片は1以上のRSV抗原に対して高いアフィニティ及び/または高いアビディティ（例えば、1以上のRSV抗原に対して少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティを有する抗体または抗体断片）を示す。

【0070】

本明細書に使用される用語「宿主」は、哺乳類、好ましくはヒトを意味する。

【0071】

本明細書に使用される用語「宿主細胞」は、核酸分子を用いてトランスフェクトした特定の対象細胞及びかかる細胞の子孫または潜在子孫を意味する。かかる細胞の子孫は、突然変異または継世代にて起こりうる環境影響または核酸分子の宿主細胞ゲノムへの組み込みの故に、核酸分子を用いてトランスフェクトした親細胞と同一でなくてもよい。

【0072】

本発明のある特定の実施形態においては、「予防上有効な血清力価」は哺乳類、好ましくはヒトにおいて、前記哺乳類におけるRSV感染の発生率を低下させる血清力価である。好ましくは、予防上有効な血清力価は、RSV感染から起こる合併症の確率が非常に高いヒト（例えば、嚢胞性線維症、気管支肺異形成、先天性心疾患、先天性免疫不全もしくは後天性免疫不全を患うヒト、骨髄移植を受けたヒト、幼児、または高齢者）におけるRSV感染の発生率を低下させる。本発明のある特定の他の実施形態においては、「予防上有効な血清力価」は、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体または抗体断片を投与しなかったコトンラットにおけるRSVの 10^5 pfuによるチャレンジ5日後のRSV力価より99%低い、 10^5 pfuによるチャレンジ5日後のRSV力価をもたらすコトンラットの血清力価である。

【0073】

本発明のある特定の実施形態においては、「治療上有効な血清力価」は哺乳類、好ましくはヒトにおいて、前記哺乳類のRSV感染に関連する重篤度、持続期間及び/または症状を低下させる血清力価である。好ましくは、治療上有効な血清力価は、RSV感染から起こる合併症の確率が非常に高いヒト（例えば、嚢胞性線維症、気管支肺異形成、先天性心疾患、先天性免疫不全もしくは後天性免疫不全を患うヒト、骨髄移植を受けたヒト、幼児、または高齢者）におけるRSV感染に関連する重篤度、持続期間及び/または症状数を低下させる。本発明のある特定の他の実施形態においては、「治療上有効な血清力価」は、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体または抗体断片を投与しなかったコトンラットにおけるRSVの 10^5 pfuによるチャレンジ5日後のRSV力価より99%低い、 10^5 pfuによるチャレンジ5日後のRSV力価をもたらすコトンラットの血清力価である。

【 0 0 7 4 】

本明細書に使用される「HL-SYNAGIS」は、SYNAGIS（登録商標）のFcドメインとFcRn受容体の間の相互作用に関わることが確認されたアミノ酸残基に1以上の改変を施したSYNAGIS（登録商標）であり、SYNAGIS（登録商標）のin vivo半減期が増加して21日より長くなる。HL-SYNAGISの抗原結合断片はRSV F糖タンパク質と免疫特異的に結合するSYNAGIS（登録商標）の断片であり、SYNAGIS（登録商標）のFcドメインとFcRn受容体との間の相互作用に関わることが確認されているアミノ酸残基に1以上の改変を有し、前記改変により抗原結合断片のin vitro半減期の増加が得られることを特徴とする。本発明によれば、HL-SYNAGISまたはその抗原結合部位は少なくとも25日、好ましくは少なくとも30日、さらに好ましくは少なくとも35日、そして最も好ましくは少なくとも40日のin vivo半減期を有する。

10

【 0 0 7 5 】

用語「RSV抗原」は、抗体または抗体断片が免疫特異的に結合するRSVポリペプチドまたはその断片を意味する。RSV抗原はまた、抗体または抗体断片が免疫特異的に結合するRSVポリペプチドまたはその断片の類似体もしくは誘導体も意味する。

【 0 0 7 6 】

本明細書に使用される用語「血清力価」は、少なくとも10、好ましくは少なくとも20、そして最も好ましくは40被験体の集団における平均血清力価を意味する。

【 0 0 7 7 】

本明細書に使用される用語「RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体または断片」は、RSVポリペプチドまたはRSVポリペプチドの断片と特異的に結合しかつ他のポリペプチドと非特異的に結合することのない抗体またはその断片を意味する。RSVポリペプチドまたはその断片と免疫特異的に結合する抗体または断片は他の抗原と交差反応性を有してもよい。好ましくは、RSVポリペプチドまたはその断片と免疫特異的に結合する抗体または断片は他の抗原と交差反応しない。RSVポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体または断片は、例えば、イムノアッセイまたは当業者が周知の他の技術により同定することができる。

20

【 0 0 7 8 】

2つのアミノ酸配列または2つの核酸配列のパーセント同一性を決定するには、配列を最適な比較ができるようにアラインする（例えば、第1アミノ酸または核酸配列中にギャップを導入して、第2アミノ酸または核酸配列とのアラインメントを最適化してもよい）。次いで対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置におけるアミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第1配列のある位置を、第2配列の対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドが占めるときは、それらの分子はその位置において同一である。2つの配列間のパーセント同一性は、配列により共有される同一位置の数の関数（すなわち、 $\% \text{同一性} = \text{同一重複位置数} / \text{全位置数} \times 100\%$ ）である。一実施形態においては、2つの配列は同じ長さである。

30

【 0 0 7 9 】

2つの配列間のパーセント同一性の決定はまた、数学アルゴリズムを利用して実施することもできる。2つの配列間の比較に利用される数学アルゴリズムの好ましい例は、限定されるものでないが、Karlin及びAltschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:264-2268、及びそれを改訂したKarlin及びAltschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873-5877に記載のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムを、Altschulら, 1990, J. Mol. Biol. 215:403に記載のNBLAST及びXBLASTプログラム中に組み込む。BLASTヌクレオチド検索を、NBLASTヌクレオチドプログラムパラメーターを、例えばスコア=100、ワード長=12にセットして実施し、本発明の核酸分子と相同的なヌクレオチド配列を得ることができる。BLASTタンパク質検索を、XBLASTヌクレオチドプログラムパラメーターを例えば、スコア=50、ワード長=3にセットして実施し、本発明のタンパク質分子と相同的なアミノ酸配列を得ることができる。比較目的のため、ギャップ付きアラインメントを得るには、Altschulら, 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402に記載のギャップ付きBLASTを利用することができる。あるいは、PSI-BLASTを用いて反復検索を実施し、分子

40

50

間の離れた関係を検出することができる(同上)。BLAST、ギャップ付きBLAST、及びPSI-Blastプログラムを利用するとき、それぞれのプログラムの(例えばXBLAST及びNBLASTの)デフォルトパラメーターを使用することができる(例えば、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>を参照)。配列比較のために利用される数学アルゴリズムの他の好ましい例は、限定されるものでないが、Myers及びMiller, 1988, CABIOS 4:11-17に記載のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムを、GCG配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部であるALIGNプログラム(バージョン2.0)に組み込む。アミノ酸配列を比較するためにALIGNプログラムを利用するとき、PAM120重み残差表(weight residue table)、12のギャップ長ペナルティ、及び4のギャップペナルティを使うことができる。

【0080】

2つの配列間のパーセント同一性は、上記記載と類似の技術を用いてギャップ有りまたは無しで決定することができる。パーセント同一性を計算するには、典型的には正確な対合だけを数える。

【0081】

4. 図面の簡単な説明

図面の簡単な説明については以下参照。

【発明を実施するための最良の形態】

【0082】

5. 発明の詳細な説明

本発明は、被験者のRSV感染に関連して予防、中和、治療及び1以上の症状を改善する方法であって、1以上のRSV抗原と高アフィニティ及び/または高アビディティで免疫特異的に結合し及び/またはより長い血清半減期を有する1以上の抗体を前記被験者に投与することを含んでなる前記方法を提供する。本発明の抗体は高アフィニティ及び/または高アビディティを有するので、従来RSV感染に関連して予防、中和、治療、及び症状を改善するために有効であると考えられていたよりもさらに低い前記抗体の用量の使用が可能になる。1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体のより低い用量の使用は、有害な影響を与える可能性を低下するとともにより有効な予防を提供する。さらに、本発明の抗体の高アフィニティ及び/または高アビディティは、従来RSV感染に関連して予防、中和、治療、及び症状を改善するために有効であると考えられていたよりもさらに少ない前記抗体の投与頻度を可能にする。

【0083】

本発明はまた、被験者のRSV感染に関連して予防、中和、治療及び1以上の症状を改善する方法であって、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体を前記被験者に投与し、前記抗体が他の既知の抗体より増加した半減期を有することを含んでなる前記方法も提供する。

【0084】

本発明はまた、改良された1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体を被験者に投与する方法であって、被験者に投与する前記抗体のより低い用量を使用して、RSV感染に関連して予防、中和、治療または1以上の症状を改善するために有効な血清力価を達成することを可能にする方法も提供する。本発明は1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体をRSV感染の部位に直接送達する方法を包含する。特に、本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体の肺送達を包含する。改良された1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体を送達する方法は、前記抗体の被験者への投与の用量及び頻度を低下させる。

【0085】

本発明は、一部分は、哺乳類の呼吸器合胞体ウイルス(RSV)抗原と既知の抗体より高いアフィニティ及び/または高いアビディティで免疫特異的に結合する抗体またはその断片の1µg/ml以下、好ましくは2µg/ml以下、5µg/ml以下、6µg/ml以下、10µg/ml以下、15g/ml µg/ml以下、20g/ml µg/ml以下、または25µg/ml以下の血清力価を達成するかまたは誘導しながら、有害な影響を低下するかまたは回避することに基づく。好ましくは、あ

る血清力価または1 $\mu\text{g/ml}$ 以下、好ましくは2 $\mu\text{g/ml}$ 以下、5 $\mu\text{g/ml}$ 以下、6 $\mu\text{g/ml}$ 以下、10 $\mu\text{g/ml}$ 以下、15 $\mu\text{g/ml}$ 以下、20 $\mu\text{g/ml}$ 以下、または25 $\mu\text{g/ml}$ 以下の血清力価を、RSVと免疫特異的に結合する抗体またはその断片の第1用量の投与後ほぼ20日（好ましくは25、30、35または40日）、前記抗体またはその断片のいずれかの他の用量の投与なしに達成する。

【0086】

本発明は、哺乳類の呼吸器合胞体ウイルス（RSV）と免疫特異的に結合する抗体またはその断片の少なくとも30 $\mu\text{g/ml}$ 、好ましくは少なくとも40 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも50 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも75 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも100 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも125 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも150 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも175 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも200 $\mu\text{g/ml}$ 、好ましくは少なくとも225 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも250 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも275 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも300 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも325 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも350 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも375 $\mu\text{g/ml}$ 、または少なくとも400 $\mu\text{g/ml}$ の血清力価を達成するかまたは誘導しながら、有害な作用を低下するかまたは回避する方法を提供する。好ましくは、ある血清力価または少なくとも30 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも40 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも50 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも75 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも100 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも125 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも150 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも175 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも200 $\mu\text{g/ml}$ 、好ましくは少なくとも225 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも250 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも275 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも300 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも325 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも350 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも375 $\mu\text{g/ml}$ 、または少なくとも400 $\mu\text{g/ml}$ の血清力価を、RSVと免疫特異的に結合する抗体またはその断片の第1用量の投与後ほぼ30日、かつ前記抗体またはその断片のいずれの他の用量の投与なしに達成する。

【0087】

ある特定の実施形態においては、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の少なくとも40 $\mu\text{g/ml}$ 、好ましくは少なくとも80 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも100 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも120 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも150 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも200 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも250 $\mu\text{g/ml}$ 、または少なくとも300 $\mu\text{g/ml}$ の非霊長類哺乳類の血清力価を、非霊長類哺乳類に抗体または抗体断片の2.5mg/kg未満、好ましくは1mg/kg未満、または0.5 mg/kgの用量を投与後少なくとも1日、達成する。他の実施形態においては、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の少なくとも150 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも200 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも250 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも300 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも350 $\mu\text{g/ml}$ 、または少なくとも400 $\mu\text{g/ml}$ の非霊長類哺乳類の血清力価を、非霊長類哺乳類に抗体または抗体断片のほぼ5mg/kgの用量を投与後少なくとも1日、達成する。

【0088】

他の実施形態においては、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の少なくとも40 $\mu\text{g/ml}$ 、好ましくは少なくとも80 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも100 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも120 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも150 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも200 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも250 $\mu\text{g/ml}$ 、または少なくとも300 $\mu\text{g/ml}$ の霊長類の血清力価を、霊長類に抗体または抗体断片の5mg/kg未満、好ましくは3mg/kg未満、1mg/kg未満、または0.5 mg/kgの第1用量を投与後少なくとも30日、達成する。さらに他の実施形態においては、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の少なくとも200 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも250 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも300 $\mu\text{g/ml}$ 、少なくとも350 $\mu\text{g/ml}$ 、または少なくとも400 $\mu\text{g/ml}$ の霊長類の血清力価を、霊長類に抗体または抗体断片のほぼ15mg/kgの用量を投与後少なくとも30日、達成する。これらの実施形態によれば、霊長類は好ましくはヒトである。

【0089】

本発明は、哺乳類、好ましくはヒトのRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の予防または治療上有効な量の第1用量を前記哺乳類に投与し、前記有効量は前記抗体またはその断片の15mg/kg未満であり、その結果、40 $\mu\text{g/ml}$ より大きい血清力価を、第1投与後30日かつその後のいずれかの用量の投与前に得ることを含んでなる前記方法を提供する。一実施形態においては、ヒト被験者のRSV感染を予防もしくは治療するか

またはRSV感染に関連する1以上の症状を改善する方法であり、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の10mg/kg未満、好ましくは5mg/kg未満、3mg/kg未満、または1mg/kg未満の第1用量を投与し、その結果、少なくとも40 μ g/ml、好ましくは少なくとも80 μ g/ml、または少なくとも120 μ g/ml、少なくとも150 μ g/ml、少なくとも200 μ g/ml、少なくとも250 μ g/ml、または少なくとも300 μ g/mlの血清抗体力価を、抗体またはその断片の第1用量の投与後30日かつその後のいずれかの用量の投与前に達成することによる前記方法である。他の実施形態においては、ヒト被験者のRSV感染を予防もしくは治療するかまたはRSV感染に関連する1以上の症状を改善する方法であり、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片のほぼ15mg/kgの第1用量を投与し、その結果、少なくとも75 μ g/ml、好ましくは少なくとも100 μ g/ml、または

10

少なくとも200 μ g/ml、少なくとも250 μ g/ml、少なくとも300 μ g/ml、少なくとも350 μ g/ml、または少なくとも400 μ g/mlの血清抗体力価を、抗体または抗体断片の第1投与後30日かつその後のいずれかの用量の投与前に達成することによる前記方法である。さらに他の実施形態においては、ヒト被験者のRSV感染を予防もしくは治療するか、またはRSV感染に関連する1以上の症状を改善する方法であり、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の第1用量を投与し、その結果、10 μ g/ml未満、好ましくは5 μ g/ml未満、3 μ g/ml未満、1 μ g/ml未満、または0.

20

【0090】

本発明は、RSV抗原と免疫特異的に結合して少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 少なくとも、または $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティ定数をもつ抗体またはその断片を提供する。好ましくは、抗体または抗体断片は、SYNAGIS（登録商標）がRSV F糖タンパク質に対して有するより高いRSV抗原に対するアフィニティを有する。本発明はまた、RSV抗原と免疫特異的に結合して少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 少なくとも、または $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティ定数をもつ1以上の抗体を含んでなる医薬組成物も提供する。

30

【0091】

本発明はまた、既知の抗体またはその断片より高いアビディティでRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片も提供する。好ましくは、該抗体または抗体断片は、SYNAGIS（登録商標）がRSV F糖タンパク質に対して有するより高いRSV抗原に対するアビディティを有する。本発明はまた、RSV抗原と免疫特異的に結合しかついずれの既知の抗体またはその断片より高いRSVに対するアフィニティを有する抗体またはその断片も提供する。本発明はまた、既知の抗体またはその断片より高いアビディティでRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を含んでなる医薬組成物も提供する。

40

【0092】

本発明はまた、RSV抗原と免疫特異的に結合して少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 少な

50

くとも、または $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティ定数をもつ抗体またはその断片であって、例えばSYNAGIS（登録商標）などのいずれの既知の抗体またはその断片よりも高い1以上のRSV抗原に対するアビディティを有する前記抗体またはその断片も提供する。本発明はさらに、RSV抗原と免疫特異的に結合して少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 少なくとも、または $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティ定数をもつ抗体またはその断片であって、例えばSYNAGIS（登録商標）などのいずれの既知の抗体またはその断片よりも高い1以上のRSV抗原に対するアビディティを有する1以上の前記抗体またはその断片を含んでなる医薬組成物も提供する。

10

【0093】

本発明は、哺乳類において1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片のある一定の血清力価（好ましくは、血清力価 $1 \mu\text{g/ml}$ 以下、 $2 \mu\text{g/ml}$ 以下、 $5 \mu\text{g/ml}$ 以下、 $6 \mu\text{g/ml}$ 以下、 $10 \mu\text{g/ml}$ 以下、 $15 \mu\text{g/ml}$ 以下、 $20 \mu\text{g/ml}$ 以下、または $25 \mu\text{g/ml}$ 以下、）を達成する方法であって、前記抗原に対して少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 少なくとも、または $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティ定数を有する1以上の抗体またはその断片を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。好ましくは、該抗体または抗体断片は、SYNAGIS（登録商標）がRSV F糖タンパク質に対して有するより高いRSV抗原に対するアフィニティを有する。

20

【0094】

本発明はまた、哺乳類において1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片のある一定の血清力価を達成する方法であって、いずれの既知の抗体または抗体断片よりも高いRSV抗原に対するアビディティを有する1以上の前記抗体またはその断片を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法である。好ましくは、該抗体または抗体断片は、SYNAGIS（登録商標）がRSV F糖タンパク質に対して有するより高いRSV抗原に対するアビディティを有する。

30

【0095】

本発明はまた、哺乳類において1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片のある一定の血清力価を達成する方法であって、RSV抗原に対して少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 少なくとも、または $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティ定数を有しかついずれの既知の抗体または抗体断片よりも高いRSV抗原に対するアビディティを有する1以上の抗体またはその断片を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法である。

40

【0096】

本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片を用いてRSVを中和する方法であって、かつ前記抗体またはその断片がRSV抗原に対して少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 少なくとも、または $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティ定数を有する前

50

記方法も提供する。好ましくは、該抗体または抗体断片は、SYNAGIS（登録商標）がRSV F糖タンパク質に対して有するよりも高いRSV抗原に対するアフィニティを有する。本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかついずれの既知の抗体または抗体断片よりも高い前記RSV抗原に対するアピディティを有する抗体またはその断片を用いてRSVを中和する方法も提供する。好ましくは、該抗体または抗体断片は、SYNAGIS（登録商標）がRSV F糖タンパク質に対して有するよりも高いRSV抗原に対するアピディティを有する。本発明はまた、少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 少なくとも、または $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティ定数で1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかついずれの既知の抗体または抗体断片よりも高い前記RSV抗原に対するアピディティを有する抗体またはその断片を用いてRSVを中和する方法も提供する。これらの抗体または抗体断片がRSV抗原に対して有するより高いアフィニティ及び/またはより高いアピディティによって、RSVの中和を達成するために必要なこれらの抗体または抗体断片の濃度は既知のものより低くなる。

【0097】

本発明はまた、哺乳類のRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつRSV抗原に対して少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 少なくとも、または $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティ定数を有する1以上の抗体またはその断片を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法も提供する。好ましくは、該抗体または抗体断片は、SYNAGIS（登録商標）がRSV F糖タンパク質に対して有するより高いRSV抗原に対するアフィニティを有する。本発明はまた、哺乳類のRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかついずれの既知の抗体または抗体断片よりも高い前記RSV抗原に対するアピディティを有する1以上の抗体またはその断片を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法も提供する。好ましくは、抗体または抗体断片は、SYNAGIS（登録商標）がRSV F糖タンパク質に対して有するよりも高いRSV抗原に対するアピディティを有する。本発明はさらに、哺乳類のRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、少なくとも $2 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $2.5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 少なくとも、または $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ のアフィニティ定数で1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかついずれの既知の抗体または抗体断片よりも高い前記RSV抗原に対するアピディティを有する1以上の抗体またはその断片を前記哺乳類に投与することを含んでなる前記方法を提供する。これらの抗体または抗体断片がRSV抗原に対して有するより高いアフィニティ及び/またはより高いアピディティによって、哺乳類、好ましくはヒトの予防または治療上の効果を達成するために必要なこれらの抗体または抗体断片の投与は既知のものより低い用量及び/またはより少ない頻度となる。

【0098】

本発明は、哺乳類、好ましくはヒトのRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する方法であって、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアピディティ及び/またはアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の予防または治療上有効な量の第1用量を前記哺乳類に投与することを含ん

でなり、ここで前記有効量は前記抗体またはその断片の15mg/kg未満であって第1投与後30日かつその後のいずれかの投与前に30 μ g/ml未満（好ましくは、少なくとも2 μ g/ml、さらに好ましくは、少なくとも4 μ g/ml、そして最も好ましくは、少なくとも6 μ g/ml）の血清力価を得る前記方法を提供する。一実施形態においては、ヒト被験者のRSV感染を予防もしくは治療するかまたはヒト被験者の1以上の症状を改善する方法であって、SYNAGIS（登録商標）などの既知の抗体より高いアビディティ及び/またはアフィニティで1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片の10mg/kg未満、好ましくは5mg/kg未満、3mg/kg未満、1mg/kg未満、または0.5mg/kg未満の第1用量を投与し、その結果、少なくとも6 μ g/ml、好ましくは少なくとも10 μ g/ml、少なくとも25 μ g/ml、少なくとも30 μ g/ml、少なくとも40 μ g/ml、少なくとも80 μ g/ml、少なくとも120 μ g/ml、少なくともまたは150 μ g/ml、少なくとも200 μ g/ml、好ましくは少なくとも250 μ g/ml、少なくとも300 μ g/mlの血清力価を、該抗体または抗体断片の第1投与後30日かつその後のいずれかの投与前に達成することによる前記方法を提供する。

【0099】

本発明は、表2に掲げたいずれかのVHドメインのアミノ酸配列を有する可変重（variable heavy）（「VH」）ドメインを含有する抗体またはその断片ならびに前記抗体または抗体断片を含んでなる医薬組成物を提供する。本発明はまた、表2及び/または表3に掲げた1以上のVH CDRのアミノ酸配列を有する1以上のVH CDRを含有する抗体またはその断片ならびに前記抗体または抗体断片を含んでなる医薬組成物も提供する。本発明はまた、表2に掲げたいずれかのVLドメインのアミノ酸配列を有する可変軽（variable light）（「VL」）ドメインを含有する抗体またはその断片ならびに前記抗体または抗体断片を含んでなる医薬組成物も提供する。本発明はまた、表2及び/または表3に掲げた1以上のVL CDRのアミノ酸配列を有する1以上のVL CDRを含有する抗体またはその断片ならびに前記抗体または抗体断片を含んでなる医薬組成物も提供する。本発明はまた、表2に掲げたいずれかのVHドメインのアミノ酸配列を有するVHドメイン及び表2に掲げたいずれかのVLドメインのアミノ酸配列を有するVLドメインを含有する抗体またはその断片ならびに前記抗体または抗体断片を含んでなる医薬組成物も提供する。本発明はまた、表2及び/または表3に掲げた1以上のVH CDRのアミノ酸配列を有する1以上のVH CDRならびに表2及び/または表3に掲げた1以上のVL CDRのアミノ酸配列を有する1以上のVL CDRを含有する抗体またはその断片も提供する。本発明は、前記抗体または抗体断片を含んでなる医薬組成物を包含する。好ましくは、前記抗体または抗体断片は1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する。

【0100】

本発明は、表2に掲げたいずれかのVHドメインのアミノ酸配列を有する可変重（「VH」）ドメインを含有する1以上の抗体を用いて、予防、中和、治療または1以上の症状を改善する方法を包含する。本発明はまた、表2及び/または表3に掲げた1以上のVH CDRのアミノ酸配列を有する1以上のVH CDRを含有する1以上の抗体を用いて、予防、中和、治療または1以上の症状を改善する方法も包含する。本発明はまた、表2に掲げたいずれかのVLドメインのアミノ酸配列を有する可変軽（「VL」）ドメインを含有する1以上の抗体を用いて、予防、中和、治療または1以上の症状を改善する方法も包含する。本発明はまた、表2及び/または表3に掲げた1以上のVL CDRのアミノ酸配列を有する1以上のVL CDRを含有する1以上の抗体を用いて、予防、中和、治療または1以上の症状を改善する方法も包含する。本発明はまた、表2に掲げたいずれかのVHドメインのアミノ酸配列を有する可変重VHドメイン及び表2に掲げたいずれかのVLドメインのアミノ酸配列を有するVLを含有する1以上の抗体を用いて、予防、中和、治療または1以上の症状を改善する方法も包含する。本発明はまた、表2及び/または表3に掲げた1以上のVH CDRのアミノ酸配列を有する1以上のVH CDRならびに表2及び/または表3に掲げた1以上のVL CDRのアミノ酸配列を有する1以上のVL CDRを含有する1以上の抗体を用いて、予防、中和、治療または1以上の症状を改善する方法も包含する。好ましくは、前記抗体または抗体断片は1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する。

【 0 1 0 1 】

本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつ増加したin vivo半減期をもつ抗体またはその断片を包含する。特に、本発明はHL-SYNAGISおよびその抗原結合断片を包含する。本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつSYNAGIS（登録商標）のFcドメインより高いFcRn受容体に対するアフィニティをもつFcドメインを有することを特徴とする本明細書に記載の新規の抗体または断片も包含する。

【 0 1 0 2 】

本発明はまた、免疫特異的に1以上のRSV抗原と結合しかつ増加したin vivo半減期をもつ抗体またはその断片を用いて、RSV感染に関連して予防、中和、治療または1以上の症状を改善する方法も包含する。特に、本発明は、HL-SYNAGISまたはその抗原結合断片を用いて、RSV感染に関連して予防、中和、治療または1以上の症状を改善する方法も包含する。本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合しかつSYNAGIS（登録商標）のFcドメインより高いFcRn受容体に対するアフィニティをもつFcドメインを有することを特徴とする本明細書に記載の新規の抗体またはその断片を用いて、RSV感染に関連する予防、中和、治療または1以上の症状を改善する方法も包含する。

10

【 0 1 0 3 】

本発明は、RSV感染に関連して予防、中和、治療または1以上の症状を改善するための、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片の徐放製剤を提供する。特に本発明は、RSV感染に関連する予防、中和、治療または1以上の症状を改善するための、SYNAGIS（登録商標）またはその断片の徐放製剤を提供する。本発明はまた、RSV感染に関連する予防、中和、治療または1以上の症状を改善するための、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する本明細書に記載の1以上の新規の抗体またはその断片の徐放製剤も提供する。

20

【 0 1 0 4 】

本発明はまた、本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片を含んでなる組成物を、被験者のRSV感染部位へ投与する方法も提供する。特に本発明は、被験者に対する肺送達用の1以上の抗体またはその断片を含んでなる組成物を提供する。

【 0 1 0 5 】

本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片を含んでなる組成物、及び前記抗体または抗体断片を利用してRSV感染を検出するかまたは診断する方法を提供する。

30

【 0 1 0 6 】

5.1. 抗体

当技術分野において、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体が公知であることは認識されるに違いない。例えば、SYNAGIS（登録商標）は、小児患者のRSV感染を予防するために現在使われるヒト化モノクローナル抗体である。本発明は、本明細書で考察した、SYNAGIS（登録商標）及び他の既知の抗RSV抗体を投与するための新規の製剤ならびにSYNAGIS（登録商標）及び他の既知の抗RSV抗体の新規の用量を包含する。

40

【 0 1 0 7 】

さらに、本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する新規の抗体、断片及び他の生物学的または高分子を包含する。本発明はさらに、これらの新規の薬剤について、部分的に、それらのユニークな治療プロファイル及び効力に基づいて、新規の投与、用量、処方及び用途の様式を包含する。

【 0 1 0 8 】

以下に記載するのは、本発明の様々な態様内に包含される抗体のさらに詳細な説明である。

【 0 1 0 9 】

本発明は1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片を提供する。本発明は1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片を提供する。好まし

50

くは、本発明の抗体またはその断片は、RSVの株とは無関係に、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する。本発明はまた、他のRSV株と対比してあるRSV株由来のRSV抗原と差別的かつ優先的に結合する抗体またはその断片も提供する。ある特定の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片はRSV F糖タンパク質、G糖タンパク質またはSHタンパク質と免疫特異的に結合する。ある好ましい実施形態においては、本発明の抗体またはその断片はRSV F糖タンパク質と免疫特異的に結合する。他の好ましい実施形態においては、本発明の抗体またはその断片はRSV F糖タンパク質のA、B、またはC抗原部位と結合する。

【0110】

本発明の抗体は、限定されるものでないが、モノクローナル抗体、多特異的 (multispecific) 抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、1本鎖Fvs (scFv)、1本鎖抗体、Fab断片、F(ab')断片、ジスルフィド連結Fvs (sdFv)、及び抗イディオタイプ (抗Id) 抗体 (例えば、本発明の抗体に対する抗Id抗体を含む)、及び前記のいずれかのエピトープ結合断片が挙げられる。特に、本発明の抗体は免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫活性部分、すなわち、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗原結合部位を含んでなる分子が挙げられる。本発明の免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子のいずれのタイプ (例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及びIgY)、クラス (例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及びIgA₂) またはサブクラスであってもよい。

【0111】

本発明の抗体はいずれの動物由来であってもよく、鳥類及び哺乳類 (例えば、ヒト、マウス、ロバ、ヒツジ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、またはニワトリ) が挙げられる。好ましくは、本発明の抗体はヒトまたはヒト化モノクローナル抗体である。本明細書に使用される「ヒト」抗体は、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有する抗体が挙げられかつヒト免疫グロブリンライブラリーまたはまたはヒト遺伝子由来の抗体を発現するマウスから単離された抗体が挙げられる。

【0112】

本発明の抗体は単特異的 (monospecific)、二特異的 (bispecific)、三特異的 (trispecific) またはさらにもっと多特異的 (multispecific) であってもよい。多特異的抗体はRSVポリペプチドの様々なエピトープに対して特異的であってもまたはRSVポリペプチドならびに異種エピトープ (異種ポリペプチドもしくは固相支持材料などの) の両方に対して特異的であってもよい。例えば、PCT公開特許WO 93/17715、WO 92/08802、WO 91/00360、及びWO 92/05793; Tuttら, J. Immunol. 147:60-69 (1991); 米国特許第4,474,893号、第4,714,681号、第4,925,648号、第5,573,920号、及び第5,601,819号; ならびにKostelnyら, J. Immunol. 148:1547-1553 (1992)を参照。

【0113】

本発明は、本明細書に記載のアッセイで高い効力を示す抗体またはその断片を提供する。高効力抗体またはその断片は同時係属中の米国特許出願第60/168,426号及び第60/186,252号に開示された方法ならびに本明細書に記載の方法により生産することができる。例えば、高効力抗体は、適当な抗体遺伝子配列を遺伝子操作して適当な宿主に該抗体を発現させることにより生産することができる。生産された抗体をスクリーニングし、例えばBIAコアアッセイ (BIAcore assay) で高い k_{on} 値をもつ抗体を同定することができる。

【0114】

本発明は1以上のRSV抗原に対して高い結合アフィニティを有する抗体またはその断片を提供する。特定の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片の有する結合速度定数もしくは k_{on} 速度 (抗体 (Ab) + 抗原 (Ag) \rightarrow Ab-Agの k_{on}) は、少なくとも $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、または少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である。好ましい実施形態においては、本発明の抗体またはその断片の有する k_{on} は、 $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、または少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である。

【 0 1 1 5 】

他の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片の有する k_{off} 速度（抗体(Ab) + 抗原(Ag) Ab-Agの K_{off} ）は、 $10^{-1} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-1} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $10^{-2} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $10^{-4} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $10^{-6} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-6} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $10^{-7} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-7} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $10^{-8} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-8} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $10^{-9} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-9} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満、 $10^{-10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 未満である。好ましい実施形態においては、本発明の抗体またはその断片の有する k_{on} は、 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-5} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-6} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-7} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-8} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-9} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ 未満、または 10^{-10} s^{-1} 未満である。

10

【 0 1 1 6 】

他の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片の有するアフィニティ定数もしくは K_a (k_{on}/k_{off}) は、少なくとも 10^2 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^3 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^4 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^5 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^6 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^7 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^8 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ である。さらに他の実施形態においては、抗体またはその断片の有する解離定数もしくは K_d (k_{off}/k_{on}) は 10^{-2} M 未満、 $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ 未満、 10^{-3} M 未満、 $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ 未満、 10^{-4} M 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ 未満、 10^{-5} M 未満、 $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ 未満、 10^{-6} M 未満、 $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ 未満、 10^{-7} M 未満、 $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ 未満、 10^{-8} M 未満、 $5 \times 10^{-8} \text{ M}$ 未満、 10^{-9} M 未満、 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 未満、 10^{-10} M 未満、 $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 未満、 10^{-11} M 未満、 $5 \times 10^{-11} \text{ M}$ 未満、 10^{-12} M 未満、 $5 \times 10^{-12} \text{ M}$ 未満、 10^{-13} M 未満、 $5 \times 10^{-13} \text{ M}$ 未満、 10^{-14} M 未満、 $5 \times 10^{-14} \text{ M}$ 未満、 10^{-15} M 未満、または $5 \times 10^{-15} \text{ M}$ 未満である。

20

【 0 1 1 7 】

本発明が提供する抗体またはその断片の有するメジアン有効濃度 (EC_{50}) は、in vitro マイクロ中和アッセイ (microneutralization assay) において0.01 nM未満、0.025 nM未満、0.05 nM未満、0.1 nM未満、0.25 nM未満、0.5 nM未満、0.75 nM未満、1 nM未満、1.25 nM未満、1.5 nM未満、1.75 nM未満、または2 nM未満である。メジアン有効濃度は、in vitro マイクロ中和アッセイにおいてRSVの50%を中和する抗体または抗体断片の濃度である。好ましい実施形態においては、本発明の抗体またはその断片の有するメジアン有効濃度 (EC_{50}) は、in vitro マイクロ中和アッセイにおいて0.01 nM未満、0.025 nM未満、0.05 nM未満、0.1 nM未満、0.25 nM未満、0.5 nM未満、0.75 nM未満、1 nM未満、1.25 nM未満、1.5 nM未満、1.75 nM未満、または2 nM未満である。

30

【 0 1 1 8 】

ある特定の実施形態においては、本発明の抗体はSYNAGIS (登録商標) またはその抗体結合断片 (例えば、SYNAGIS (登録商標) の1以上の相補性決定領域) である。SYNAGIS (登録商標) のアミノ酸配列は、例えば、Johnsonら, 1997, J. Infectious Disease 176:1215-1224、及び米国特許第5,824,307号に開示されていて、それぞれの全文は本明細書に参照により組み入れられる。代替の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片はSYNAGIS (登録商標) またはSYNAGIS (登録商標) の断片でない、すなわち、配列番号7のVHドメイン及び/または配列番号8のVLドメインを含んでなる抗体ではない。

40

【 0 1 1 9 】

本発明は、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、表1に記した可変軽 (VL) ドメイン及び/または可変重 (VH) ドメインに1以上のアミノ酸残基置換をもつSYNAGIS (登録商標) のアミノ酸配列を含んでなる前記抗体または抗体断

50

片を提供する。本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、1以上のVL CDR及び/または1以上のVH CDRに1以上のアミノ酸残基置換をもつSYNAGIS（登録商標）のアミノ酸配列を含んでなる前記抗体または抗体断片も提供する。ある特定の実施形態においては、抗体またはその断片は、表1の太字でかつ下線を引いて示したアミノ酸残基の1以上のアミノ酸残基置換をもつSYNAGIS（登録商標）のアミノ酸配列を含んでなる。この実施形態によれば、アミノ酸残基置換は保存性であっても非保存性であってもよい。SYNAGIS（登録商標）のVHドメイン、VH CDR、VLドメイン及び/またはVL CDRに置換を導入することにより作製した抗体または抗体断片を、in vitro及びin vivoで、例えば、RSV F抗原と結合する能力について、RSVを中和する能力について、またはRSV感染に関連した1以上の症状を予防、治療または改善する能力について試験

10

【表1】

表1 SYNAGIS（登録商標）のCDR配列

CDR	配列	配列番号：
VH1	<u>T</u> <u>S</u> GMSVG	1
VH2	DIWWD <u>D</u> <u>K</u> <u>K</u> DYNPSLK <u>S</u>	2
VH3	<u>S</u> M <u>I</u> TN <u>W</u> YFDV	3
VL1	<u>K</u> COLSVGYMH	4
VL2	D <u>T</u> SKLAS	5
VL3	FQGS <u>G</u> YP <u>F</u> ET	6

20

太字のかつ下線を引いたアミノ酸残基は、置換するのが好ましい残基である。

【0120】

ある特定の実施形態においては、本発明の抗体はSYNAGIS（登録商標）、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sである。好ましくは、本発明の抗体はAFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sである。他の実施形態においては、抗体はSYNAGIS（登録商標）、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52SのFab断片である。

30

【0121】

AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、及びA1h5は、SYNAGIS（登録商標）のフレームワーク領域と定常部を含んでなる。A4B4、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、及びA4B4-F52Sは、位置109のバリンに対してアラニンのアミノ酸置換が存在することを除いて、SYNAGIS（登録商標）のフレームワーク領域と定常部を含んでなる。ある特定の実施形態においては、A4B4、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、及びA4B4-F52SはSYNAGIS（登録商標）のフレームワークと定常部を含んでなる。

40

【0122】

他の実施形態においては、本発明は、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sの抗原結合部位を提供する。他の実施形態においては、本発明は1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片であって、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4

50

、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52SのVH鎖及び／またはVL鎖のアミノ酸配列を有するVH鎖及び／またはVL鎖を含んでなる前記抗体または抗体断片を提供する。他の実施形態においては、本発明は1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片であって、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52SのVHドメイン及び／またはVLドメインのアミノ酸配列を有するVHドメイン及び／またはVLドメインを含んでなる前記抗体または抗体断片を提供する。他の実施形態においては、本発明は1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sの1以上のCDRのアミノ酸配列を有する1以上のCDRを含んでなる前記抗体または抗体断片を提供する。さらに他の実施形態においては、本発明は1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片であって、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52SのVH CDR及び／またはVL CDRのアミノ酸配列を有するVH CDR及び／またはVL CDRの組合せを含んでなる前記抗体または抗体断片を提供する。

【 0 1 2 3 】

本発明は1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片であって、表2に掲げたいずれか1つのVLドメインのアミノ酸配列を有する可変重(「VH」)鎖を含んでなる前記抗体または抗体断片を提供する。本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する1以上の抗体またはその断片であって、表2に掲げたいずれか1つのVHドメインのアミノ酸配列を有するVHドメインを含んでなる前記抗体または抗体断片も提供する。ある特定の実施形態においては、表2に掲げたいずれか1つのVHドメインのアミノ酸配列を有するVHドメインを含んでなる抗体またはその断片はSYNAGIS(登録商標)でない。本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、表2及び／または表3に掲げたいずれか1つVH CDRのアミノ酸配列を有するVH相補性決定領域(「CDR」)を含んでなる前記抗体または抗体断片も提供する。本発明のある特定の実施形態においては、表2及び／または表3に掲げたいずれか1つのVH CDRのアミノ酸配列を有するVH相補性決定領域(「CDR」)を含んでなる抗体または抗体断片はSYNAGIS(登録商標)でない。

【表 2】

表 2 抗体及びその断片

抗体名	VH 鎖	VH ドメイン	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL 鎖	VL ドメイン	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
**SYNAGIS	SEQ ID NO: 208	SEQ ID NO:7	TSGMSVG (SEQ ID NO:1)	DIWWDKKDY NP SLKS (SEQ ID NO:2)	SMITNWFYFDV (SEQ ID NO:3)	SEQ ID NO: 209	SEQ ID NO:8	KCQLSVGYM H (SEQ ID NO:4)	DTSK LAS (SEQ ID NO:5)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
***AFF	SEQ ID NO: 210	SEQ ID NO:9	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDY PSLKS (SEQ ID NO:2)	SMITNWFYFDV (SEQ ID NO:12)	SEQ ID NO: 211	SEQ ID NO:13	SASSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEK LAS (SEQ ID NO:15)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:16)
***P12f2	SEQ ID NO: 212	SEQ ID NO:17	TPGMSVG (SEQ ID NO:18)	DIWWDKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMITNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO:21	SLSSRVGYMH (SEQ ID NO:22)	DTEVL SS (SEQ ID NO:23)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
***P12f4	SEQ ID NO: 214	SEQ ID NO:24	TPGMSVG (SEQ ID NO:18)	DIWWDGKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:25)	DMITNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO:26	SLSSRVGYMH (SEQ ID NO:22)	DTRGL PS (SEQ ID NO:27)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
***P11d4	SEQ ID NO: 216	SEQ ID NO:28	TPGMSVG (SEQ ID NO:18)	DIWWDGKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:25)	DMITNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO: 217	SEQ ID NO:30	SPSSRVGYMH (SEQ ID NO:31)	DTMRL AS (SEQ ID NO:32)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A1e9	SEQ ID NO: 218	SEQ ID NO:33	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:25)	DMITNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO: 219	SEQ ID NO:34	SLSSRVGYMH (SEQ ID NO:22)	DTEKL SS (SEQ ID NO:35)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A12a6	SEQ ID NO: 220	SEQ ID NO:36	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKDY PSLKD (SEQ ID NO:37)	DMITNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO:38	SASSRVGYMH (SEQ ID NO:39)	DTEKL SS (SEQ ID NO:35)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)

10

20

30

40

***A13c4	SEQ ID NO: 222	SEQ ID NO:40	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKSYN PSLKD (SEQ ID NO:41)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO: 223	SEQ ID NO:42	SLSSRVGYMH (SEQ ID NO:22)	DTMYOSS (SEQ ID NO:43)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A17d4	SEQ ID NO: 224	SEQ ID NO:44	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKSY NPSLKD (SEQ ID NO:45)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO: 225	SEQ ID NO:46	LPSSRVGYM H (SEQ ID NO:47)	DTMYOSS (SEQ ID NO:43)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A4B4	SEQ ID NO: 226	SEQ ID NO:48	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKH YNPSLKD (SEQ ID NO:19)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO: 227	SEQ ID NO:49	SASSRVGYM H (SEQ ID NO:39)	DTFFLDS (SEQ ID NO:50)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A8c7	SEQ ID NO: 228	SEQ ID NO:51	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKSY NPSLKD (SEQ ID NO:45)	DMIFNWFYFD V (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO: 229	SEQ ID NO:52	SPSSRVGYM H (SEQ ID NO:31)	DTRYOSS (SEQ ID NO:53)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
*IX- 493LIFR	SEQ ID NO: 230	SEQ ID NO:7	TSGMSVG (SEQ ID NO:1)	DIWWDGKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	SMTNWFYFDV (SEQ ID NO:3)	SEQ ID NO: 231	SEQ ID NO:54	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTSKLAS (SEQ ID NO:5)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
*H3-3F4	SEQ ID NO: 232	SEQ ID NO:55	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO: 233	SEQ ID NO:56	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEKLAS (SEQ ID NO:15)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
*M3H9	SEQ ID NO: 234	SEQ ID NO:55	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO: 235	SEQ ID NO:70	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTYKOTS (SEQ ID NO:57)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
*Y10H6	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO:55	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMIFNWFYFDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO: 237	SEQ ID NO:58	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTRYLSS (SEQ ID NO:59)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)

10

20

30

40

*DG	SEQ ID NO: 238	SEQ ID NO:78	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMITNIFYDV (SEQ ID NO:79)	SEQ ID NO: 239	SEQ ID NO:56	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEKLAS (SEQ ID NO:15)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
AFF(1)	SEQ ID NO: 240	SEQ ID NO:9	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	SMITNIFYDV (SEQ ID NO:12)	SEQ ID NO: 241	SEQ ID NO:60	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEKLAS (SEQ ID NO:15)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:61)
*6H8	SEQ ID NO: 242	SEQ ID NO:78	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMITNIFYDV (SEQ ID NO:79)	SEQ ID NO: 243	SEQ ID NO:62	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEKLTS (SEQ ID NO:63)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
*L1-7E5	SEQ ID NO: 244	SEQ ID NO:78	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMITNIFYDV (SEQ ID NO:79)	SEQ ID NO: 245	SEQ ID NO:64	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:39)	DTEKLAS (SEQ ID NO:15)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
*L2-15B10	SEQ ID NO: 246	SEQ ID NO:78	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKDYN PSLKS (SEQ ID NO:2)	DMITNIFYDV (SEQ ID NO:79)	SEQ ID NO: 247	SEQ ID NO:65	SASSSVGYMH (SEQ ID NO:14)	DTEKLAS (SEQ ID NO:66)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
*A13a11	SEQ ID NO: 248	SEQ ID NO:67	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMITNIFYDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO: 249	SEQ ID NO:68	SPSSRVGYMH (SEQ ID NO:31)	DTYRHSS (SEQ ID NO:69)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
*A1h5	SEQ ID NO: 250	SEQ ID NO:33	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDGKKHYN PSLKD (SEQ ID NO:25)	DMITNIFYDV (SEQ ID NO:29)	SEQ ID NO: 251	SEQ ID NO:71	SLSSSVGYMH (SEQ ID NO:72)	DTEFHRS (SEQ ID NO:73)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)
A4B4(1)	SEQ ID NO: 252	SEQ ID NO:48	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKH YNPSLKD (SEQ ID NO:19)	DMITNIFYDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO: 253	SEQ ID NO:74	SASSRVGYM H (SEQ ID NO:39)	DTLLDS (SEQ ID NO:75)	FQSGYPFT (SEQ ID NO:6)

10

20

30

40

***A4B4L1 FR-S28R	SEQ ID NO: 254	SEQ ID NO:48	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKKH YNPSLKD (SEQ ID NO:19)	DMIFNFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO: 255	SEQ ID NO:11	SASSRVGYM H (SEQ ID NO:39)	DTSKLAS (SEQ ID NO:5)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
***A4B4- F52S	SEQ ID NO: 256	SEQ ID NO:48	TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWDKKKH PSLKD (SEQ ID NO:19)	DMIFNFYFDV (SEQ ID NO:20)	SEQ ID NO: 257	SEQ ID NO:76	SASSRVGYMH (SEQ ID NO:39)	DTSFLDS (SEQ ID NO:77)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)

太字で下線を引いたアミノ酸残基は、SYNAGIS (登録商標) のアミノ酸配列と異なる残基である; 生産された Fab 断片 (*); 生産されたモノクローナル抗体 (**); 生産された Fab 断片及びモノクローナル抗体 (***)

【表 3】

表 3 CDR配列

VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
TSGMSVG (SEQ ID NO:1)	DIWWD DD KK D YNPSLK S (SEQ ID NO:2)	S MTN W YFDV (SEQ ID NO:3)	KCOLSVGYMH (SEQ ID NO:4)	DTSKL AS (SEQ ID NO:5)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
TPGMSVG (SEQ ID NO:18)	DIWWD DD KK H YNPSLK D (SEQ ID NO:19)	D MTN F YFDV (SEQ ID NO:29)	KCOSSVGYMH (SEQ ID NO:80)	DTSYL AS (SEQ ID NO:81)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:6)
TAGMSVG (SEQ ID NO:10)	DIWWD DD KK H YNPSLK S (SEQ ID NO:82)	D MTN W YFDV (SEQ ID NO:83)	KCOSRVGYMH (SEQ ID NO:84)	DTSYL SS (SEQ ID NO:85)	FQSGGYPFT (SEQ ID NO:61)
	DIWWD DD KK D YNPSLK D (SEQ ID NO:86)	D MTN W YFDV (SEQ ID NO:29)	KCOLRVGYMH (SEQ ID NO:87)	DTKKL SS (SEQ ID NO:88)	
	DIWWD DD KK H YNPSLK S (SEQ ID NO:91)	D MTN F YFDV (SEQ ID NO:20)	KL OL SVGYMH (SEQ ID NO:89)	DTFYL SS (SEQ ID NO:90)	
	DIWWD DD KK D YNPSLK D (SEQ ID NO:93)	S MTN F YFDV (SEQ ID NO:12)	KLOSSVGYMH (SEQ ID NO:92)	DTFKL AS (SEQ ID NO:15)	
	DIWWD G KK H YNPSLK D (SEQ ID NO:25)	S MTN W YFDV (SEQ ID NO:94)	KLOS R VGYMH (SEQ ID NO:95)	DTFKL SS (SEQ ID NO:96)	
	DIWWD G KK D YNPSLK S (SEQ ID NO:100)	S MTN F YFDV (SEQ ID NO:97)	KL OL RVGYMH (SEQ ID NO:98)	DTFYL AS (SEQ ID NO:99)	
	DIWWD G KK D YNPSLK D (SEQ ID NO:103)		KL SL SVGYMH (SEQ ID NO:101)	DTSKL PS (SEQ ID NO:102)	
	DIWWD G KK H YNPSLK S (SEQ ID NO:106)		KL SS SVGYMH (SEQ ID NO:104)	DTSGL AS (SEQ ID NO:105)	
	DIWWD DD KK S YNPSLK S (SEQ ID NO:109)		KL SS RVGYMH **(SEQ ID NO:107)	DTSGL PS (SEQ ID NO:108)	

10

20

30

40

	DIWWDJ KKSYNPSLKD (SEQ ID NO:111)		<u>KL</u> <u>SLR</u> VGYMH (SEQ ID NO:110)	D TRGLPS (SEQ ID NO:27)	
	DIWWDG KKSYNPSLKS (SEQ ID NO:114)		<u>KCSL</u> <u>SVGYMH</u> (SEQ ID NO:112)	D TRKLAS (SEQ ID NO:113)	
	DIWWDG KKSYNPSLKD (SEQ ID NO:41)		<u>KCSS</u> <u>SVGYMH</u> (SEQ ID NO:115)	D TRGLAS (SEQ ID NO:116)	
			<u>KCSSR</u> VGYMH (SEQ ID NO:117)	D TRKLPS (SEQ ID NO:118)	
			<u>KCSLR</u> VGYMH (SEQ ID NO:119)	D TMRLAS (SEQ ID NO:32)	
			<u>SLSL</u> <u>SVGYMH</u> (SEQ ID NO:120)	D TMKLAS (SEQ ID NO:121)	
			<u>SLSS</u> <u>SVGYMH</u> (SEQ ID NO:122)	D TSRLAS (SEQ ID NO:123)	
			<u>SLSSR</u> VGYMH (SEQ ID NO:22)	D TSLLAS (SEQ ID NO:124)	
			<u>SLSLR</u> VGYMH (SEQ ID NO:125)	D TSLLDS (SEQ ID NO:126)	
			<u>SCQL</u> <u>SVGYMH</u> (SEQ ID NO:127)	D TSKLDS (SEQ ID NO:128)	
			<u>SCOSS</u> VGYMH (SEQ ID NO:129)	D TLLLDS (SEQ ID NO:75)	
			<u>SCOSR</u> VGYMH (SEQ ID NO:130)	D TLKLDS (SEQ ID NO:131)	

10

20

30

40

				<u>SCOLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:132)	<u>DTLLAS</u> (SEQ ID NO:133)	
				<u>SLQLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:134)	<u>DTLKLAS</u> (SEQ ID NO:135)	
				<u>SLQSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:136)	<u>DTSKLSS</u> (SEQ ID NO:137)	
				<u>SLQSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:138)	<u>DTSKOAS</u> (SEQ ID NO:139)	
				<u>SLQLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:140)	<u>DTSKOSS</u> (SEQ ID NO:141)	
				<u>SCSLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:142)	<u>DTSYLAS</u> (SEQ ID NO:143)	
				<u>SCSSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:144)	<u>DTSYLSS</u> (SEQ ID NO:145)	
				<u>SCSSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:146)	<u>DTSYQAS</u> (SEQ ID NO:147)	
				<u>SCSLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:148)	<u>DTSYQSS</u> (SEQ ID NO:149)	
				<u>KPSSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:150)	<u>DTMYQAS</u> (SEQ ID NO:151)	
				<u>KPSLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:152)	<u>DTMYOSS</u> (SEQ ID NO:153)	
				<u>KPSSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:154)	<u>DTMKQAS</u> (SEQ ID NO:155)	

10

20

30

40

				<u>KPSLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:155)	<u>DTMKOSS</u> (SEQ ID NO:156)	
				<u>KPOSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:157)	<u>DTMYLAS</u> (SEQ ID NO:158)	
				<u>KPOLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:159)	<u>DTMYLSS</u> (SEQ ID NO:160)	
				<u>KPOSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:161)	<u>DTMKLAS</u> (SEQ ID NO:162)	
				<u>KPOLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:163)	<u>DTMKLSS</u> (SEQ ID NO:164)	
				<u>SPSSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:165)	<u>DTSKLSS</u> (SEQ ID NO:165)	
				<u>SPSLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:166)	<u>DTRYOAS</u> (SEQ ID NO:167)	
				<u>SPSSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:168)	<u>DTRYOSS</u> (SEQ ID NO:169)	
				<u>SPSLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:169)	<u>DTRKOAS</u> (SEQ ID NO:170)	
				<u>SPOSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:171)	<u>DTRKOSS</u> (SEQ ID NO:172)	
				<u>SPOLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:173)	<u>DTRKLAS</u> (SEQ ID NO:174)	
				<u>SPOSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:175)	<u>DTRKLSS</u> (SEQ ID NO:176)	

10

20

30

40

				<u>SPOLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:177)	<u>DTRYLAS</u> (SEQ ID NO:178)	
				<u>KAOSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:179)	<u>DTRYLSS</u> (SEQ ID NO:59)	
				<u>KAOLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:180)	<u>DTFFLDS</u> (SEQ ID NO:50)	
				<u>KAOSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:181)	<u>DTSEFLDS</u> (SEQ ID NO:77)	
				<u>KAOLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:182)		
				<u>KASSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:183)		
				<u>KASLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:184)		
				<u>KASSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:185)		
				<u>KASLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:186)		
				<u>SASSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:39)		
				<u>SASLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:187)		
				<u>SASSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:14)		

10

20

30

40

				<u>SASLS</u> VG YMH (SEQ ID NO:188)			
				<u>SAQSR</u> VG YMH (SEQ ID NO:189)			
				<u>SAQLR</u> VG YMH (SEQ ID NO:190)			
				<u>SAQSS</u> VG YMH (SEQ ID NO:191)			
				<u>LPSSR</u> VG YMH (SEQ ID NO:47)			
				<u>LPSLS</u> VG YMH (SEQ ID NO:192)			
				<u>LPSSS</u> VG YMH (SEQ ID NO:193)			
				<u>LPSLR</u> VG YMH (SEQ ID NO:194)			
				<u>LCSSR</u> VG YMH (SEQ ID NO:195)			
				<u>LCSLS</u> VG YMH (SEQ ID NO:196)			
				<u>LCSSS</u> VG YMH (SEQ ID NO:197)			
				<u>LCSLR</u> VG YMH (SEQ ID NO:198)			

10

20

30

40

			<u>LPQSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:199)		
			<u>LPOLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:200)		
			<u>LPSSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:201)		
			<u>LPOLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:202)		
			<u>LCQSRVGYMH</u> (SEQ ID NO:203)		
			<u>LCOLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:204)		
			<u>LCOSSVGYMH</u> (SEQ ID NO:205)		
			<u>LCOLRVGYMH</u> (SEQ ID NO:206)		
			<u>SAQLSVGYMH</u> (SEQ ID NO:207)		

40

50

は配列番号18のアミノ酸配列を有するVH CDR1を含んでなる。他の実施形態においては、抗体またはその断片は、配列番号2、配列番号19、配列番号25、配列番号37、配列番号41または配列番号45のアミノ酸配列を有するVH CDR2を含んでなる。他の実施形態においては、抗体またはその断片は、配列番号3、配列番号12、配列番号20、配列番号29または配列番号79のアミノ酸配列を有するVH CDR3を含んでなる。好ましい実施形態においては、抗体またはその断片は、配列番号1、配列番号10または配列番号18のアミノ酸配列を有するVH CDR1、配列番号2、配列番号19、配列番号25、配列番号37、配列番号41または配列番号45のアミノ酸配列を有するVH CDR2、及び配列番号3、配列番号12、配列番号20、配列番号29、または配列番号79のアミノ酸配列を有するVH CDR3を含んでなる。

【0126】

本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、表2に掲げたいずれか1つのVLドメインのアミノ酸配列を有する可変軽(「VL」)ドメインを含んでなる前記抗体または抗体断片も提供する。本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、表2及び/または表3に掲げたいずれか1つのVL CDRのアミノ酸配列を有するVL CDRを含んでなる前記抗体または抗体断片も提供する。

【0127】

本発明の一実施形態においては、抗体またはその断片は、配列番号4、配列番号14、配列番号22、配列番号31、配列番号39、または配列番号47のアミノ酸配列を有するVL CDR1を含んでなる。他の実施形態においては、抗体またはその断片は、配列番号5、配列番号15、配列番号23、配列番号27、配列番号32、配列番号35、配列番号43、配列番号50、配列番号53、配列番号57、配列番号59、配列番号63、配列番号66、配列番号69、配列番号73、配列番号75または配列番号77のアミノ酸配列を有するVL CDR2を含んでなる。他の実施形態においては、抗体またはその断片は、配列番号6、配列番号16または配列番号61のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含んでなる。好ましい実施形態においては、抗体またはその断片は、配列番号4、配列番号14、配列番号22、配列番号31、配列番号39、または配列番号47のアミノ酸配列を有するVL CDR1、配列番号5、配列番号15、配列番号23、配列番号27、配列番号32、配列番号35、配列番号43、配列番号50、配列番号53、配列番号57、配列番号59、配列番号63、配列番号66、配列番号69、配列番号73、配列番号75または配列番号77のアミノ酸配列を有するVL CDR2、及び配列番号6、配列番号16または配列番号61のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含んでなる。

【0128】

本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、本明細書に開示したVHドメインを本明細書に開示したVLドメインまたは他のVLドメインと一緒に含んでなる前記抗体または抗体断片も提供する。本発明はさらに、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、本明細書に開示したVLドメインを本明細書に開示したVHドメインまたは他のVHドメインと一緒に含んでなる前記抗体または抗体断片も提供する。好ましい実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、配列番号7、配列番号9、配列番号17、配列番号24、配列番号28、配列番号33、配列番号36、配列番号40、配列番号44、配列番号48、配列番号51、配列番号55、配列番号67または配列番号78のアミノ酸配列を有するVHドメイン、配列番号8、配列番号13、配列番号21、配列番号26、配列番号30、配列番号34、配列番号38、配列番号42、配列番号46、配列番号49、配列番号52、配列番号54、配列番号56、配列番号58、配列番号60、配列番号62、配列番号64、配列番号65、配列番号68、配列番号70、配列番号71、配列番号74または配列番号76のアミノ酸配列を有するVLドメインを含んでなる。

【0129】

本発明はまた、表2及び/または表3に掲げた1以上のVH CDR及び1以上のVL CDRを含んでなる抗体またはその断片も提供する。特に、本発明は、表2に掲げたVH CDR1及びVL CDR1、VH CDR1及びVL CDR2、VH CDR1及びVL CDR3、VH CDR2及びVL CDR1、VH CDR2及びVL CDR2、VH CDR2及びVL CDR3、VH CDR3及びVH CDR1、VH CDR3及びVL CDR2、VH CDR3及びVL

10

20

30

40

50

CDR3、またはVH CDR及びVL CDRのいずれかの組み合わせを含んでなる抗体またはその断片を提供する。本発明はまた、表3に掲げたVH CDR1及びVL CDR1、VH CDR1及びVL CDR2、VH CDR1及びVL CDR3、VH CDR2及びVL CDR1、VH CDR2及びVL CDR2、VH CDR2及びVL CDR3、VH CDR3及びVH CDR1、VH CDR3及びVL CDR2、VH CDR3及びVL CDR3、またはVH CDR及びVL CDRのいずれかの組み合わせを含んでなる抗体またはその断片も提供する。本発明はまた、表2及び表3に掲げたVH CDR1及びVL CDR1、VH CDR1及びVL CDR2、VH CDR1及びVL CDR3、VH CDR2及びVL CDR1、VH CDR2及びVL CDR2、VH CDR2及びVL CDR3、VH CDR3及びVH CDR1、VH CDR3及びVL CDR2、VH CDR3及びVL CDR3、またはVH CDR及びVL CDRのいずれかの組み合わせを含んでなる抗体またはその断片も提供する。

【0130】

一実施形態においては、抗体またはその断片は配列番号1、配列番号10または配列番号18のアミノ酸配列を有するVH CDR1、及び配列番号4、配列番号14、配列番号22、配列番号31、配列番号39、または配列番号47のアミノ酸配列を有するVL CDR1を含んでなる。他の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片は配列番号1、配列番号10または配列番号18のアミノ酸配列を有するVH CDR1、及び配列番号5、配列番号15、配列番号23、配列番号27、配列番号32、配列番号35、配列番号43、配列番号50、配列番号53、配列番号57、配列番号59、配列番号63、配列番号66、配列番号69、配列番号73、配列番号75または配列番号77のアミノ酸配列を有するVL CDR2を含んでなる。他の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片は配列番号1、配列番号10または配列番号18のアミノ酸配列を有するVH CDR1、及び配列番号6、配列番号16または配列番号61アミノ酸配列を有するVL CDR3

【0131】

他の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片は配列番号2、配列番号19、配列番号25、配列番号37、配列番号41または配列番号45のアミノ酸配列を有するVH CDR2、及び配列番号4、配列番号14、配列番号22、配列番号31、配列番号39、または配列番号47のアミノ酸配列を有するVL CDR1を含んでなる。他の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片は配列番号2、配列番号19、配列番号25、配列番号37、配列番号41または配列番号45のアミノ酸配列を有するVH CDR2、及び配列番号5、配列番号15、配列番号23、配列番号27、配列番号32、配列番号35、配列番号43、配列番号50、配列番号53、配列番号57、配列番号59、配列番号63、配列番号66、配列番号69、配列番号73、配列番号75または配列番号77のアミノ酸配列を有するVL CDR2を含んでなる。他の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片は配列番号2、配列番号19、配列番号25、配列番号37、配列番号41または配列番号45のアミノ酸配列を有するVH CDR2、及び配列番号6、配列番号16または配列番号61のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含んでなる。

【0132】

他の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片は配列番号3、配列番号12、配列番号20、配列番号29または配列番号79のアミノ酸配列を有するVH CDR3、及び配列番号4、配列番号14、配列番号22、配列番号31、配列番号39、または配列番号47のアミノ酸配列を有するVL CDR1を含んでなる。他の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片は配列番号3、配列番号12、配列番号20、配列番号29または配列番号79のアミノ酸配列を有するVH CDR3、及び配列番号5、配列番号15、配列番号23、配列番号27、配列番号32、配列番号35、配列番号43、配列番号50、配列番号53、配列番号57、配列番号59、配列番号63、配列番号66、配列番号69、配列番号73、配列番号75または配列番号77のアミノ酸配列を有するVL CDR2を含んでなる。好ましい実施形態においては、本発明の抗体またはその断片は配列番号3、配列番号12、配列番号20、配列番号29または配列番号79のアミノ酸配列を有するVH CDR3、及び配列番号6、配列番号16または配列番号61のアミノ酸配列を有するVL CDR3を含んでなる。

【0133】

本発明はまた、一般的に単離された、本発明の抗体またはその断片をコードする核酸分子も提供する。ある特定の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は、SYNAGI

10

20

30

40

50

S (登録商標)、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sをコードする。好ましくは、本発明の単離された核酸分子はAFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sをコードする。他の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は、SYNAGIS (登録商標)、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sの抗原結合断片をコードする。

10

【0134】

他の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は表2に掲げたいずれかのVHドメインの1つのアミノ酸配列を有するVHドメインを含んでなる抗体またはその断片をコードする。他の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は表2または表3に掲げたいずれかのVH CDR1の1つのアミノ酸配列を有するVH CDR1を含んでなる抗体またはその断片をコードする。他の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は表2または表3に掲げたいずれかのVH CDR2の1つのアミノ酸配列を有するVH CDR2を含んでなる抗体またはその断片をコードする。さらに他の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は表2または表3に掲げたいずれかのVH CDR3の1つのアミノ酸配列を有するVH CDR3を含んでなる抗体またはその断片をコードする。

20

【0135】

他の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は表2に掲げたいずれかのVLドメインの1つのアミノ酸配列を有するVLドメインを含んでなる抗体またはその断片をコードする。他の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は表2または表3に掲げたいずれかのVL CDR1の1つのアミノ酸配列を有するVL CDR1を含んでなる抗体またはその断片をコードする。他の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は表2または表3に掲げたいずれかのVL CDR2の1つのアミノ酸配列を有するVL CDR2を含んでなる抗体またはその断片をコードする。さらに他の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は表2または表3に掲げたいずれかのVL CDR3の1つのアミノ酸配列を有するVL CDR3を含んでなる抗体またはその断片をコードする。

30

【0136】

他の実施形態においては、本発明の単離された核酸分子は表2に掲げたVHドメインのいずれか1つのアミノ酸配列を有するVHドメイン及び表2に掲げたVLドメインのいずれか1つのアミノ酸配列を有するVLドメインを含んでなる抗体またはその断片をコードする。他の実施形態においては、本発明の核酸分子は表2に掲げたアミノ酸配列を有するVH CDR1、VL CDR1、VH CDR2、VL CDR2、VH CDR3、VL CDR3またはそれらのいずれかの組み合わせを含んでなる抗体またはその断片をコードする。他の実施形態においては、本発明の核酸分子は表3に掲げたアミノ酸配列を有するVH CDR1、VL CDR1、VH CDR2、VL CDR2、VH CDR3、VL CDR3またはそれらのいずれかの組み合わせを含んでなる抗体またはその断片をコードする。他の実施形態においては、本発明の核酸分子は表2及び表3に掲げたアミノ酸配列を有するVH CDR1、VL CDR1、VH CDR2、VL CDR2、VH CDR3、VL CDR3またはそれらのいずれかの組み合わせを含んでなる抗体またはその断片をコードする。

40

【0137】

本発明はまた、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、本明細書に記載のVHドメイン、VH CDR、VLドメイン、及びVL CDRの誘導体を含んでなる前記抗体またはその断片も提供する。本発明はまた、SYNAGIS (登録商標)、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sの誘導体を含んでなる抗体またはその断片であって1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合することを特徴とする前記抗体またはその断片も提供する。当業者が周知する標

50

準技術を用いて本発明の分子をコードするヌクレオチド配列に突然変異を導入してもよく、例えば、位置指定突然変異及びアミノ酸置換をもたらすPCRを介する突然変異が挙げられる。好ましくは、誘導体は元来の分子と比較して、25未満のアミノ酸置換、20未満のアミノ酸置換、15未満のアミノ酸置換、10未満のアミノ酸置換、5未満のアミノ酸置換、4未満のアミノ酸置換、3未満のアミノ酸置換、または2未満のアミノ酸置換を有するものが挙げられる。好ましい実施形態においては、誘導体は、1以上の予想される非必須アミノ酸残基になされた保存性アミノ酸置換を有する。「保存性アミノ酸置換」は、アミノ酸残基を類似の電荷をもつ側鎖を有するアミノ酸残基で置換える置換である。類似の電荷をもつ側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野において規定されている。これらのファミリーは、塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、無荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖（例えばアラニン、バリン、ロシニン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、分枝側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）をもつアミノ酸が挙げられる。あるいは、飽和突然変異誘発などによって、突然変異をコード配列の全てまたは一部分に沿って無作為に導入し、得られる突然変異体を生物活性についてスクリーニングして活性を保持する突然変異体を確認してもよい。突然変異の後、コードしたタンパク質を発現してタンパク質の活性を決定することができる。

【0138】

ある特定の実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、SYNAGIS（登録商標）、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sをコードするヌクレオチド配列とストリンジェントな条件（例えば6 x 塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム（SSC）中で約45 にてフィルターに結合したDNAとのハイブリダイゼーション及び次いで約50-65 にて1回以上の0.2 x SSC/0.1% SDS中の洗浄）のもとで、高度にストリンジェントな条件（例えば6 x SSC中で約45 にてフィルターに結合したDNAとのハイブリダイゼーション及び次いで約68 にて1回以上の0.1 x SSC/0.2% SDS中の洗浄）のもとで、または当業者が周知している他のストリンジェントな条件（例えば、Ausubel, F. M.ら, 編, 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, Green Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., New York, 6.3.1-6.3.6及び2.10.3頁を参照）のもとでハイブリダイズするヌクレオチド配列を含んでなる。

【0139】

他の実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、SYNAGIS（登録商標）、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sのアミノ酸配列に対して少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%、同一であるアミノ酸配列を含んでなる。

【0140】

ある特定の実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、表2に掲げたVHまたはVLドメインのいずれか1つをコードするヌクレオチド配列と、ストリンジェントな条件（例えば6 x 塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム（SSC）中で約45 にてフィルターに結合したDNAとのハイブリダイゼーション及び次いで約50-65 にて1回以上の0.2 x SSC/0.1% SDS中の洗浄）のもとで、高度にストリンジェントな条件（例えば6 x SSC中で約45 にてフィルターに結合したDNAとのハイブリダイゼーション及び次いで約68 にて1回以上の0.1 x SSC/0.2% SDS中の洗浄）のもとで、または当業者が周知する他のストリンジェントな条件（例えば、Ausubel, F. M.ら, 編, 1989, Current Pr

otocols in Molecular Biology, Vol. 1, Green Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., New York、6.3.1-6.3.6及び2.10.3頁を参照)のもとでハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされるVHドメインのアミノ酸配列またはVLドメインのアミノ酸配列を含んでなる。他の実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、表2または表3に掲げたVH CDRまたはVL CDRのいずれか1つをコードするヌクレオチド配列と、ストリンジントな条件(例えば6 x 塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)中で約45 にてフィルターに結合したDNAとのハイブリダイゼーション及び次いで約50-65 にて1回以上の0.2 x SSC/0.1% SDS中の洗浄)のもとで、高度にストリンジントな条件(例えば6 x SSC中で約45 にてフィルターに結合したDNAとのハイブリダイゼーション及び次いで約68 にて1回以上の0.1 x SSC/0.2% SDS中の洗浄)のもとで、または当業者が周知する他のストリンジントな条件のもとでハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされるVH CDRのアミノ酸配列またはVL CDRのアミノ酸配列を含んでなる。さらに他の実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、表2または表3に掲げた、それぞれ、VH CDR及びVL CDRのいずれか1つをコードするヌクレオチド配列と、ストリンジントな条件(例えば6 x 塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)中で約45 にてフィルターに結合したDNAとのハイブリダイゼーション及び次いで約50-65 にて1回以上の0.2 x SSC/0.1% SDS中の洗浄)のもとで、高度にストリンジントな条件(例えば6 x SSC中で約45 にてフィルターに結合したDNAとのハイブリダイゼーション及び次いで約68 にて1回以上の0.1 x SSC/0.2% SDS中の洗浄)のもとで、または当業者が周知する他のストリンジントな条件のもとでハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされたVH CDRのアミノ酸配列及びVL CDRのアミノ酸配列を含んでなる。

【0141】

他の実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、表2に掲げたVHドメインのいずれか1つと少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるVHドメインのアミノ酸配列を含んでなる。他の実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、表2または表3に掲げたVH CDRのいずれか1つと少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるVH CDRのアミノ酸配列を含んでなる。

【0142】

他の実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、表2に掲げたVLドメインのいずれか1つと少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるVLドメインのアミノ酸配列を含んでなる。他の実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、表2または表3に掲げたVL CDRのいずれか1つと少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるVL CDRのアミノ酸配列を含んでなる。

【0143】

他の実施形態においては、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、SYN AGIS(登録商標)、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sのアミノ酸配列と少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少

なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含んでなる。

【0144】

本発明はまた、RSV抗原との結合について、表2に掲げた抗体またはFab断片と競争する抗体またはその断片も包含する。特に、本発明は、RSV F糖タンパク質との結合について、SYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片と競争する抗体またはその断片を包含する。本発明はまた、RSV抗原との結合について、表2に掲げたVLドメイン、VHドメイン、VL CDRまたはVH CDRと競争するVLドメイン、VHドメイン、VL CDR、及びVH CDRも包含する。さらに、本発明は、表3に掲げたVL CDRまたはVH CDRと競争するVL CDR、及びVH CDRも包含する。

10

【0145】

本発明の抗体は改変された、すなわち、共有結合などのいずれかのタイプの分子の抗体との共有結合により改変された誘導体を含む。例えば、限定されるものでないが、抗体誘導体は、例えば、グリコシル化、アセチル化、PEG化（pegylation）、リン酸エステル化、アミド化、既知の保護/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質との連結などにより改変された抗体が挙げられる。多数の化学的修飾のいずれかを既知技術により実施してもよく、限定されるものでないが、特定の化学的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成などが挙げられる。さらに、誘導体は1以上の非古典的アミノ酸を含有してもよい。

20

【0146】

本発明はまた、当業者が周知するフレームワーク領域を含んでなる本発明の抗体またはその断片も提供する。好ましくは、本発明の抗体またはその断片の抗体のフレームワーク領域はヒトである。特定の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片はSYNAGIS（登録商標）のフレームワーク領域を含んでなる。

【0147】

本発明はまた、当業者が周知する定常部を含んでなる本発明の抗体またはその断片も提供する。好ましくは、本発明の抗体またはその断片の抗体の定常部はヒトである。特定の実施形態においては、本発明の抗体またはその断片はSYNAGIS（登録商標）の定常部を含んでなる。

30

【0148】

本発明はまた、哺乳類、好ましくはヒトにおいて、15日より長い、好ましくは20日より長い、25日より長い、30日より長い、35日より長い、40日より長い、45日より長い、2ヶ月より長い、3ヶ月より長い、4ヶ月より長い、または5ヶ月より長い半減期を有する抗体またはその断片も提供する。哺乳類、好ましくはヒトにおける本発明の抗体またはその断片の増加した半減期により、哺乳類における前記抗体または抗体断片の血清力価はより高くなり、従って、前記抗体または抗体断片の投与頻度を減少し、及び/または投与すべき前記抗体または抗体断片の濃度を低下する。増加したin vivo半減期を有する抗体またはその断片は、当業者が周知する技術により作製することができる。例えば、増加したin vivo半減期をもつ抗体またはその断片は、FcドメインとFcRn受容体との間の相互作用に関わることが確認されたアミノ酸残基を改変（例えば、置換、欠失または付加）することにより作製することができる（例えば、本明細書に参照によりその全文が組み入れられるPCT公開特許WO 97/34631を参照）。かかる抗体またはその断片のRSV抗原に対する結合活性ならびにin vivo効能は、当業者が周知する方法を利用して、例えば本明細書に記載のイムノアッセイにより試験することができる。

40

【0149】

さらに、増加したin vivo半減期をもつ抗体またはその断片は、前記抗体または抗体断片に、高分子量ポリエチレングリコール（PEG）などのポリマー分子を結合することにより作製することができる。PEGは、多官能リンカーを持つまたは持たない前記抗体または抗体断片に、前記抗体または抗体断片のNもしくはC末端に対するPEGの部位特異的結合

50

(conjugation)を通してまたはリシン残基に存在する - アミノ基を経由して結合することができる。生物活性の損失が最小限となるリンカーまたは分枝ポリマー誘導体化を利用しうる。結合の程度はSDS-PAGE及び質量分析計により綿密に監視して抗体に対するPEG分子の適当な結合を保証しうる。未反応PEGは、例えばサイズ排除またはイオン交換クロマトグラフィにより抗体-PEG結合体 (conjugate) から分離することができる。PEG誘導体化した抗体またはその断片のRSV抗原に対する結合活性ならびに *in vivo* 効力は、当業者が周知する方法、例えば本明細書に記載のイムノアッセイにより試験することができる。

【 0 1 5 0 】

本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、フレームワーク領域に突然変異 (例えば、1以上のアミノ酸置換) をもつSYNAGIS (登録商標) のアミノ酸配列を含んでなる前記抗体または抗体断片も包含する。ある一定の実施形態においては、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は、図1に記載のVH及び/またはVLドメインのフレームワーク領域に1以上のアミノ酸残基置換をもつSYNAGIS (登録商標) のアミノ酸配列を含んでなる。ある特定の実施形態においては、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片は図2に記載のフレームワーク領域を含んでなる。

10

【 0 1 5 1 】

本発明はまた、1以上のRSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片であって、可変部及びフレームワーク領域に突然変異 (例えば、1以上のアミノ酸置換) をもつSYNAGIS (登録商標) のアミノ酸配列を含んでなる前記抗体または抗体断片も包含する。

20

【 0 1 5 2 】

本発明はまた、RSV抗原及び異種ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体またはその断片を含んでなる融合タンパク質も提供する。好ましくは、抗体または抗体断片が融合する相手の異種ポリペプチドは呼吸上皮細胞をターゲティングするために有用である。

【 0 1 5 3 】

本発明はまた、RSV抗原と免疫特異的に結合する抗体またはその断片のパネルも提供する。特定の実施形態においては、本発明は、RSV抗原に対する様々なアフィニティ、RSV抗原に対する様々な特異性、または様々な解離速度を有する抗体またはその断片のパネルを提供する。本発明は、少なくとも10、好ましくは少なくとも25、少なくとも50、少なくとも75、少なくとも100、少なくとも125、少なくとも150、少なくとも175、少なくとも200、少なくとも250、少なくとも300、少なくとも350、少なくとも400、少なくとも450、少なくとも500、少なくとも550、少なくとも600、少なくとも650、少なくとも700、少なくとも750、少なくとも800、少なくとも850、少なくとも900、少なくとも950または少なくとも1000の抗体またはその断片からなるパネルを提供する。抗体のパネルは、例えば、ELISAなどのアッセイ用の96ウェルプレートに使用することができる。

30

【 0 1 5 4 】

本発明はさらに1以上の本発明の抗体またはその断片を含んでなる組成物を提供する。ある特定の実施形態においては、本発明の組成物は、SYNAGIS (登録商標)、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sを含んでなる。他の特定の実施形態においては、本発明の組成物は、SYNAGIS (登録商標)、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8c7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sの抗原結合断片を含んでなる。

40

【 0 1 5 5 】

他の実施形態においては、本発明の組成物は、表2に掲げたVHドメインのいずれか1つのアミノ酸配列を有する1以上のVHドメインを含有する1以上の抗体またはその断片を含んでなる。他の実施形態においては、本発明の組成物は、表2または表3に掲げたVH CDR1のいずれか1つのアミノ酸配列を有する1以上のVH CDR1を含有する1以上の抗体またはその断片を含んでなる。他の実施形態においては、本発明の組成物は、表2または表3に

50

【0160】

以下にさらに詳細に考察するように、本発明の組成物は、単独でまたは他の組成物と一緒に使用することができる。抗体またはその断片をさらに組換えによって、NもしくはC末端で異種ポリペプチドと融合してもまたは化学的に結合 (conjugate) してもよい (共有結合のまたは非共有結合の結合を含む)。例えば、本発明の抗体を、異種ポリペプチド、薬物、放射核種または毒素などの検出アッセイの標識ならびにエフェクター分子として有用な分子と組換えによって融合するかまたは結合してもよい。例えば、PCT公開特許WO 92/08495 ; WO 91/14438 ; WO 89/12624 ; 米国特許第5,314,995号 ; 及びEP 396,387を参照すること。

【0161】

本発明の抗体またはその断片を利用して、例えば、in vitro及びin vivo両方の診断及び治療法において、RSV抗原を精製、検出、及びターゲティングすることができる。例えば、抗体またはその断片は、痰などの生物サンプル中のRSVレベルを定性的及び定量的に測定するイムノアッセイに用途がある。例えば、Harlowら、Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988) (参照により本明細書にその全文が組み入れられる) を参照。

【0162】

5.1.1. 抗体コンジュゲート

本発明は、融合タンパク質を作成するための、異種ポリペプチド (またはその部分、好ましくは少なくとも10、少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50、少なくとも60、少なくとも70、少なくとも80、少なくとも90、または少なくとも100アミノ酸のポリペプチド) に、組換え法で融合したかもしくは化学的にコンジュゲートした (共有結合および非共有結合を含む) 抗体もしくはその断片を包含する。融合は必ずしも直接的ではなく、リンカー配列を介してもよい。例えば、抗体を、特定の細胞表面受容体に特異的な抗体に、融合またはコンジュゲートさせることにより、in vitroもしくはin vivoで、特定の種類の細胞 (例えば、気道上皮細胞) に異種ポリペプチドを標的化するのにその抗体を使用することができる。異種ポリペプチドに融合またはコンジュゲートした抗体はまた、当該分野で公知の方法を使用してin vitroイムノアッセイおよび精製法に使用される。例えば、PCT公報WO93/21232 ; EP439,095 ; Naramuraら、Immunol. Lett. 39:91-99 (1994) ; 米国特許5,474,981号 ; Gilliesら、PNAS 89:1428-1432 (1992) ; およびFellら、J. Immunol. 146:2446-2452 (1991)を参照されたい (これらは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

【0163】

ある実施形態において、本発明の融合タンパク質は、SYNAGIS (登録商標)、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sと、異種ポリペプチドとを含む。別の実施形態において本発明の融合タンパク質は、SYNAGIS (登録商標)、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sの抗原結合断片と、異種ポリペプチドとを含む。別の実施形態において、本発明の融合タンパク質は、表2に記載のVHドメインの任意の1つのアミノ酸配列を有する1つ以上のVHドメイン、または表2に記載のVLドメインの任意の1つのアミノ酸配列を有する1つ以上のVLドメインと、異種ポリペプチドとを含む。別の実施形態において本発明の融合タンパク質は、表2または表3に記載のVH CDRの任意の1つのアミノ酸配列を有する1つ以上のVH CDRと、異種ポリペプチドとを含む。別の実施形態において融合タンパク質は、表2または表3に記載のVL CDRの任意の1つのアミノ酸配列を有する1つ以上のVL CDRと、異種ポリペプチドとを含む。別の実施形態において本発明の融合タンパク質は、表2に記載の少なくとも1つのVHドメインと少なくとも1つのVLドメインと、異種ポリペプチドとを含む。さらに別の実施形態において本発明の融合タンパク質は、表2または表3に記載の少なくとも1つのVH

CDRと少なくとも1つのVL CDRドメインと、異種ポリペプチドとを含む。

【0164】

本発明はさらに、抗体断片に融合またはコンジュゲートした異種ポリペプチドを含む組成物を含む。例えば異種ポリペプチドは、Fab断片、Fd断片、Fv断片、F(ab)₂断片、もしくはこれらの一部に、融合もしくはコンジュゲートしてよい。ポリペプチドを抗体の部分に融合またはコンジュゲートさせる方法は、当該分野で公知である。例えば、米国特許5,336,603、5,622,929、5,359,046、5,349,053、5,447,851、および5,112,946；EP307,434；EP367,166；PCT公報WO96/04388およびWO91/06570；Ashkenaziら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539 (1991)；Zhengら、J. Immunol. 154:5590-5600 (1995)；およびVilら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-11341 (1992)を参照されたい（これらの文献は、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。 10

【0165】

本発明のさらなる融合タンパク質は、遺伝子シャフリング、モチーフシャフリング、エキソンシャフリング、および/またはコドンシャフリング（まとめて「DNAシャフリング」と呼ぶ）の技術により作成される。本発明の抗体またはその断片（例えば、より大きいアフィニティとより小さい解離速度を有する抗体またはその断片）の活性を改変するのに、DNAシャフリングを使用してもよい。一般的には、US Patent No. 5,605,793；5,811,238；5,830,721；5,834,252；および5,837,458、およびPattenら、Curr. Opin. Biotechnol. 8:724-33 (1997)；Harayama、Trends Biotechnol. 16(2):76-82 (1998)；Hanssonら、J. Mol. Biol. 287:265-76 (1999)；およびLorenzoとBlasco、Biotechniques 24(2):308-13 (1998)（これらの特許と刊行物は、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。ある実施形態において、抗体もしくはその断片、またはコードされた抗体もしくはその断片は、エラーを起こしやすいPCR（error-prone PCR）、ランダムヌクレオチド挿入、または他の方法によるランダム突然変異誘発の後に組換えを行うことにより、改変してもよい。別の実施形態において、抗体もしくは抗体断片をコードするポリヌクレオチドの1つ以上の部分（この部分は、RSV抗原に免疫特異的に結合する）を、1つ以上の異種分子の1つ以上の構成要素、モチーフ、セクション、部分、ドメイン、断片などと組換えてもよい。 20

【0166】

さらに本発明の抗体またはその断片は、マーカー配列（例えば、精製を容易にするペプチド）に融合させてもよい。好適な実施形態において、マーカーアミノ酸配列は、例えばベクターの中でも特にpQEベクター（QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311）に示されているタグのようなヘキサヒスチジンペプチドであり、そのようなベクターの多くは市販されている。例えばGentzら、1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824に記載のように、ヘキサヒスチジンは、融合タンパク質の便利な精製法をもたらす。精製に有用な他のペプチドタグには、特に限定されないが、血球凝集素「HA」タグがあり、これは、インフルエンザウイルス血球凝集素タンパク質（Wilsonら、1984, Cell 37:767）および「flag」タグ由来のエピトープに対応する。 30

【0167】

本発明はさらに、診断薬または治療薬にコンジュゲートした抗体またはその断片を包含する。抗体は、例えば所定の治療計画の有効性を調べるための、臨床試験法の一部として、RSV感染の発症または進行を追跡するために、診断的に使用することができる。抗体またはその断片に検出可能な物質を結合することにより、検出を容易にすることができる。検出可能な検出可能な物質の例には、種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、生物発光物質、放射性物質、陽電子放射物質、および非放射性常磁性金属イオンがある。当該分野で公知の技術を使用して、検出可能な物質を、抗体（またはその断片）に直接、または介在物（例えば、当該分野で公知のリンカー）を介して間接的に、コンジュゲートしてもよい。本発明の診断薬として使用される抗体にコンジュゲート可能な金属イオンについては、米国特許4,741,900を参照されたい。適当な酵素の例には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステ 40 50

ラーゼがあり、適当な補欠分子族複合体の例には、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンがあり、適当な蛍光物質の例には、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンがあり、発光物質の例には、ルミノールがあり、生物発光物質の例には、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリンがあり、適当な放射性物質の例には、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In または ^{99}Tc がある。

【0168】

抗体またはその断片は、例えば細胞毒素（例えば、細胞増殖抑制剤または細胞破壊剤）、治療薬、または放射性金属イオン（例えば、アルファ放射体）のような治療成分にコンジュゲートしてもよい。細胞毒素または細胞傷害性物質には、細胞に有害な任意の薬剤を含む。例としては、パクリタキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ピンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルピシン、ダウノルピシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-ジヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびプロマイシン、およびこれらの類似体もしくは相同体がある。治療薬には、特に限定されないが、代謝拮抗剤（例えば、メソトレキセート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオエパクロランブシル、メルファラン、カルムスチン（BSNU）、ロムスチン（CCNU）、シクロトスファミド、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、およびシスジクロロジアミン白金(II)（DDP）シスプラチン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルピシン（以前は、ダウノマイシン）およびドキソルピシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（AMC））、および抗分裂剤（例えば、ピンクリスチンおよびビンブラスチン）がある。

【0169】

さらに、抗体またはその断片は、特定の生物学的応答を改変する治療薬または薬剤成分にコンジュゲートしてもよい。治療薬または薬剤成分は、古典的な化学治療薬に限定されるものではない。例えば、薬剤成分は、所望の生物活性を有するタンパク質またはポリペプチドでもよい。そのようなタンパク質には、例えば、毒素、例えば、アブリン、リシンA、シュードモナス外毒素、またはジフテリア毒素；タンパク質、例えば腫瘍壊死因子、 α -インターフェロン、 β -インターフェロン、神経増殖因子、血小板由来増殖因子、組織プラスミノゲンアクチベータ、アポトーシス因子（例えば、TNF- α 、TNF- β 、AIM I（国際公開番号W097/33899を参照）、AIM II（国際公開番号W097/34911を参照）、Fasリガンド（Takahashiら、J. Immunol. 6:1567-1574）、およびVEGI（国際公開番号W099/23105を参照）、血栓因子もしくは抗血管新生剤、例えばアンギオスタチンまたはエンドスタチン；または、生物学的応答調節物質、例えばリンホカイン（例えば、インターロイキン-1（「IL-1」）、インターロイキン-2（「IL-2」）、インターロイキン-6（「IL-6」）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「GM-CSF」）、および顆粒球コロニー刺激因子（「G-CSF」））、または増殖因子（例えば、成長ホルモン（「GH」））がある。

【0170】

そのような治療薬成分を抗体にコンジュゲートさせる方法は周知であり、例えばArnonら、「癌治療における薬剤の免疫ターゲティングのためのモノクローナル抗体（Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy）」、Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy、Reisfeldら（編）、243-56頁（Alan R. Liss, Inc. 1985）；Hellstromら、「薬剤送達のための抗体（Antibodies For Drug Delivery）」、Controlled Drug Delivery（第2版）、Robinsonら（編）、623-53頁（Marcel Dekker, Inc. 1987）；Thorpe、「癌治療における細胞傷害性物質の抗体担体：総説（Antibodies Carriers of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review）」、Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications、Pincheraら（編）、475-506頁（1985）；「

10

20

30

40

50

癌治療における放射標識抗体の治療用途の分析、結果および将来展望 (Analysis, Results, and Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy)」、Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwinら (編)、303-16頁 (Academic Press、1985)、およびThorpeら、1982, Immunol. Rev. 62:119-58を参照されたい。

【0171】

コンジュゲートした治療薬成分を有するかまたは有しない抗体もしくはその断片は、単独でまたは細胞傷害性因子および/またはサイトカインと組合せて、治療薬として使用することができる。

【0172】

あるいは抗体は、Segal (米国特許4,676,980) (これは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる) に記載のように、抗体を第2の抗体にコンジュゲートさせて、抗体ヘテロコンジュゲートを作成することができる。

【0173】

抗体はまた、固体支持体に結合してもよく、これは、標的抗原のイムノアッセイまたは精製に特に有用である。このような固体支持体には、特に限定されないが、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、塩化ポリビニル、またはポリプロピレンがある。

【0174】

5.2. 抗体の予防的および治療的使用

本発明は、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するための、哺乳動物 (好ましくはヒト) に本発明の抗体またはその断片を投与することを含む抗体ベースの治療法に関する。本発明の予防用化合物および治療用化合物には、特に限定されないが、本発明の抗体 (本明細書に記載のような、その断片、類似体および誘導体を含む)、および本発明の抗体をコードする核酸 (本明細書に記載のような、その断片、類似体および誘導体、および抗イディオタイプ抗体を含む) を含む。本発明の抗体またはその断片は、当該分野で公知のまたは本明細書に記載のような、薬剤学的に許容される組成物中で提供してもよい。

【0175】

RSV感染のアンタゴニストとして機能する本発明の抗体またはその断片は、RSV感染に関連する1つ以上の症状を治療、予防、または改善するために、哺乳動物 (好ましくはヒト) に投与することができる。例えば、RSV感染に関連する1つ以上の症状を治療、予防、または改善するために、哺乳動物 (好ましくはヒト) に、RSV抗原とその宿主細胞受容体との相互作用を破壊または妨害する抗体またはその断片を投与してもよい。

【0176】

具体例において抗体またはその断片は、RSVがその宿主細胞受容体に結合することを、抗体または抗体断片の非存在下でのその宿主細胞受容体へのRSVの結合と比較して、少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%、少なくとも45%、少なくとも40%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも25%、少なくとも20%、少なくとも10%、妨害する。別の実施形態において、抗体の組合せ、抗体断片の組合せ、または抗体と抗体断片の組合せは、RSVがその宿主細胞受容体に結合することを、抗体または抗体断片の非存在下でのその宿主細胞受容体へのRSVの結合と比較して、少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%、少なくとも45%、少なくとも40%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも25%、少なくとも20%、少なくとも10%、妨害する。

【0177】

RSV感染に関連する1つ以上の症状を治療、予防、または改善するために、哺乳動物に、抗体またはその断片であってRSVのその宿主細胞受容体への結合を妨害しないが、RSV複

10

20

30

40

50

製を阻害またはダウンレギュレートする抗体またはその断片を、投与してもよい。抗体またはその断片の、RSV複製を阻害またはダウンレギュレートする能力は、本明細書に記載の手法により、または当該分野で公知の他の手法により測定することができる。例えば、RSV複製の阻害またはダウンレギュレートは、哺乳動物（好ましくはヒト）の肺中のRSV力価を検出することにより測定することができる。

【0178】

具体例において本発明の抗体またはその断片は、RSV複製を、抗体または抗体断片の非存在下でのRSV複製と比較して、少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%、少なくとも45%、少なくとも40%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも25%、少なくとも20%、または少なくとも10%、阻害またはダウンレギュレートする。別の実施形態において、抗体の組合せ、抗体断片の組合せ、または抗体と抗体断片の組合せは、RSV複製を、抗体または抗体断片の非存在下でのRSV複製と比較して、少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%、少なくとも45%、少なくとも40%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも25%、少なくとも20%、または少なくとも10%、阻害またはダウンレギュレートする。

10

【0179】

1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する本発明の1つ以上の抗体またはその断片は、治療薬として体内で局所的にまたは全身性に使用される。本発明の抗体またはその断片はまた、例えば抗体と相互作用するエフェクター細胞の数または活性を上昇させるように機能する、他のモノクローナル抗体もしくはキメラ抗体と組合せて、またはリンホカインもしくは造血性増殖因子（例えば、IL-2、IL-3およびIL-7）と組合せて、有利に使用される。本発明の抗体またはその断片はまた、例えば免疫応答を上昇させるように機能する、他のモノクローナル抗体もしくはキメラ抗体と組合せて、またはリンホカインもしくは造血性増殖因子（例えば、IL-2、IL-3およびIL-7）と組合せて、有利に使用される。本発明の抗体またはその断片はまた、RSV感染を治療するのに使用される1つ以上の薬剤（例えば、抗ウイルス剤）と組合せて、有利に使用される。本発明の抗体または断片は、1つ以上の以下の薬剤と組合せて使用することができる：NIH-351（Gemini Technologies）、組換えRSVワクチン（Aviron）、RSVf-2（Intracel）、F-50042（Pierre Fabre）、T-786（T rimeris）、VP-36676（ViroPharma）、RFI-641（American Home Products）、VP-14637（ViroPharma）、PFP-1とPFP-2（American Home Products）、RSVワクチン（Avant Immunotherapeutics）、F-50077（Pierre Fabre）。

20

30

【0180】

本発明の抗体は、単独でまたは他の種類の治療（例えば、ホルモン療法、免疫療法、および抗炎症剤）と組合せて投与される。一般に、患者と同じ生物種起源または生物種の反応性（抗体の場合）の生成物を投与することが好ましい。すなわち好適な実施形態において、ヒト抗体またはヒト化抗体、その断片誘導體、類似体または核酸が、治療または予防のためにヒト患者に投与される。

40

【0181】

RSVについてのイムノアッセイ、RSV感染の予防、およびRSV感染の治療のために、RSV抗原に免疫特異的に結合する高アフィニティおよび/または強力なin vivo阻害抗体および/または中和抗体を、使用することが好ましい。また、RSVについてのイムノアッセイとRSV感染の治療との双方のために、RSV抗原に免疫特異的に結合する、高アフィニティおよび/または強力なin vivo阻害抗体および/または中和抗体をコードするポリヌクレオチドを使用することが好ましい。このような抗体またはその断片は、好ましくはRSV F糖タンパク質および/またはF糖タンパク質の断片に対してアフィニティを有する。

【0182】

ある実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を治療、予防、または改善

50

するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、本発明の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物が投与される。別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を治療、予防、または改善するために、嚢胞性繊維症、気管支肺異形成、先天性心疾患、先天性免疫不全もしくは後天性免疫不全を患うヒト、または骨髄移植を受けたヒトに、本発明の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物が投与される。別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を治療、予防、または改善するために、ヒト幼児、好ましくは未熟児で生まれたヒト幼児またはRSV感染で入院するリスクのあるヒト幼児に、本発明の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物が投与される。さらに、別の実施形態において、高齢者またはグループホーム（例えば、養護ホームまたはリハビリセンター）にいる人々に、本発明の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物が投与される。

10

【0183】

具体例において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を治療、予防、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、1つ以上の本発明の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物が、RSV力価を低下させるのに有効な量で投与される。この実施形態に基づき、有効量の抗体または抗体断片は、例えば哺乳動物の喀痰サンプルまたは肺洗浄液中のRSVの濃度で測定される通り、肺中のRSV力価を低下させる。別の実施形態において、RSV感染に関連する症状を治療、予防、または改善するために、1つ以上の本発明の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物が、哺乳動物の免疫応答を誘導するのに有効な量で、哺乳動物（好ましくはヒト）に投与される。

20

【0184】

別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する、15mg/kg未満、好ましくは10mg/kg未満、5mg/kg未満、3mg/kg未満、1mg/kg未満、または0.5mg/kg未満の1つ以上の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物の第1回目の投与がなされ、その投与量は、その第1回目の投与後の20日（好ましくは25、30、35、または40日）でかつ次の投与の前に、少なくとも1μg/ml、好ましくは少なくとも2μg/ml、少なくとも5μg/ml、少なくとも10μg/ml、少なくとも15μg/ml、少なくとも20μg/ml、または少なくとも25μg/mlの血清力価を誘導するのに有効な量である。好ましくは、該抗体またはその抗体断片の血清力価は、第1回目の投与の30日後でかつ次の投与の前に、30μg/ml未満である。好ましくは該抗体は、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sである。

30

【0185】

別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、増大したin vivo半減期を有し、かつ従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する、15mg/kg未満、好ましくは5mg/kg未満、3mg/kg未満、1mg/kg未満、または0.5mg/kg未満の1つ以上の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与後の25日（好ましくは30、35、または40日）でかつ次の投与の前に、少なくとも1μg/ml、好ましくは少なくとも2μg/ml、少なくとも5μg/ml、少なくとも10μg/ml、少なくとも15μg/ml、少なくとも20μg/ml、または少なくとも25μg/mlの血清力価を誘導するのに有効な量である。好ましくは、該抗体またはその抗体断片の血清力価は、第1回目の投与の30日後でかつ次の投与の前に、30μg/ml未満である。好ましくは新規抗体は、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、Ale9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sである。

40

50

【 0 1 8 6 】

別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、約15mg/kgのHL-SYNAGISまたはその抗原結合断片を含む治療用組成物または医薬組成物の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与後の25日（好ましくは30、35、または40日）でかつ次の投与の前に、少なくとも1 μ g/ml、好ましくは少なくとも30 μ g/ml、少なくとも35 μ g/ml、少なくとも40 μ g/ml、または少なくとも50 μ g/mlの血清力価を誘導するのに有効な量である。別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、15mg/kg未満（好ましくは、10mg/kgもしくはそれ以下、5 mg/kgもしくはそれ以下、3 mg/kgもしくはそれ以下、1 mg/kgもしくはそれ以下、または0.5mg/kgもしくはそれ以下）のHL-SYNAGISまたはその抗原結合断片を含む治療用組成物または医薬組成物の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与後の25日（好ましくは30、35、または40日）でかつ次の投与の前に、少なくとも1 μ g/ml、好ましくは少なくとも30 μ g/ml、少なくとも35 μ g/ml、少なくとも40 μ g/ml、または少なくとも50 μ g/mlの血清力価を誘導するのに有効な量である。

10

【 0 1 8 7 】

本発明は、従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する、1つ以上の抗体またはその断片を含む、肺送達のための治療用組成物または医薬組成物を包含する。本発明はまた、SYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片を含む、肺送達のための治療用組成物または医薬組成物を包含する。

20

【 0 1 8 8 】

ある実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する、15mg/kg未満、好ましくは5 mg/kg未満、3 mg/kg未満、1 mg/kg未満、または0.5mg/kg未満、または0.01mg/kg未満の1つ以上の抗体またはその断片を含む、肺送達のための治療用組成物または医薬組成物の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与後の20日（好ましくは25、30、35、または40日）でかつ次の投与の前に、該哺乳動物の肺からの挿管サンプルまたは肺洗浄液において、肺タンパク質1 mg当たり20ngの力価（好ましくは少なくとも40ng/mg、少なくとも60ng/mg、少なくとも80ng/mg、少なくとも50ng/mg、少なくとも75ng/mg、少なくとも100ng/mg、または少なくとも150ng/mg）を誘導するのに有効な量である。好ましくは、該抗体またはその抗体断片の血清力価は、第1回目の投与の30日後でかつ次の投与の前に、タンパク質1 ml当たり100ng未満である。好ましくは新規抗体は、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sである。

30

【 0 1 8 9 】

別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、約15mg/kgのSYNAGIS（登録商標）またはその断片を含む、肺送達のための治療用組成物または医薬組成物の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与後の30日（好ましくは35、または40日）でかつ次の投与の前に、該哺乳動物の肺からの挿管サンプルまたは肺洗浄液において、肺タンパク質1 mg当たり20ngの力価（好ましくは少なくとも40ng/mg、少なくとも60ng/mg、少なくとも80ng/mg、少なくとも50ng/mg、少なくとも75ng/mg、少なくとも100ng/mg、または少なくとも150ng/mg）を誘導するのに有効な量である。別の実施形態において、哺乳動物（好ましくはヒト）に、RSV感染の予防のために、15mg/kg未満（好ましくは10mg/kgもしくはそれ以下、5 mg/kgもしくはそれ以下、3 mg/kgもしくはそれ以下、1 mg/kgもしくはそれ以下、または0.5mg/kgもしくはそれ以下）のSYNAGIS（登録商標）またはその断片を含む、肺送達のための治療用組成物または医薬組成物の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第

40

50

1 回目の投与後の30日（好ましくは35、または40日）でかつ次の投与の前に、該哺乳動物の肺からの挿管サンプルまたは肺洗浄液における、肺タンパク質 1 mg当たり20ngの力価（好ましくは少なくとも40ng/mg、少なくとも60ng/mg、少なくとも80ng/mg、少なくとも50ng/mg、少なくとも75ng/mg、少なくとも100ng/mg、または少なくとも150ng/mg）を誘導するのに有効な量である。

【0190】

本発明は、in vivoの半減期が長く、かつ従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する1つ以上の抗体またはその断片を含む、肺送達のための治療用組成物または医薬組成物を包含する。本発明はまた、HL-SYNAGISまたはその抗原結合断片を含む、肺送達のための治療用組成物または医薬組成物を包含する。

10

【0191】

本発明は、in vivoの半減期が長く、かつ従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する1つ以上の抗体またはその断片を含む、徐放性組成物を包含する。本発明はまた、SYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片を含む、徐放性組成物を包含する。

【0192】

ある実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する、15mg/kg未満、好ましくは5 mg/kg未満、3 mg/kg未満、1 mg/kg未満、または0.5mg/kg未満の1つ以上の抗体またはその断片を含む、徐放性製剤の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与後でかつ次の投与の前の、少なくとも10日間（好ましくは少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35、または少なくとも40日間）、少なくとも1 µg/ml、好ましくは少なくとも2 µg/ml、少なくとも5 µg/ml、少なくとも10 µg/ml、少なくとも15 µg/ml、少なくとも20 µg/ml、少なくとも25 µg/mlの血清力価を誘導するのに有効な量である。好ましくは、該抗体または抗体断片の血清力価は、第1回目の投与後の30日でかつ次の投与の前に、30 µg/ml未満である。好ましくは新規抗体は、AFFF、Pf12、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13c4、A17d4、A4B4、A8C7、1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF(1)、6H8、L1-7E5、L2-15B10、A13a11、A1h5、A4B4(1)、A4B4L1FR-S28R、またはA4B4-F52Sである。

20

30

【0193】

別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する、15mg/kg未満、好ましくは5 mg/kg未満、3 mg/kg未満、1 mg/kg未満、または0.5mg/kg未満の1つ以上の抗体またはその断片を含む、徐放性製剤の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与の後でかつ次の投与の前の少なくとも10日間（好ましくは少なくとも15、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35、または少なくとも40日間）、30 µg/mlを超えることなく維持される1 µg/ml、好ましくは2 µg/ml、5 µg/ml、10 µg/ml、15 µg/ml、20 µg/ml、または25 µg/mlの血清力価を誘導するのに有効な量である。

40

【0194】

別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、約15mg/kgのSYNAGIS（登録商標）またはその断片を含む徐放性製剤の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与後の25日（好ましくは30、35、または40日）でかつ次の投与の前に、少なくとも30 µg/ml、好ましくは少なくとも35 µg/ml、少なくとも40 µg/ml、または少なくとも50 µg/mlの力価を誘導するのに有効な量である。別の実施形態において、哺乳動物（好ましくはヒト）に、

50

RSV感染の予防のために、15mg/kg未満（好ましくは10mg/kgもしくはそれ以下、5 mg/kgもしくはそれ以下、3 mg/kgもしくはそれ以下、1 mg/kgもしくはそれ以下、または0.5mg/kgもしくはそれ以下）のSYNAGIS（登録商標）またはその断片を含む、徐放性製剤の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与後の25日（好ましくは30、35、または40日）でかつ次の投与の前に、少なくとも30 µg/ml、好ましくは少なくとも35 µg/ml、少なくとも40 µg/ml、または少なくとも50 µg/mlを誘導するのに有効な量である。

【0195】

別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、15mg/kg未満、好ましくは5 mg/kg未満、3 mg/kg未満、1 mg/kg未満、または0.5mg/kg未満のSYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片を含む、徐放性製剤の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与の後でかつ次の投与の前の、少なくとも10日間（好ましくは少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35、または少なくとも40日間）、30 µg/mlを超えることなく維持される1 µg/ml、好ましくは2 µg/ml、5 µg/ml、10 µg/ml、15 µg/ml、20 µg/ml、または25 µg/mlの血清力価を誘導するのに有効な量である。

10

【0196】

本発明は、in vivoの半減期が長く、かつ従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する、1つ以上の抗体またはその断片を含む、徐放性製剤を包含する。本発明はまた、HL-SYNAGISまたはその抗原結合断片を含む、徐放性製剤を包含する。

20

【0197】

本発明は、従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する、1つ以上の抗体またはその断片を含む、肺送達のための徐放性製剤を包含する。本発明はまた、in vivoの半減期が長く、かつ従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアフィニティおよび/または高いアビディティで1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する、1つ以上の抗体またはその断片を含む、肺送達のための徐放性製剤を包含する。本発明はまた、SYNAGIS（登録商標）またはその断片を含む肺送達のための徐放性製剤を包含する。本発明はさらに、HL-SYNAGISまたはその抗原結合断片を含む肺送達のための徐放性製剤を包含する。

30

【0198】

別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、10mg/kg未満、5 mg/kg未満、3 mg/kg未満、1 mg/kg未満、または0.5mg/kg未満の1つ以上の本発明の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与後の20日（好ましくは25、30、35または40日）に、少なくとも35 µg/ml、少なくとも40 µg/ml、少なくとも50 µg/ml、少なくとも80 µg/ml、少なくとも100 µg/ml、少なくとも120 µg/ml、少なくとも150 µg/ml、少なくとも200 µg/ml、少なくとも250 µg/ml、または少なくとも300 µg/mlの血清力価を誘導するのに有効な量である。別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を治療、予防、または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、約15/kgの1つ以上の本発明の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物の第1回目の投与がなされ、その投与量は、第1回目の投与後の20日（好ましくは25、30、35または40日）に、少なくとも100 µg/ml、少なくとも125 µg/ml、少なくとも150 µg/ml、少なくとも200 µg/ml、少なくとも250 µg/ml、少なくとも300 µg/ml、少なくとも350 µg/ml、少なくとも400 µg/ml、または少なくとも450 µg/mlの血清力価を誘導するのに有効な量である。本明細書において「約15mg/kg」という用語は、14mg/kgと16mg/kgとの間の範囲を意味する。

40

【0199】

別の実施形態において、哺乳動物（好ましくはヒト）に、RSV感染を予防するための1

50

つ以上の本発明の抗体またはその断片を含む医薬組成物の投与がなされ、その投与量は、投与後30日に、10 µg/ml未満、8 µg/ml未満、5 µg/ml未満、3 µg/ml未満、1 µg/ml未満、または0.5 µg/ml未満の、予防上有効な血清力価を誘導するのに有効な量であり、ここで、予防上有効な血清力価は、ヒトのRSV感染の発生率を低下させる血清力価であるか、または 10^5 pfuのRSVでチャレンジした5日後のコトンラット中のRSV力価が、チャレンジ前に前記投与を受けていないコトンラットにおいて 10^5 pfuのRSVでチャレンジした5日後のコトンラット中のRSV力価より99%低くなるようなコトンラットの血清力価である。好ましくは、医薬組成物の投与量は、10mg/kg未満、5 mg/kg未満、3 mg/kg未満、1 mg/kg未満、または0.5mg/kg未満の1つ以上の本発明の抗体またはその断片を含む。

【0200】

さらに別の実施形態において、RSV感染に関連する1つ以上の症状を治療または改善するために、哺乳動物（好ましくはヒト）に、1つ以上の本発明の抗体またはその断片を含む治療用組成物または医薬組成物の投与がなされ、その投与量は、投与後30日に、10 µg/ml未満、8 µg/ml未満、5 µg/ml未満、3 µg/ml未満、1 µg/ml未満、または0.5 µg/ml未満の、治療的に有効な血清力価を誘導するのに有効な量であり、ここで、治療的に有効な血清力価は、RSV感染の重症度または期間を低下させる血清力価であるか、または 10^5 pfuのRSVでチャレンジした5日後のラット中のRSV力価が、チャレンジ前に前記投与を受けていないコトンラットにおいて 10^5 pfuのRSVでチャレンジした5日後のコトンラット中のRSV力価より99%低くなるようなコトンラットの血清力価である。好ましくは、治療用組成物または医薬組成物の投与量は、12mg/kg未満、10mg/kg未満、5 mg/kg未満、3 mg/kg未満、1 mg/kg未満、または0.5mg/kg未満の1つ以上の本発明の抗体またはその断片を含む。

【0201】

5.3. 抗体の投与方法

本発明は、有効量の抗体またはその断片、または本発明の抗体またはその断片を含む医薬組成物を被験体に投与することによる、RSV感染に関連する1つ以上の症状の治療、予防、および改善方法を提供する。好適な態様において、抗体またはその断片は実質的に精製されている（すなわち、その作用を制限したり好ましくない副作用を引き起こしたりする物質を実質的に含まない）。被験体は、好ましくは哺乳動物、例えば非霊長類（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラットなど）および霊長類（例えば、カニクイザルのようなサル、およびヒト）である。好適な実施形態において、被験体はヒトである。別の好適な実施形態において、被験体はヒト幼児または未熟児で生まれたヒト幼児である。別の実施形態において、被験体は、嚢胞性繊維症、気管支肺異形成、先天性心疾患、先天性免疫不全もしくは後天性免疫不全を患うヒト、骨髄移植を受けたヒト、または高齢者である。

【0202】

種々の送達系が知られており、例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセルへの封入、抗体または抗体断片を発現することができる組換え細胞、受容体介在エンドサイトーシス（例えば、WuとWu、J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987) を参照）、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築などが挙げられるが、それらを本発明の抗体またはその断片を投与するのに使用することができる。抗体もしくはその断片または医薬組成物を投与する方法には、特に限定されないが、非経口投与（例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内および皮下）、硬膜外、および粘膜（例えば、鼻内および経口経路）がある。具体例において、本発明の抗体もしくはその断片または医薬組成物は、筋肉内投与、静脈内投与、または皮下投与される。組成物は、任意の好都合な経路により投与すればよく、例えば注入またはボーラス注射により、上皮または皮膚粘膜内層（例えば、口腔粘膜、直腸および小腸粘膜など）を通じた吸収により、投与されるが、他の生物活性物質とともに投与されてもよい。投与は全身性または局所的でもよい。さらに、例えば、吸入器またはネブライザーを使用し、エーロゾル化剤を用いて製剤化することによって、肺投与も用いることができる。例えば、米国特許6,019,968、5,985,320、5,985,309、5,934,2

72、5,874,064、5,855,913、5,290,540、および4,880,078；およびPCT公報W092/19244、W097/32572、W097/44013、W098/31346、およびW099/66903を参照されたい（これらのそれぞれは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。好適な実施形態において、本発明の抗体もしくはその断片、または本発明の組成物は、Alkermes AIR（商標）肺薬剤送達技術（Alkermes, Inc., Cambridge, MA）を使用して投与される。

【0203】

本発明は、RSV感染に関連する1つ以上の症状の予防、治療または改善に有効であると従来考えられているものと比較して、1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する既知の抗体またはその断片をより少用量で投与する方法を提供する。好ましくは、1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する既知の抗体またはその断片は、より少用量で肺投与により投与される。本発明はまた、RSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、治療または改善するための、本発明の新規抗体またはその断片の投与方法を提供する。好ましくは、本発明の新規抗体またはその断片は、肺投与により投与される。

10

【0204】

本発明はまた、密封容器（例えば、抗体または抗体断片の量を表示したアンプルまたは小袋）中にパッケージングされた抗体またはその断片を提供する。ある実施形態において、抗体またはその断片は、密封容器中に入れた乾燥した無菌の凍結乾燥粉末または水分を含まない濃縮物として供給され、被験体への投与のために、例えば水または生理食塩水で適切な濃度に再構成される。好ましくは、抗体またはその断片は、密封容器中に入れた乾燥した無菌の凍結乾燥粉末として、少なくとも5mg、さらに好ましくは少なくとも10mg、少なくとも15mg、少なくとも25mg、少なくとも35mg、少なくとも45mg、少なくとも50mg、または少なくとも75mgの単位用量で、供給される。凍結乾燥抗体またはその抗体断片は、元々の容器中で2～8で保存すべきであり、抗体または抗体断片は、再構成後、12時間以内、好ましくは6時間以内、5時間以内、3時間以内、または1時間以内に投与すべきである。別の実施形態において、抗体またはその断片は、抗体または抗体断片の量と濃度を表示した密封容器中に入れて、液体形態で供給される。好ましくは抗体またはその断片の液体形態は、密封容器中に入れて、少なくとも1mg/ml、さらに好ましくは少なくとも0.5mg/ml、少なくとも5mg/ml、少なくとも8mg/ml、少なくとも10mg/ml、少なくとも15mg/ml、または少なくとも25mg/mlで供給される。

20

【0205】

具体例において、本発明の医薬組成物を治療に必要な部位に局所的に投与することが好ましい。これは例えば、特に限定されないが、注射によるかまたはインプラントを用いる局所注入によって行われ、このインプラントは、多孔材料、無孔材料、またはゼラチン物質（例えば、シアラスティック(sialastic)膜のような膜、または繊維）でもよい。好ましくは、本発明の抗体またはその断片を投与する場合には、抗体またはその断片が吸収されない材料を使用するように注意しなければならない。

30

【0206】

別の実施形態において、組成物は、小胞、特にリポソーム中に入れて送達することができる（Langer, Science 249:1527-1533 (1990)；Treatら、「感染症と癌の治療におけるリポソーム (Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer)」、Lopez-BeresteinとFidler（編）、Liss, ニューヨーク、353-365頁（1989）；Lopez-BeresteinとFidler、同上、317-327頁；総説は同上）。

40

【0207】

さらに別の実施形態において、組成物は、制御放出システムまたは徐放システムで送達される。ある実施形態において、ポンプを使用して制御放出または徐放が達成される（Langer、前述；Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:20；Buchwaldら、1980, Surgery 88:507；Saudekら、1989, New Engl. J. Med. 321:574を参照）。別の実施形態において、ポリマー材料を使用して、本発明の抗体またはその断片の制御放出または徐放が達成される（例えば、Medical Applications of Controlled Release、LangerとWise（編）、CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974)；Controlled Drug Bioavailability, Drug

50

Product Design and Performance, Smolen and Ball (編)、Wiley、ニューヨーク (1984); RangerとPeppas, 1983, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61を参照; また、Levyら、1985, Science 228:190; Duringら、1989, Ann. Neurol. 25:351; Howardら、1989, J. Neurosurg. 71:105; 米国特許5,679,377; 米国特許5,916,597; 米国特許5,912,015; 米国特許5,989,463; 米国特許5,128,326; PCT公報 W099/15154; およびPCT公報 W099/20253を参照されたい。徐放性製剤に使用されるポリマーの例には、特に限定されないが、ポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリレート)、ポリメチルメタクリレート、ポリアクリル酸、ポリ(エチレン-co-酢酸ビニル)、ポリメタクリル酸、ポリグリコリド(PLG)、ポリアンヒドリド、ポリ(N-ビニルピロリドン)、ポリビニルアルコール、ポリアクリルアミド、ポリエチレングリコール、ポリラクチド(PLA)、ポリ(ラクチド-co-グリコリド)(PLGA)、およびポリオルトエステルがある。好適な実施形態において、徐放性製剤で使用されるポリマーは、不活性であり、浸出性の不純物を含まず、保存しても安定であり、無菌で生分解性である。さらに別の実施形態において、制御放出システムまたは徐放システムは、治療標的(すなわち、肺)の近傍に置くことができ、従って全身用量のほんの一部しか必要ではない(例えば、Goodson、Medical Applications of Controlled Release、前述、第2巻、115-138頁(1984)を参照)。

【0208】

制御放出システムについては、Langer(1990, Science 249:1527-1533)による総説がある。本発明の1つ以上の抗体またはその断片を含む徐放性製剤を製造するには、当業者に公知の任意の技術を使用することができる。例えば、米国特許4,526,938、PCT公報 W091/05548、PCT公報 W096/20698、Ningら、1996、「徐放ゲルを使用するヒト結腸癌異種移植片の腫瘍内放射線療法(Intatumoral Radioimmunotherapy of a Human Colon Cancer Xenograft Using a sustained-Release Gel)」、Radiotherapy & Oncology 39:179-189、Songら、1995、「長期循環エマルジョンの抗体介在性肺ターゲティング(Antibody Mediated Lung Targeting of Long-Circulating Emulsions)」、PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology 50:372-397、Cleekら、1997、「心血管疾患適用のためのbFGF抗体用の生分解性ポリマー担体(Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application)」、Proc. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-854 およびLamら1997、「局所的送達のための組換えヒト化モノクローナル抗体のマイクロカプセル封入(Microencapsulation of Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery)」、Proc. Int'l Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-760を参照されたい(これらのそれぞれは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

【0209】

本発明の組成物が抗体または抗体断片をコードする核酸である具体例においては、核酸を適切な核酸発現ベクターの一部として構築し、続いて、例えばレトロウイルスベクターを使用して(米国特許4,980,286を参照)、もしくは直接注入により、もしくは微粒子衝撃(例えば、遺伝子銃; バイオリスティック、DuPont)を使用して細胞内に入るように投与するか、または核酸を脂質もしくは細胞表面受容体もしくはトランスフェクション剤で被覆するか、または核に入ることが知られているホメオボックス様ペプチド(Joliotら、1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868)に核酸を結合させて投与することにより、in vivoで核酸を投与して、コードされた抗体またはその断片の発現を促進することができる。あるいは、核酸を細胞内に導入し、その発現のために相同的組換えにより、宿主細胞DNA内に組み込むことができる。

【0210】

本発明はまた、医薬組成物を提供する。このような組成物は、予防的または治療的有效量の抗体またはその断片および薬剤学的に許容される担体を含む。具体例において「薬剤学的に許容される」という用語は、連邦政府または州政府の認可機関により認可されているか、または米国薬局方もしくは動物特にヒトでの使用についての他の一般的に認識されている薬局方に記載されていることを意味する。「担体」という用語は、希釈剤、アジュ

バント（例えば、フロイントアジュバント（完全および不完全））、賦形剤、または治療薬を投与するのに用いるビヒクルを含む。このような医薬担体は、無菌の、例えば水および油のような液体でもよく、石油、動物、植物もしくは合成起源のものがあり、例えばピーナツ油、大豆油、鉱物油、ゴマ油などを含む。医薬組成物を静脈内投与する時は、水が好適な担体である。生理食塩水溶液およびブドウ糖水溶液およびグリセロール溶液もまた、液体担体として、特に注射溶液に使用することができる。適当な医薬賦形剤には、デンプン、グルコース、乳糖、ショ糖、ゼラチン、麦芽、コメ、小麦粉、チョコク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどがある。所望であれば、組成物はまた、少量の湿潤剤または乳化剤、またはpH緩衝化剤を含むことができる。これらの組成物は、液剤、懸濁剤、乳剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、徐放性製剤などの形を取ることができる。経口製剤は、標準的担体（例えば、医薬グレードのマニトール、乳糖、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなど）を含むことができる。適当な医薬担体の例は、E.W. Martinによる「レミントンの薬剤科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences)」に記載されている。このような組成物は、予防的または治療的有効量の抗体またはその断片を、好ましくは精製された形態で、適当量の担体とともに含有しており、患者への正しい投与のための形態を提供する。製剤は、投与様式に合うものでなければならない。

10

【0211】

好適な実施形態において、組成物は、ヒトへの静脈内投与に適合させた医薬組成物として、ルーチン的方法に従って製剤化される。典型的には静脈内投与のための組成物は、無菌の等張バッファー水溶液中の溶液である。必要であれば、注射部位の疼痛を緩和するために、組成物は可溶化剤および局所的麻酔剤（例えば、リグノカイン(lignocaine)）を含んでもよい。

20

【0212】

一般に本発明の組成物の成分は、単位剤形として、別々にまたは1つに混合されて供給され、例えば、活性物質の量を表示したアンプルまたは小袋のような気密容器中の凍結乾燥粉末もしくは水分を含まない濃縮物として供給される。組成物が輸液により投与される場合、無菌の医薬グレードの水または生理食塩水を含有する輸液ビンを用いて輸液される。組成物が注射により投与される場合、注入用無菌水または生理食塩水のアンプルが提供され、それら成分は、投与前に混合される。

30

【0213】

本発明の組成物は、中性または塩形態で製剤化される。薬剤学的に許容される塩には、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などに由来する陰イオンと形成される塩、および水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、水酸化第二鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来する陽イオンと形成される塩がある。

【0214】

RSV感染に関連する1つ以上の症状の治療、予防、または改善に有効な本発明の組成物の量は、標準的な臨床的方法により決定することができる。例えば、RSV感染に関連する1つ以上の症状の治療、予防、または改善に有効な組成物の投与量は、組成物をコトナットに投与し、 10^5 pfuのRSVでコトナットをチャレンジした後にRSV力価を測定し、これを、組成物を投与しなかったコトナットで得られるRSV力価と比較することにより決定することができる。従って、 10^5 pfuのRSVでチャレンジしたが組成物を投与されていないコトナットと比較して、 10^5 pfuのRSVでチャレンジしたコトナットにおけるRSV力価の2 logの低下すなわち99%の低下を引き起こす投与量が、RSV感染に関連する症状の治療、予防、または改善のために、ヒトに投与することができる組成物の投与量である。RSV感染に関連する1つ以上の症状の治療、予防、または改善に有効な組成物の投与量は、組成物を動物モデル（例えば、コトナットまたはサル）に投与し、RSV抗原に免疫特異的に結合する抗体またはその断片の血清力価を測定することにより決定することができる

40

50

。従って、少なくとも1 µg/ml、好ましくは2 µg/ml、5 µg/ml、10 µg/ml、20 µg/ml、25 µg/ml、少なくとも35 µg/ml、少なくとも40 µg/ml、少なくとも50 µg/ml、少なくとも75 µg/ml、少なくとも100 µg/ml、少なくとも125 µg/ml、少なくとも150 µg/ml、少なくとも200 µg/ml、少なくとも250 µg/ml、少なくとも300 µg/ml、少なくとも350 µg/ml、少なくとも400 µg/ml、または少なくとも450 µlの血清力価をもたらす投与量の組成物を、RSV感染に関連する1つ以上の症状の治療、予防、または改善のために、ヒトに投与することができる。さらに、in vitroアッセイを任意に使用して、最適投与量範囲の確定を助けることができる。

【0215】

製剤で使用される正確な投与量はまた、投与経路、RSV感染の重症度に依存し、担当医の判断と各患者の状態に従って決定すべきである。有効な投与量は、in vitroまたは動物モデル（例えば、コトナラットまたはカニクイザル）試験系からの用量応答曲線から外挿してもよい。

【0216】

抗体については、患者に投与される量は、典型的には患者の体重1 kg当たり0.1mg~100 mgである。好ましくは、患者に投与される量は、患者の体重1 kg当たり0.1mg~20mg、さらに好ましくは患者の体重1 kg当たり1 mg~10mgである。一般に、外来ポリペプチドに対する免疫応答のために、ヒト抗体は他の種由来の抗体より、ヒトの体内での半減期が長い。すなわち、より少量のヒト抗体およびより少ない投与回数が、しばしば可能である。さらに、例えば脂質化のような修飾により、抗体の取り込みと組織浸透（例えば、肺への）を増強することにより、本発明の抗体またはその断片の投与量と投与頻度を減少させることができる。

【0217】

具体例において、本発明の抗体もしくはその断片、または本発明の抗体もしくはその断片を含む組成物は、RSVシーズン直前またはシーズン中に月に1回投与される。別の実施形態において、本発明の抗体もしくはその断片、または本発明の抗体もしくはその断片を含む組成物は、RSVシーズン前またはシーズン中に2ヶ月に1回投与される。さらに別の実施形態において、本発明の抗体もしくはその断片または本発明の抗体もしくはその断片を含む組成物は、RSVシーズン前またはシーズン中に1回投与される。用語「RSVシーズン」は、RSV感染が最も発生しやすいシーズンを意味する。典型的には、北半球のRSVシーズンは11月に始まり4月まで続く。

【0218】

ある実施形態において、従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアビディティおよび/または高いアフィニティでRSV抗原に免疫特異的に結合する抗体またはその断片が約5 mg/kgまたはそれ以下（好ましくは1.5mg/kgまたはそれ以下）で、哺乳動物（好ましくはヒト）に、RSVシーズン中に5回、3回、または1~2回投与される。別の実施形態において、既知の抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアビディティおよび/または高いアフィニティでRSV抗原に免疫特異的に結合する抗体またはその断片の約1.5mg/kgが、哺乳動物（好ましくはヒト）に、RSVシーズン中に毎月5回筋肉内に投与される。別の実施形態において、既知の抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアビディティおよび/または高いアフィニティでRSV抗原に免疫特異的に結合する抗体またはその断片の3 mg/kgが、哺乳動物（好ましくはヒト）に、RSVシーズン中に毎月3回筋肉内に投与される。さらに別の実施形態において、既知の抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアビディティおよび/または高いアフィニティでRSV抗原に免疫特異的に結合する、抗体またはその断片の5 mg/kgが、哺乳動物（好ましくはヒト）に、RSVシーズン中に毎月1~2回筋肉内に投与される。

【0219】

具体例において、15mg/kgのHL-SYNAGISまたはその抗原結合断片が、哺乳動物（好ましくはヒト）に、RSVシーズン中に5回筋肉内投与される。別の実施形態において、従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアビディティおよび/

または高いアフィニティでRSV抗原に免疫特異的に結合する抗体またはその断片が約5 mg/kgまたはそれ以下（好ましくは1.5mg/kgまたはそれ以下）で、RSVシーズン中に5回、3回、または1～2回、哺乳動物（好ましくはヒト）に投与される。別の実施形態において、従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアピディティおよび/または高いアフィニティでRSV抗原に免疫特異的に結合し、かつin vivo半減期が長い抗体またはその断片の3 mg/kgが、RSVシーズン中に毎月3回、哺乳動物（好ましくはヒト）に筋肉内投与される。別の実施形態において、従来から知られている抗体（例えば、SYNAGIS（登録商標））よりも高いアピディティおよび/または高いアフィニティでRSV抗原に免疫特異的に結合し、かつin vivo半減期が長い抗体またはその断片の5 mg/kgが、RSVシーズン中に2回、哺乳動物（好ましくはヒト）に筋肉内投与される。

10

【0220】

具体例において、徐放性製剤ではない約15mg/kgボラスのSYNAGIS（登録商標）またはその抗原結合断片が、哺乳動物（好ましくはヒト）に投与され、一定期間後、15mg/kgまたはそれ以下（好ましくは5 mg/kgまたはそれ以下、さらに好ましくは3 mg/kgまたはそれ以下、および最も好ましくは1.5mg/kgまたはそれ以下）の徐放性のSYNAGIS（登録商標）またはその抗体断片が、該哺乳動物に、RSVシーズン中に2回、3回、または4回、筋肉内投与される。この実施形態において、一定期間は、1～5日間、1週間、2週間、または1月である。別の実施形態において、15mg/kgまたはそれ以下（好ましくは、少なくとも2 mg/kg、少なくとも5 mg/kg、または少なくとも10mg/kg）の徐放性のSYNAGIS（登録商標）またはその抗体断片が、哺乳動物（好ましくはヒト）に、RSVシーズン中に2回、3

20

【0221】

別の実施形態において、1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する約15mg/kgまたはそれ以下（好ましくは、少なくとも2 mg/kg、少なくとも5 mg/kg、または少なくとも10mg/kg）の1つ以上の抗体またはその断片が、哺乳動物の肺に、肺送達により投与され、次に一定期間（例えば、15分、30分、45分、1時間、6時間、12時間、1日、5日、10日、20日、25日、30日、または40日）後、約15mg/kgまたはそれ以下の1つ以上の該抗体またはその断片が、該哺乳動物に筋肉内投与される。別の実施形態において、1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する約15mg/kgまたはそれ以下（好ましくは、少なくとも2 mg/kg、少なくとも5 mg/kg、または少なくとも10mg/kg）の1つ以上の抗体またはその断片が、哺乳動物に筋肉内投与され、次に一定期間（例えば、15分、30分、45分、1時間、6時間、12時間、1日、5日、10日、20日、25日、30日、または40日）後、約15mg/kgまたはそれ以下の1つ以上の該抗体またはその断片が、該哺乳動物の肺に投与される。

30

【0222】

5.3.1. 遺伝子治療

具体例において、遺伝子治療により、RSV感染に関連する1つ以上の症状を治療、予防、または改善するために、抗体またはその機能性誘導体をコードする配列を含む核酸が投与される。遺伝子治療とは、発現されたまたは発現可能な核酸を被験体に投与することにより行われる治療を意味する。本発明のこの実施形態において、核酸は、予防または治療作用を仲介する、それにコードされた抗体または抗体断片を産生する。

40

【0223】

当該分野で利用可能な任意の遺伝子治療法が、本発明で使用できる。方法の例を以下に記載する。

【0224】

遺伝子治療法の総説については、Goldspielら、1993, Clinical Pharmacy 12:488-505 ; WuとWu, 1991, Biotherapy 3:87-95 ; Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596 ; Mulligan, Science 260:926-932 (1993) ; およびMorganとAnderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217 ; May, 1993, TIBTECH 11(5):155-215を参照されたい。使用可能な組換えDNA技術の分野で一般的に知られている方法は、アウスベル（Ausubel）ら（編）、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (199

50

3) ; およびKriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)に記載されている。

【 0 2 2 5 】

好適な態様において、本発明の組成物は、抗体をコードする核酸を含み、該核酸は、適当な宿主中で抗体もしくは断片、またはキメラタンパク質またはその重鎖もしくは軽鎖を発現する発現ベクターの一部である。特に、このような核酸は、抗体コード領域に機能できる形で連結しているプロモーター（好ましくは異種プロモーター）を有し、該プロモーターは、誘導性または構成性であり、および場合により組織特異的である。別の具体的な実施形態において、抗体コード配列と他の所望の配列がゲノム内の所望の部位での相位的組換えを促進する領域にフランキングされている核酸分子が使用され、こうして抗体をコードする核酸の染色体内発現がもたらされる（KollerとSmithies, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935 ; Zijlstraら、1989, Nature 342:435-438）。具体例において、発現される抗体分子は、1本鎖抗体であるか、あるいはその核酸配列は、抗体の重鎖と軽鎖の両方、またはその断片をコードする配列を含む。

【 0 2 2 6 】

被験体への核酸の送達は、直接的（この場合、被験体は、核酸または核酸を運搬するベクターに直接暴露される）であるか、または間接的（この場合、細胞はまず、核酸でin vitroで形質転換され、次に被験体に移植される）でもよい。これらの2つのアプローチは、それぞれin vivoまたはex vivo遺伝子治療として知られている。

【 0 2 2 7 】

具体例において、核酸配列は直接in vivoで投与され、ここで、該核酸配列が発現されてコードされた産物を産生する。これは、当該分野で公知の多くの方法の任意のものにより行われ、例えば、これらを適切な核酸発現ベクターの一部として構築し、それを投与して細胞内に入れることにより、例えば欠陥のあるまたは弱毒化レトロウイルスもしくは他のウイルスベクターを使用して感染（米国特許4,980,286を参照）させることにより、または裸のDNAの直接注入により、または微粒子衝撃（例えば、遺伝子銃；バイオリスティック、Dupont）、または脂質もしくは細胞表面受容体またはトランスフェクション剤での被覆、リボソーム、微粒子もしくはマイクロカプセル中への封入を利用することにより、または核に入ることが知られているペプチドに核酸を連結して投与することにより、受容体介在性エンドサイトーシスを受けるリガンドに連結した核酸を投与すること（例えば、WuとWu、1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432を参照）（このリガンドは、その受容体の特異的に発現する細胞型を標的化するのに使用できる）などにより行われる。別の実施形態において、リガンドが、エンドソームを破壊する融合性ウイルスペプチドを含むような核酸-リガンド複合体が形成され、その核酸がリソソーム分解を避けることを可能にする。さらに別の実施形態において、核酸は、in vivoで、特定の受容体を標的とすることで、細胞特異的取り込みと発現について標的化することができる（例えば、PCT公報 WO92/06180 ; WO92/22635 ; WO92/20316 ; WO93/14188、WO93/20221を参照）。あるいは核酸を細胞内に導入し、それを発現のために相位的組換えにより宿主細胞DNA内に組み込むことができる（KollerとSmithies, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935 ; Zijlstraら、1989, Nature 342:435-438）。

【 0 2 2 8 】

具体例において、本発明の抗体またはその断片をコードする核酸配列を含有するウイルスベクターが使用される。例えばレトロウイルスベクターを使用することができる（Millerら、1993, Meth. Enzymol. 217:581-599を参照）。これらのレトロウイルスベクターは、ウイルスゲノムを正しくパッケージングし宿主細胞DNAに組み込むのに必要な構成要素を含有する。遺伝子治療で使用する抗体をコードする核酸配列が、1つ以上のベクター中にクローン化され、これが、被験体への遺伝子の送達を促進する。レトロウイルスベクターについてのさらなる詳細は、Boesenら、1994, Biotherapy 6:291-302に記載されており、これは、幹細胞を化学療法に対してより耐性にするために、造血幹細胞にmdr1遺伝子を送達するためのレトロウイルスベクターの使用を記載する。遺伝子治療におけるレトロ

ウイルスベクターの使用を例示する他の文献は以下がある：Clowesら、1994, J. Clin. Invest. 93:644-651；Kleinら、1994, Blood 83:1467-1473；SalmonsとGunzberg, 1993, Human Gene Therapy 4:129-141；およびGrossmanとWilson, 1993, Curr. Opin. in Genetics and Devel. 3:110-114。

【0229】

アデノウイルスは、遺伝子治療で使用可能な他のウイルスベクターである。アデノウイルスは、気道上皮に遺伝子を送達するための特に魅力的なビヒクルである。アデノウイルスは、天然には気道上皮に感染して、そこで軽い疾患を引き起こす。アデノウイルスに基づく送達系の他の標的は、肝臓、中枢神経系、内皮細胞、および筋肉である。アデノウイルスは、分裂していない細胞に感染できるという利点を有する。KozarskyとWilson, 1993, Current Opinion in Genetics and Development 3:499-503は、アデノウイルスに基づく遺伝子治療の総説を提供する。Boutら、1994, Human Gene Therapy 5:3-10は、アカゲザル (rhesus monkey) の気道上皮に遺伝子を導入するためのアデノウイルスベクターの使用を示した。遺伝子治療におけるアデノウイルスの使用の他の例は、Rosenfeldら、1991, Science 252:431-434；Rosenfeldら、1992, Cell 68:143-155；Mastrangeliら、1993, J. Clin. Invest. 91:225-234；PCT公報 WO94/12649；およびWangら、1995, Gene Therapy 2:775-783に記載されている。好適な実施形態において、アデノウイルスベクターが使用される。

【0230】

アデノ随伴ウイルス (AAV) もまた、遺伝子治療で使用できることが示されている (Walshら、1993, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 204:289-300；および米国特許5,436,146)。

【0231】

遺伝子治療への他のアプローチは、電気穿孔法、リポフェクション、リン酸カルシウム媒介トランスフェクション、またはウイルス感染などの方法による組織培養細胞への遺伝子導入を伴う。通常、導入法は細胞への選択マーカーの導入を含む。次に細胞を選択下に置き、導入遺伝子を取り込んで発現している細胞を単離する。次に、これらの細胞を被験体に投与する。

【0232】

この実施形態において、生じる組換え細胞のin vivo投与の前に、核酸が細胞に導入される。このような導入は、当該分野で公知の任意の方法により行われ、例えば、特に限定されないが、トランスフェクション、電気穿孔法、微量注入法、核酸配列を含有するウイルスまたはバクテリオファージベクターによる感染、細胞融合、染色体媒介遺伝子導入、微小細胞媒介遺伝子導入、スフェロプラスト融合などがある。細胞中への外来遺伝子の導入のための、多くの方法が当該分野で公知 (LoefflerとBehr, 1993, Meth. Enzymol. 217:599-618；Cohenら、1993, Meth. Enzymol. 217:618-644；Clin. Pharma. Ther. 29:69-92 (1985)を参照)であり、レピシエント細胞の必要な発生的および生理学的機能が破壊されない限りにおいて、本発明に従って用いられ得る。この方法は、細胞への核酸の安定な導入を提供し、その結果、核酸は、細胞により発現可能であって、好ましくは遺伝可能であり、その細胞子孫により発現可能である。

【0233】

生じる組換え細胞は、当該分野で公知の種々の方法により被験体に投与される。組換え血液細胞 (例えば、造血幹細胞または前駆細胞) は、好ましくは静脈内投与される。使用が企図される細胞の量は、所望の効果、患者の状態などに依存し、当業者によって決定することができる。

【0234】

遺伝子治療の目的で核酸を導入することができる細胞には、任意の所望の、利用可能な型の細胞が包含され、特に限定されないが、上皮細胞、内皮細胞、ケラチン生成細胞、繊維芽細胞、筋肉細胞、肝細胞；血液細胞、例えばTリンパ球、Bリンパ球、単核細胞、マクロファージ、好中球、好酸球、巨核球、顆粒球；種々の幹細胞または前駆細胞、特に造血幹細胞または前駆細胞、例えば骨髓、臍帯血、末梢血、胎児肝などから得られるものが

ある。

【 0 2 3 5 】

好適な実施形態において、遺伝子治療に使用される細胞は、被験体にとって自己由来である。

【 0 2 3 6 】

遺伝子治療に組換え細胞が使用される実施形態において、抗体またはその断片をコードする核酸配列は、その細胞またはその細胞の子孫により発現可能であるように細胞内に導入され、次に組換え細胞が、治療作用のために *in vivo* で投与される。具体例において、幹細胞または前駆細胞が使用される。単離して *in vitro* で維持できる幹細胞および / または前駆細胞はすべて、本発明のこの実施形態で使用できる可能性がある（例えば、PCT公報 WO94/08598 ; StempleとAnderson, 1992, Cell 71:973-985 ; Rheinwald, 1980, Meth. Cell Bio. 21A:229 ; およびPittelkowとScott, 1986, Mayo Clinic Proc. 61:771を参照）。

【 0 2 3 7 】

具体例において、遺伝子治療の目的で導入される核酸は、適切な転写インデューサーの有無を制御することにより核酸の発現が制御できるように、コード領域に機能できる形で連結した誘導性プロモーターを含む。

【 0 2 3 8 】

5.4. 抗体の特性解析と治療的または予防的有用性の証明

本発明の抗体またはその断片は、種々の方法で特性解析される。特に、本発明の抗体またはその断片は、RSV抗原に免疫特異的に結合する能力についてアッセイされる。そのようなアッセイは、溶液中（例えば、Houghten, 1992, Bio/Techniques 13:412-421）、ビーズ上（Lam, 1991, Nature 354:82-84）、チップ上（Fodor, 1993, Nature 364:555-556）、細菌上（米国特許5,223,409）、胞子上（米国特許5,571,698 ; 5,403,484 ; および5,223,409）、プラスミド上（Cullら、1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:1865-1869）、またはファージ上（ScottとSmith, 1990, Science 249:386-390 ; Devlin, 1990, Science 249:404-406 ; Cwirlaら、1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:6378-6382 ; およびFelici, 1991, J. Mol. Biol. 222:301-310）中で行うことができる（これらの文献のそれぞれは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。RSV抗原またはその断片に免疫特異的に結合することが確認された抗体またはその断片は、次にRSV抗原に対する特異性とアフィニティについてアッセイすることができる。

【 0 2 3 9 】

本発明の抗体またはその断片は、RSV抗原に対する免疫特異的結合と他の抗原との交差反応性について、当該分野で公知の任意の方法によりアッセイされる。免疫特異的結合と交差反応性を解析するのに使用できるイムノアッセイには、特に限定されないが、ほんの一例を挙げただけでも、ウェスタンブロット法、ラジオイムノアッセイ、ELISA（酵素結合免疫吸着測定法）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫沈降測定法、沈降反応、ゲル拡散沈降反応、免疫拡散測定法、凝集測定法、補体結合測定法、免疫放射定量測定法、蛍光イムノアッセイ、プロテインAイムノアッセイのような技術を使用する、競合的および非競合的測定系がある。これらのアッセイは慣用されており、当該分野では周知である（例えば、アウスベル（Ausubel）ら編、1994、Current Protocols in Molecular Biology, Vol.1, John Wiley & Sons, Inc., ニューヨークを参照、これは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。イムノアッセイの例を、以下に簡単に記載する（しかし、限定するものではない）。

【 0 2 4 0 】

免疫沈降プロトコールは一般に、プロテインホスファターゼおよび / またはプロテアーゼインヒビター（例えば、EDTA、PMSF、アプロチニン、パナジン酸ナトリウム）を補足したRIPAバッファー（1 % NP-40またはトリトンX-100、1 % デオキシコール酸ナトリウム、0.1 % SDS、0.15 M NaCl、0.01 M リン酸ナトリウム（pH7.2）、1 % トラジロール）のような溶解バッファー中に細胞集団を溶解し、細胞溶解物に目的の抗体を添加し、40 で一定

10

20

30

40

50

時間（例えば、1～4時間）インキュベートし、その細胞溶解物にプロテインAおよび/またはプロテインGセファロースビーズを加え、40℃で約1時間以上インキュベートし、溶解バッファー中でビーズを洗浄し、ビーズをSDS/サンプルバッファー中に再懸濁することを含んでなる。目的の抗体が特定の抗原を免疫沈降させる能力は、例えばウェスタンブロット解析により評価することができる。当業者は、抗原への抗体の結合性を増加させ、バックグラウンドを低下させるために改変すべきパラメータについて認識しているであろう（例えば、細胞溶解物をセファロースビーズであらかじめ洗浄する）。免疫沈降プロトコールについてのさらなる詳細は、アウスベル（Ausubel）ら編、1994、Current Protocols in Molecular Biology, Vol.1, John Wiley & Sons, Inc., ニューヨークの10.16.1.を参照されたい。

10

【0241】

ウェスタンブロット解析は一般に、タンパク質サンプルを調製し、ポリアクリルアミドゲル（例えば、抗原の分子量に応じて8%～20%のSDS-PAGE）でタンパク質サンプルを電気泳動し、ポリアクリルアミドゲルから膜（ニトロセルロース、PVDFまたはナイロン等）にタンパク質サンプルを移動させ、ブロッキング溶液（例えば、3% BSAまたは脱脂乳を含むPBS）中で膜をブロックし、洗浄バッファー（例えば、PBS-ツイーン20）で膜を洗浄し、ブロッキングバッファー中に希釈した一次抗体（目的の抗体）で膜をブロックし、洗浄バッファー中で膜を洗浄し、ブロッキングバッファー中に希釈した酵素基質（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ）または放射性分子（例えば、 ^{32}P または ^{125}I ）にコンジュゲートした二次抗体（これは、一次抗体を認識する、例えば抗ヒト抗体）で膜をブロックし、抗原の存在を検出することを含む。当業者は、検出するシグナルを増大させ、バックグラウンドノイズを低下させるために改変すべきパラメータについて認識しているであろう。ウェスタンブロットプロトコールについてのさらなる詳細は、アウスベル（Ausubel）ら編、1994、Current Protocols in Molecular Biology, Vol.1, John Wiley & Sons, Inc., ニューヨークの10.8.1.を参照されたい。

20

【0242】

ELISAは、抗原を調製し、96ウェルマイクロタイタープレートのウェルをその抗原で被覆し、酵素基質（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ）のような検出可能な化合物にコンジュゲートした目的の抗体をウェルに加え、一定時間インキュベートし、抗原の存在を検出することを含む。ELISAでは、目的の抗体は、検出可能な化合物にコンジュゲートしている必要はなく、その代わり、検出可能な化合物にコンジュゲートした二次抗体（これは、目的の抗体を認識する）をウェルに加えればよい。さらに、ウェルを抗原で被覆する代わりに、抗体をウェルに被覆してもよい。この場合、被覆したウェルへの目的の抗原の添加後に、検出可能な化合物にコンジュゲートした二次抗体を加えてもよい。当業者は、検出するシグナルを増大させるために改変すべきパラメータに加え、当該分野で公知のELISAの他の変法について認識しているであろう。ELISAについてのさらなる詳細は、アウスベル（Ausubel）ら編、1994、Current Protocols in Molecular Biology, Vol.1, John Wiley & Sons, Inc., ニューヨークの11.2.1.を参照されたい。

30

【0243】

抗体の抗原への結合アフィニティおよび抗体-抗原相互作用の解離速度(off-rate)は、競合的結合測定法により測定することができる。競合的結合測定法の1つの例は、標識抗原（例えば、 ^3H または ^{125}I ）と目的の抗体とを、量を増加させていく非標識抗原の存在下でインキュベートし、標識抗原に結合した抗体を検出することを含むラジオイムノアッセイである。RSV抗原に対する本発明の抗体またはその断片のアフィニティと結合解離速度は、スキャチャードプロット解析によりデータから決定することができる。二次抗体を用いる競合もまた、ラジオイムノアッセイを使用して測定することができる。この場合、RSV抗原は、標識化合物（例えば、 ^3H または ^{125}I ）にコンジュゲートした本発明の抗体またはその断片とともに、量を増加させていく非標識抗原の存在下でインキュベートされる。

40

【0244】

50

好適な実施形態において、RSV抗原に対する抗体またはその断片の結合速度(on rate)と解離速度(off rate)を測定するのに、BIAcore速度論解析が使用される。BIAcore速度論解析は、表面上に固定化された抗体またはその断片が固定されたチップからのRSV抗原の結合と解離を解析することを含む(以下の実施例を参照)。

【0245】

本発明の抗体またはその断片はまた、当業者に公知の技術を使用して、その宿主細胞受容体へのRSVの結合を阻害する能力について測定することもできる。例えばRSVに対する受容体を発現する細胞を、抗体またはその断片の存在下または非存在下でRSVと接触させ、抗体またはその断片がRSVの結合を阻害する能力を、例えばフローサイトメトリーまたはシンチレーションアッセイを使用して測定することができる。RSV(例えば、F糖タンパク質またはG糖タンパク質のようなRSV抗原)または抗体もしくはその断片を、放射性標識(例えば、 ^{32}P 、 ^{35}S 、および ^{125}I)または蛍光標識(例えば、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルアルデヒド、およびフルオレスカミン)のような検出可能な化合物で標識して、RSVとその宿主細胞受容体との相互作用の検出を可能にすることができる。あるいは、抗体またはその断片の、RSVのその受容体への結合を阻害する能力を、無細胞測定法で測定することができる。例えば、RSVまたはG糖タンパク質のようなRSV抗原を抗体またはその断片と接触させ、RSVまたはRSV抗原のその宿主細胞受容体への結合を、抗体または抗体断片が阻害する能力を測定することができる。好ましくは抗体または抗体断片は固体支持体上に固定化され、RSVまたはRSV抗原は検出可能な化合物で標識される。あるいは、RSVまたはRSV抗原を固体支持体上に固定化し、抗体またはその断片は、検出可能な化合物で標識される。RSVまたはRSV抗原は、部分的にまたは完全に精製されている(例えば、部分的または完全に他のポリペプチドを含まない)か、または細胞溶解物の一部でもよい。さらに、RSV抗原は、RSV抗原とドメイン(例えば、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ)とを含む融合タンパク質でもよい。あるいは、RSV抗原は、当業者に周知の技術を使用してビオチン化することができる(例えば、ビオチン化キット、Pierce Chemicals; Rockford, IL)。

【0246】

本発明の抗体またはその断片はまた、当業者に公知の技術を使用して、RSV複製を阻害またはダウンレギュレートする能力について測定することもできる。例えば、RSV複製は、例えば、Johnsonら、1997, Journal of Infectious Diseases 176:1215-1224に記載のようなブラークアッセイにより測定することができる。本発明の抗体またはその断片はまた、RSVポリペプチドの発現を阻害またはダウンレギュレートする能力について測定することもできる。特に限定されないが、ウェスタンブロット解析、ノーザンブロッティング解析、およびRT-PCRを含む当業者に公知の技術を使用して、RSVポリペプチドの発現を測定することができる。さらに本発明の抗体またはその断片を、シンシチウムの形成を妨害する能力について測定することができる。

【0247】

本発明の抗体またはその断片は好ましくは、ヒトで使用する前に、所望の治療または予防活性について、in vitroでそして次にin vivoで試験される。例えば、本発明の特定の抗体または組成物の投与が適用できるかどうかを決定するのに使用することができるin vitroアッセイには、in vitro細胞培養アッセイがあり、そのアッセイでは被験体の組織サンプルを培養して増殖させ、本発明の抗体もしくは組成物に曝露するかそうでなければそれらを投与して、組織サンプルへの本発明のこのような抗体または組成物の作用を観察する。種々の具体例において、RSV感染に関与する型の細胞(例えば、気道上皮細胞)のうち代表的な細胞でin vitroアッセイを実施し、本発明の抗体または組成物が、そのような型の細胞に対して所望の作用を有するかどうかを判定することができる。好ましくは本発明の抗体または組成物はまた、in vitroアッセイと動物モデル系で試験してから、ヒトに投与する。具体例において、コトンラットに本発明の抗体もしくはその断片、または本発明の組成物を投与し、 10^5 pfuのRSVでチャレンジし、4日またはそれ以上後にラットを屠

殺し、RSV力価と抗RSV抗体血清力価を測定する。さらに、この実施形態において、屠殺ラットからの組織（例えば、肺組織）を、組織学的変化について調べることができる。

【0248】

本発明において、本発明の抗体またはその断片の予防および／または治療効果を証明するのに、ヒト被験体で臨床試験を行う必要は無い。抗体またはその断片を使用する *in vitro* および動物モデル試験をヒトに外挿すれば、該抗体または抗体断片の予防および／または治療的有用性を証明するのに充分である。

【0249】

治療で使用される本発明の抗体または組成物は、限定するものではないが、ラット、マウス、ウシ、サル、およびウサギを含む適当な動物モデル系で、その毒性について試験することができる。抗体または組成物の毒性の *in vivo* 試験について、当該分野で公知の任意の動物モデル系が使用される。

10

【0250】

ウイルス感染を治療または予防する上での有効性は、本発明の抗体または組成物のもつ、ウイルスの複製を阻害、ウイルスの伝搬を阻害、またはその宿主内でウイルスが自身を構築することを妨害、RSV感染の発生率を低下、またはRSV感染に関連する1つ以上の症状を予防、改善または緩和する能力を検出することにより証明される。例えば、本発明の抗体または組成物の投与後に、ウイルス量の低下、1つ以上の症状の改善、RSV感染の期間の短縮、または死亡率および／または発症率の低下があれば、この処置は治療的であると見なされる。さらに、1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する1つ以上の抗体またはその断片の投与後に免疫応答の増大が起これば、この処置は治療的であると見なされる。

20

【0251】

本発明の抗体または組成物は、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、およびIL-15のようなサイトカインの発現を誘導する能力について、*in vitro* および *in vivo* で試験することができる。例えば、当業者に公知の技術を使用して、サイトカインの発現レベルを測定することができる。例えば、RT-PCR、ノーザンブロッティング解析によりサイトカインのRNAレベルを解析することにより、および例えば免疫沈降後にウェスタンブロット解析とELISAを行ってサイトカインのレベルを解析することにより、サイトカインの発現レベルを測定することができる。好適な実施形態において、本発明の抗体または組成物は、IFN- γ の発現を誘導する能力について試験される。

30

【0252】

本発明の抗体または組成物は、免疫細胞、好ましくはヒト免疫細胞（例えば、T細胞、B細胞、およびナチュラルキラー細胞）の生物活性をモジュレートする能力について、*in vitro* および *in vivo* で試験することができる。本発明の抗体または組成物が免疫細胞の生物活性をモジュレートする能力は、抗原の発現を検出することにより、免疫細胞の増殖を検出することにより、シグナル伝達分子の活性化を検出することにより、免疫細胞のエフェクター機能を検出することにより、または免疫細胞の分化を検出することにより、評価することができる。これらの活性を測定するのに、当業者に公知の技術を使用することができる。例えば、 ^3H -チミジン取り込みアッセイとトリパンブルー細胞数計測により、細胞増殖を測定することができる。抗原発現は、例えば、特に限定されないが、ウェスタンブロット法、免疫組織化学、ラジオイムノアッセイ、ELISA（酵素結合免疫吸着測定法）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫沈降測定法、沈降反応、ゲル拡散沈降反応、免疫拡散測定法、凝集測定法、補体結合測定法、免疫放射定量測定法、蛍光イムノアッセイ、プロテインAイムノアッセイ、およびFACS解析のような技術を使用する、競合的および非競合的測定系を含むイムノアッセイにより測定することができる。シグナル伝達分子の活性化は、例えばキナーゼアッセイおよび電気泳動シフトアッセイ（EMSA）により測定することができる。

40

【0253】

本発明の抗体または組成物はまた、*in vitro*、*ex vivo*、および *in vivo* アッセイで、ウ

50

ウイルス複製を阻害するかまたはウイルス量を低下させる能力について測定することができる。本発明の抗体または組成物はまた、RSV感染の経時変化を減少させるその能力について試験することができる。本発明の抗体または組成物はまた、RSVに感染しているヒトの生存期間を、少なくとも25%、好ましくは少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも75%、少なくとも85%、少なくとも95%、または少なくとも99%、延長させるその能力について試験することができる。さらに、本発明の抗体または組成物は、RSVに感染しているヒトの入院期間を、少なくとも60%、好ましくは少なくとも75%、少なくとも85%、少なくとも95%、または少なくとも99%、短縮させるその能力について試験することができる。当業者に公知の技術を使用して、本発明の抗体または組成物の機能をin vivoで解析することができる。

10

【0254】

5.5. 抗体の診断的使用

RSV抗原に免疫特異的に結合する標識抗体、その断片ならびにそれらの誘導体および類似体は、RSV感染を検出、診断、またはモニターする診断目的で使用することができる。本発明は、(a) RSV抗原に免疫特異的に結合する1つ以上の抗体またはその断片を使用して、被験体の細胞または組織サンプル中のRSV抗原の発現を測定し、そして(b) RSV抗原のレベルを対照レベル（例えば、RSVに感染していない正常の組織サンプル中のレベル）と比較することを含み、こうしてRSV抗原の対照レベルと比較したRSV抗原の測定レベルの上昇は、RSV感染を示すものである、RSV感染の検出を提供する。

【0255】

20

本発明は、(a) RSV抗原に免疫特異的に結合する1つ以上の抗体またはその断片を使用して、個体の細胞または組織サンプル中のRSV抗原のレベルを測定し、そして(b) RSV抗原のレベルを対照レベル（例えば、RSVに感染していない正常の組織サンプル中のレベル）と比較することを含み、こうしてRSV抗原の対照レベルと比較したRSV抗原の測定レベルの上昇はRSV感染を示すものである、RSV感染を診断するための診断アッセイを提供する。RSV感染のより決定的な診断は、医療専門家が、より早く予防的措置または積極的処置を用いて、それによりRSV感染の確立またはさらなる進行を予防することを可能にする。

【0256】

本発明の抗体またはその断片は、本明細書に記載のまたは当業者に公知の古典的免疫組織学的方法（例えば、Jalkanenら、1985, J. Cell. Biol. 101:976-985; およびJalkanenら、1987, J. Cell. Biol. 105:3087-3096）を使用して、生物サンプル中のRSV抗原レベルを測定するのに使用することができる。タンパク質遺伝子発現発現を検出するのに有用な他の抗体ベースの方法には、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）およびラジオイムノアッセイ（RIA）のようなイムノアッセイがある。適当な抗体アッセイ標識は当業者に公知であり、酵素標識、例えばグルコースオキシダーゼ；ラジオアイソトープ、例えばヨード（ ^{125}I 、 ^{121}I ）、炭素（ ^{14}C ）、イオウ（ ^{35}S ）、トリチウム（ ^3H ）、インジウム（ ^{121}In ）、およびテクネチウム（ ^{99}Tc ）；ルミノール標識、例えばルミノール；および蛍光標識、例えばフルオレセインおよびローダミン、およびビオチンがある。

30

【0257】

本発明の1つの態様は、ヒトでのRSV感染の検出と診断である。ある実施形態において、診断は、a) RSV抗原に免疫特異的に結合する標識した抗体またはその断片の有効量を被験体に投与（例えば、経口的、皮下、または腹腔内に）し、b) 投与後一定時間待つことにより、標識した抗体またはその断片を、RSV抗原が発現される被験体の部位（例えば、肺）に優先的に濃縮させ（そして、結合しない標識分子をバックグラウンドレベルまで排除させ）、c) バックグラウンドレベルを測定し、そしてd) 被験体中の標識した抗体またはその断片を検出することを含み、その結果バックグラウンドレベルよりも高い標識抗体またはその断片が検出されることは、被験体がRSV感染していることを示す。バックグラウンドレベルは、種々の方法（例えば、検出された標識分子の量を、特定の系についてあらかじめ測定した標準値と比較する）により測定することができる。

40

【0258】

50

被験体の大きさと使用されるイメージングシステムが、診断画像を作成するのに必要なイメージング部分の量を決定することは、当該分野で理解されている。ラジオアイソトープ成分の場合、ヒト被験体について、注入される放射活性の量は、 ^{99}Tc であれば通常約5～20ミリキュリーの範囲である。次に、標識した抗体または抗体断片は、それに特異的なタンパク質を含有する細胞の部位で優先的に蓄積される。in vivo腫瘍イメージングは、S.W. Burchielら、「放射標識した抗体およびその断片の免疫薬物動態」(Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer中の第13章、S.W. BurchielとB.A. Rhodes編、Masson Publishing Inc. (1982))に記載されている。

【0259】

使用される標識の種類や投与様式を含むいくつかの変数に依存して、標識分子が被験体中の部位に優先的に濃縮され、非結合標識分子がバックグランドレベルまで排除されるための投与後の時間間隔は、6～48時間または6～24時間または6～12時間である。別の実施形態において、投与後の時間間隔は、5～20日間または5～10日間である。

【0260】

ある実施形態において、RSV感染のモニタリングは、例えば、最初の診断の1月後、最初の診断の6ヶ月後、最初の診断の1年後などに、RSV感染の診断法を繰り返して実施することにより行われる。

【0261】

被験体中の標識分子の存在は、in vivoスキニングについて当該分野で公知の方法を使用して検出することができる。これらの方法は、使用される標識の種類に依存する。当業者は、特定の標識を検出するための適切な方法を決定することができるであろう。本発明の診断法で使用される方法と装置には、特に限定されないが、コンピューター断層撮影法(CT)、全身スキャン、例えば陽電子放射断層撮影法(PET)、磁気共鳴イメージング(MRI)、および超音波検査法がある。

【0262】

具体例において、分子はラジオアイソトープで標識され、放射線反応性外科装置を使用して患者中で検出される(Thurstonら、米国特許5,441,050)。別の実施形態において、分子は蛍光化合物で標識され、蛍光反応性スキニング装置を使用して患者中で検出される。別の実施形態において、分子は陽電子放射金属で標識され、陽電子放射断層撮影法を使用して患者中で検出される。さらに別の実施形態において、分子は常磁性標識で標識され、磁気共鳴イメージング(MRI)を使用して患者中で検出される。

【0263】

5.6. 抗体産生法

本発明の抗体またはその断片は、抗体の合成について当該分野で公知の任意の方法、特に化学合成または好ましくは組換え発現技術により産生することができる。

【0264】

RSV抗原に対するポリクローナル抗体は、当該分野で周知の種々の方法により産生することができる。例えば、RSV抗原を、種々の宿主動物(例えば、特に限定されないが、ウサギ、マウス、ラットなど)に投与して、RSV抗原に特異的なポリクローナル抗体を含有する血清の産生を誘導することができる。宿主生物種に依存して、免疫応答を増大させるのに種々のアジュバントが使用され、特に限定されないが、フロイント(完全および不完全アジュバント)、ミネラルゲル(例えば、水酸化アルミニウム)、界面活性剤(例えば、リソレシチン)、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油エマルジョン、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、および有用な可能性のあるヒトアジュバント、例えばBCG(カルメット-ゲラン菌)およびコリネバクテリウム・パルブム(*Corynebacterium parvum*)がある。このようなアジュバントもまた、当該分野で周知である。

【0265】

モノクローナル抗体は、当該分野で公知の広範囲の技術(例えば、ハイブリドーマ法、組換え法、ファージディスプレイ法、またはこれらの組合せの使用)を使用して、製造す

10

20

30

40

50

ることができる。例えば、モノクローナル抗体は、当該分野で公知の技術、例えばHarlowら、Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版、1988) ; Hammerlingら、Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981) (これらの文献は、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)に記載の技術等のハイブリドーマ法を使用して、産生することができる。本明細書において「モノクローナル抗体」という用語は、ハイブリドーマ法により産生される抗体に限定されない。「モノクローナル抗体」という用語は、単一のクローン(任意の真核生物クローン、原核生物クローン、またはファージクローンを含む)から得られる抗体を意味し、それが産生される方法を意味するものではない。

【0266】

ハイブリドーマ技術を使用して特異的抗体を産生しそれをスクリーニングする方法は、当該分野で慣用されており周知である。簡単に説明すると、マウスをRSV抗原で免疫し、いったん免疫応答が検出されたら(例えば、マウス血清中に、RSV抗原に特異的な抗体が検出されたら)、マウス脾臓を採取し、脾臓細胞を単離する。次に、周知の方法により、脾臓細胞を任意の適当なミエローマ細胞(例えば、ATCCから入手できる細胞株SP20由来の細胞)と融合させる。ハイブリドーマを選択し、限界希釈によりクローン化する。次に、ハイブリドーマクローンを、本発明のポリペプチドに結合することができる抗体を分泌する細胞について、当該分野で公知の方法によりアッセイする。マウスを陽性ハイブリドーマクローンで免疫することにより、一般に高レベルの抗体を含有する腹水液を生成することができる。

【0267】

従って本発明は、モノクローナル抗体の作成法と、本発明の抗体を分泌するハイブリドーマ細胞を培養することを含む方法により産生される抗体とを提供し、ここで好ましくは、そのハイブリドーマは、RSV抗原で免疫したマウスから単離した脾臓細胞をミエローマ細胞と融合して、次にRSV抗原に結合できる抗体を分泌するハイブリドーマクローンについて、融合から生じるハイブリドーマをスクリーニングすることにより作成されるものである。

【0268】

特異的RSVエピトープを認識する抗体断片は、当業者には公知の任意の方法により生成することができる。例えば、本発明のFabとF(ab')₂断片は、パパイン(Fab断片を産生するため)またはペプシン(F(ab')₂断片を産生するため)のような酵素を使用して、免疫グロブリン分子のタンパク質分解切断により生成される。F(ab')₂断片は、可変領域、軽鎖定常領域、および重鎖のCH1ドメインを含有する。さらに本発明の抗体はまた、当該分野で公知の種々のファージディスプレイ法を使用して、生成することもできる。

【0269】

ファージディスプレイ法では、これらをコードするポリヌクレオチド配列を有する機能性抗体ドメインがファージ粒子の表面にディスプレイされる。特に、VHドメインとVLドメインをコードするDNA配列は、動物cDNAライブラリー(例えば、リンパ組織のヒトまたはマウスcDNAライブラリー)から増幅される。VHドメインおよびVLドメインをコードするDNAを、PCRによりscFvリンカーと再結合して、ファージミドベクター(例えば、pCANTAB6またはpComb3HSS)中にクローン化する。ベクターを大腸菌(E. coli)中でエレクトロポレーションし、大腸菌(E. coli)にヘルパーファージを感染させる。これらの方法で使用されるファージは、典型的には、fdおよびM13を含む繊維状ファージであり、VHドメインとVLドメインは、通常、ファージ遺伝子IIIまたは遺伝子VIIIのいずれかに組換え法により融合される。目的のRSV抗原に結合する抗原結合ドメインを発現するファージは、抗原(例えば、標識抗原、または固相表面もしくはビーズに結合もしくは捕捉された抗原)を使用して、選択または同定することができる。本発明の抗体を作成するのに使用できるファージディスプレイ法の例には、Brinkmanら、1995, J. Immunol. Methods 182:41-50; Amesら、1995, J. Immunol. Methods 184:177-186; Kettleboroughら、1994, Eur. J. Immunol. 24:952-958; Persicら、1997, Gene 187:9-18; Burtonら、1994, Advances in Immu

10

20

30

40

50

nology 57:191-280 ; PCT出願 PCT/GB91/01134 ; PCT公報 W090/02809、W091/10737、W092/01047、W092/18619、W093/11236、W095/15982、W095/20401、およびW097/13844 ; および米国特許5,698,426、5,223,409、5,403,484、5,580,717、5,427,908、5,750,753、5,821,047、5,571,698、5,427,908、5,516,637、5,780,225、5,658,727、5,733,743および5,969,108 (これらのそれぞれは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる) に記載のものがある。

【 0 2 7 0 】

上記文献に記載のように、ファージ選択後、ファージから抗体コード領域を単離し、全抗体 (ヒト抗体を含む、または任意の他の所望の抗原結合断片) を生成するのに使用され、任意の所望の宿主 (哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、および細菌、例えば後述するもの) 中で発現される。Fab、Fab' および F(ab')₂断片を組換え的に産生する方法はまた、当該分野で公知の方法 (例えば、PCT公報 W092/22324 ; Mullinaxら、1992, Bio Techniques 12(6):864-869 ; Sawaiら、1995, AJRI 34:26-34 ; およびBetterら、1988, Science 240:1041-1043に開示されたような方法、これらの文献は、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる) により使用することができる。

【 0 2 7 1 】

全抗体を作成するために、VHまたはVLヌクレオチド配列、制限部位、および制限部位を保護するためのフランキング配列とを含むPCRプライマーを使用して、scFvクローン中でVHまたはVL配列を増幅することができる。当業者に公知のクローニング技術を使用して、PCR増幅したVHドメインを、VH定常領域 (例えば、ヒトガンマ4定常領域) を発現するベクター中にクローン化することができ、さらにPCR増幅したVLドメインを、VL定常領域 (例えば、ヒトカッパまたはラムダ定常領域) を発現するベクター中にクローン化することができる。好ましくは、VHまたはVLドメインを発現するベクターは、EF-1 プロモーター、分泌シグナル、そして可変ドメイン、定常ドメイン、および選択マーカー (例えば、ネオマイシン) のクローニング部位を含む。VHドメインとVLドメインはまた、必要な定常領域を発現する1つのベクター中にクローン化される。次に、当業者に公知の技術を使用して、重鎖変換ベクターと軽鎖変換ベクターを、細胞株中に同時トランスフェクションして、完全長抗体 (例えば、IgG) を発現する安定なまたは一過性細胞株を作成する。

【 0 2 7 2 】

ある用途 (ヒトでの抗体のin vivo用途、およびin vitro検出アッセイを含む) については、ヒト抗体またはキメラ抗体を使用することが好ましいかも知れない。完全なヒト抗体は、ヒト被験体の治療的処置のためには特に好ましい。ヒト免疫グロブリン配列から得られる抗体ライブラリーを使用して、上記ファージディスプレイ法を含む当該分野で公知の種々の方法により、ヒト抗体を作成することができる。また、米国特許4,444,887および4,716,111 ; およびPCT公報 W098/46645、W098/50433、W098/24893、W098/16654、W096/34096、W096/33735、およびW091/10741 (これらのそれぞれは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる) も参照されたい。

【 0 2 7 3 】

ヒト抗体はまた、機能性内因性免疫グロブリンを発現することができないがヒト免疫グロブリン遺伝子を発現することができる、トランスジェニックマウスを使用して産生することができる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子複合体は、ランダム組み換えまたは相同的組換えにより、マウス胚幹細胞中に導入される。あるいは、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子に加えて、ヒト可変領域、定常領域および多様性領域を、マウス胚幹細胞中に導入してもよい。マウス重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子は、相同的組換えによるヒト免疫グロブリン遺伝子座の導入によって、別々にまたは同時に非機能性となる。特に、J_H領域のホモ接合性欠失は内因性抗体産生を妨げる。改変された胚幹細胞を増殖させ、胚盤胞中にマイクロインジェクションして、キメラマウスを作製する。次にキメラマウスを交配して、ヒト抗体を発現するホモ接合体の子孫を作製する。選択された抗原 (例えば、本発明のポリペプチドの全体または一部) を用いる通常の方法で、トランスジェニックマウスを免疫する。従来のハイブリドーマ技術を使用して、免疫したトランスジェニ

ックマウスから、抗原に対するモノクローナル抗体を得ることができる。トランスジェニックマウスが有するヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、B細胞分化の際に再配置され、次にクラススイッチングと体細胞突然変異を受ける。すなわち、このような技術を使用して、治療的に有用なIgG、IgA、IgMおよびIgE抗体を産生することが可能である。ヒト抗体を産生するためのこの技術の概説については、LonbergとHuszar (1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93) を参照されたい。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を産生するこのような技術と、そのような抗体を産生するためのプロトコールの詳細な考察については、例えばPCT公報 W098/24893、W096/34096、およびW096/33735；および米国特許5,413,923、5,625,126、5,633,425、5,569,825、5,661,016、5,545,806、5,814,318、および5,939,598を参照されたい（これらは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。さらに、Abgenix, Inc. (Freemont, CA) とGenpharm (San Jose, CA) のような会社が、上記と類似の技術を使用して、選択された抗原に対するヒト抗体を提供している。

【0274】

キメラ抗体は、ヒト抗体由来の可変領域と非ヒト免疫グロブリン定常領域とを有する抗体のように、抗体の異なる部分が、異なる免疫グロブリン分子に由来する分子である。キメラ抗体の産生方法は、当該分野で公知である。例えば、Morrison, 1985, Science 229:1202；Oiら、1986, Bio Techniques 4:214；Gilliesら、1989, J. Immunol. Methods 125:191-202；および米国特許5,807,715、4,816,567および4,816,397を参照されたい（これらは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。ヒトからの1つ以上のCDRと非ヒト免疫グロブリン分子からのフレームワーク領域とを含むキメラ抗体を、当該分野で公知の種々の技術を使用して作製することができ、例えばCDR移植（EP239,400；PCT公報 W091/09967；および米国特許5,225,539、5,530,101、および5,585,089）、化粧張り法（veering）または付け替え法（resurfacing）（EP592,106；EP519,596；Padlan, 1991, Molecular Immunology 28(4/5):489-498；Studnickaら、1994, Protein Engineering 7(6):805-814；およびRoguskaら、1994, PNAS 91:969-973）、および鎖シャフリング（米国特許5,565,332）がある。好適な実施形態において、キメラ抗体は、表2に列挙したCDR3の任意の1つのアミノ酸配列を有するヒトCDR3と非ヒトフレームワーク領域とを含む。しばしば、抗原結合を改変し、好ましくは改良するために、フレームワーク領域中のフレームワーク残基を、CDRドナー抗体からの対応する残基で置換する。これらのフレームワーク置換を、当該分野で周知の方法により同定し、例えば、CDRとフレームワーク残基との相互作用のモデル化による抗原結合に必要なフレームワーク残基の同定と、特定の位置の異常なフレームワーク残基の同定のための配列比較によって行う（例えば、Queenら、米国特許5,585,089；およびRiechmannら、1988, Nature 332:323を参照、これらは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0275】

さらに、本発明の抗体を使用して、次いで、当業者に周知の技術を用いて、RSV抗原を「模倣」する抗イディオタイプ抗体を作成することができる（例えば、GreenspanとBona、1989, FASEB J. 7(5):437-444；およびNissinoff, 1991, J. Immunol. 147(8):2429-2438を参照）。例えば、RSVに結合しその宿主細胞受容体へのRSVの結合を競合的に阻害（当該分野で周知であり前述したアッセイ法により測定される）する本発明の抗体を使用することにより、RSV抗原結合ドメインを「模倣」し、その結果RSVおよび/またはその宿主細胞受容体に結合しかつ中和する抗イディオタイプを作成することができる。そのような中和抗イディオタイプまたはそのような抗イディオタイプのFab断片は、RSVを中和する治療計画で使用することができる。例えば、そのような抗イディオタイプ抗体を使用して、RSVに結合させおよび/またはその宿主細胞受容体に結合させて、それにより感染を阻止することができる。

【0276】

5.6.1. 抗体をコードするポリヌクレオチド

本発明は、本発明の抗体またはその断片をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌク

10

20

30

40

50

レオチドを提供する。本発明はまた、本発明の抗体をコードするポリヌクレオチドに、例えば前述のような高ストリンジェンシー、中程度のストリンジェンシーまたは低ストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドも包含する。

【0277】

当該分野で公知の任意の方法により、ポリヌクレオチドが得られ、そのポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が決定され得る。抗体のアミノ酸配列が分かっている（表2に記載のように）ため、これらの抗体をコードするヌクレオチド配列は、当該分野で周知の方法を使用して決定することができ、すなわち、特定のアミノ酸をコードすることが知られているヌクレオチドコドンが、本発明の抗体またはその断片をコードする核酸を生成するように、組み立てられる。抗体をコードするそのようなポリヌクレオチドは、化学合成されたオリゴヌクレオチド（例えば、Kutmeierら、1994、Bio Techniques 17:242）から構築され、これは、簡単に説明すると、抗体をコードする配列の一部を含有する重複オリゴヌクレオチドの合成、これらのオリゴヌクレオチドのアニリングと連結、そして次に、連結したオリゴヌクレオチドのPCRによる増幅を含む。

【0278】

あるいは、適当な供給源の核酸から、抗体をコードするポリヌクレオチドを作成してもよい。特定の抗体をコードする核酸を含有するクローンを入手できず、しかしその抗体分子の配列はわかっている場合には、その免疫グロブリンをコードする核酸を、化学的に合成するか、またはその配列の3'末端と5'末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用してPCR増幅により、適当な供給源（例えば、抗体cDNAライブラリー、あるいは本発明の抗体を発現するように選択されたハイブリドーマ細胞のような、抗体を発現する任意の組織もしくは細胞から作成されるcDNAライブラリー、または単離される核酸（好ましくはポリA+RNA））から、特定の遺伝子配列に特異的なポリヌクレオチドプローブを使用してクローニングして、例えば抗体をコードするcDNAライブラリーからcDNAクローンを同定することにより、得ることができる。次に、PCRにより作成された増幅核酸を、当該分野で周知の任意の方法により、複製可能なクローニングベクター中にクローニングしてもよい。

【0279】

いったん抗体のヌクレオチド配列が決定されると、その抗体のヌクレオチド配列を、ヌクレオチド配列の操作のための当該分野で周知の方法（例えば組換えDNA技術、部位特異的突然変異誘発、PCRなど（例えば、Sambrookら、1990、Molecular Cloning, A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory、コールドスプリングハーバー（Cold Spring Harbor）、NY、およびAusubelら、1998、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons、NYを参照、これらは、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）を使用して操作して、例えばアミノ酸置換、欠失、および/または挿入を作成して、異なるアミノ酸配列を有する抗体を形成してもよい。

【0280】

具体例において、ルーチンの組換えDNA技術を使用して、1つ以上のCDRがフレームワーク領域内に挿入される。フレームワーク領域は、天然に存在するかまたは共通のフレームワーク領域であり、好ましくはヒトフレームワーク領域である（例えば、ヒトフレームワーク領域のリストについては、Chothiaら、1998、J. Mol. Biol. 278:457-479を参照）。好ましくは、フレームワーク領域とCDRの組合せにより作成されるポリヌクレオチドは、RSV抗原に特異的に結合する抗体をコードする。上記したように、好ましくは、フレームワーク領域内に1つ以上のアミノ酸置換が作成され、さらに好ましくはそのアミノ酸置換は、抗原への抗体の結合を改良するものである。さらにそのような方法を使用して、鎖内ジスルフィド結合に参加する1つ以上の可変領域システイン残基のアミノ酸置換または欠失を作成して、1つ以上の鎖内ジスルフィド結合が欠失した抗体分子を形成してもよい。ポリヌクレオチドに対する他の変更は、本発明に包含され、それは当業者の技術の範囲内にある。

【 0 2 8 1 】

5.6.2. 抗体の組換え発現

本発明の抗体、その誘導体または類似体（例えば、本発明の抗体の重鎖もしくは軽鎖、またはこれらの一部、あるいは本発明の1本鎖抗体）の組換え発現には、該抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構築が必要である。本発明の抗体分子または抗体の重鎖もしくは軽鎖、あるいはその一部（必須ではないが、好ましくは、重鎖または軽鎖の可変ドメインを含有する）をコードするポリヌクレオチドがいったん得られると、その抗体分子の産生のためのベクターを、当該分野で周知の技術を使用して組換えDNA技術により産生することができる。このように、抗体をコードするヌクレオチド配列を含有するポリヌクレオチドを発現することによりタンパク質を製造する方法は、本明細書に記載されている。抗体をコードする配列と適当な転写および翻訳調節シグナルとを含有する発現ベクターを構築するのに、当該分野で周知の方法を使用することができる。これらの方法には、例えば、*in vitro*組換えDNA技術、合成法、および*in vivo*遺伝子組換えがある。このように、本発明は、プロモーターに機能できる形で連結した、本発明の抗体分子、抗体の重鎖もしくは軽鎖、抗体の重鎖もしくは軽鎖可変ドメインまたはその一部、あるいは重鎖もしくは軽鎖CDRをコードするヌクレオチド配列を含む、複製可能なベクターを提供する。そのようなベクターは、抗体分子の定常領域をコードするヌクレオチド配列を含有し（例えば、PCT公報 W086/05807；PCT公報 W089/01036；および米国特許5,122,464を参照）、抗体の可変ドメインは、全重鎖、全軽鎖、または全重鎖と全軽鎖の両方の発現のために、そのようなベクター中にクローン化してもよい。

【 0 2 8 2 】

発現ベクターは、従来法により宿主細胞中に導入され、次に、トランスフェクションされた細胞は、本発明の抗体を産生するために従来法により培養される。こうして本発明は、異種プロモーターに機能できる形で連結した、本発明の抗体もしくはその断片、その重鎖もしくは軽鎖またはその一部、あるいは本発明の1本鎖抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する宿主細胞を含む。2本鎖抗体の発現のための好適な実施形態において、重鎖と軽鎖の両方をコードするベクターが、後述のように免疫グロブリン分子全体の発現のために宿主細胞中で同時発現される。

【 0 2 8 3 】

本発明の抗体分子を発現するのに、種々の宿主発現ベクター系が使用される（例えば、米国特許5,807,715を参照）。そのような宿主発現系は、目的のコード配列を生成し次いで精製するのに用いる運搬体であるが、同時に、適当なヌクレオチドコード配列により形質転換またはトランスフェクションされると、本発明の抗体分子を*in situ*で発現する細胞でもある。これらには、特に限定されないが、抗体コード配列を含有する組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNAまたはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌（例えば、大腸菌（*E. coli*）および枯草菌（*B. subtilis*））；抗体コード配列を含有する組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（例えば、サッカロミセス・ピキア（*Saccharomyces Pichia*））；抗体コード配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）が感染した昆虫細胞系；組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）が感染したかまたは抗体コード配列を含有する組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Tiプラスミド）で形質転換された植物細胞系；哺乳動物細胞のゲノムから得られるプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）または哺乳動物ウイルスから得られるプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター）を含有する組換え発現構築体を有する哺乳動物細胞系（例えば、COS、CHO、BHK、293、NS0、および3T3細胞）がある。好ましくは、大腸菌（*E. coli*）のような細菌細胞、およびさらに好ましくは真核細胞（特に組換え抗体分子全体の発現のために）が、組換え抗体分子の発現のために使用される。例えば、ヒトサイトメガロウイルスからの主要中初期遺伝子プロモーターエレメントのようなベクターと組合せた、チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）のような哺乳動物細胞は、抗体の有効な発現系である（Foeckingら、1986、Gene 45

:101 ; およびCockettら、1990, Bio/Technology 8:2)。具体例において、1つ以上のRSV抗原に免疫特異的に結合する抗体またはその断片をコードするヌクレオチド配列の発現は、構成性プロモーター、誘導プロモーター、または組織特異的プロモーターにより制御される。

【0284】

細菌系では、発現される抗体分子の使用目的に依存して、多くの発現ベクターが有利に選択される。例えば、抗体分子の医薬組成物の製造のために、多量のそのようなタンパク質を産生しようとする場合、容易に精製される高レベルの融合タンパク質産物の発現を指令するベクターが好ましい。そのようなベクターには、特に限定されないが、大腸菌 (*E. coli*) 発現ベクターpUR278 (Rutherら、1983, EMBO 12:1791) であって、その抗体コード配列は、ベクターにlacZコード領域とのイン・フレームで別個に連結されて、その結果融合タンパク質が産生されるようにしたもの ; pINベクター (Inouye & Inoue、1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109 ; VAn Heeke & Schuster, 1989, J. Biol. Chem. 24:5503-5509)、などがある。pGEXベクターもまた、グルタチオンS-トランスフェラーゼ (GST) との融合タンパク質として外来ポリペプチドを発現するのに使用される。一般にそのような融合タンパク質は可溶性であり、そして、マトリックスグルタチオンアガロースビーズへの吸着と結合、および続いての遊離グルタチオンの存在下での溶出により、溶解細胞から容易に精製することができる。pGEXベクターは、トロニンまたは第Xa因子プロテアーゼ切断部位を含むように設計され、その結果クローン化された標的遺伝子産物を、GST成分から切り離すことができる。

【0285】

昆虫系では、外来遺伝子を発現するためのベクターとして、オートグラファ・カリホルニア (*Autographa californica*) 核多角体病ウイルス (AcNPV) が使用される。このウイルスは、スポドプテラ・フルギペルダ (*Spodoptera frugiperda*) 細胞中で増殖する。抗体コード配列を、個別にウイルスの非必須領域 (例えば、ポリヘドリン遺伝子) 中に別個にクローン化し、AcNPVプロモーター (例えばポリヘドリンプロモーター) の制御下に置くことができる。

【0286】

哺乳動物宿主細胞では、多くのウイルスベースの発現系が使用される。アデノウイルスが発現ベクターとして使用される場合は、目的の抗体コード配列は、アデノウイルス転写 / 翻訳制御複合体 (例えば、後期プロモーターおよび三連リーダー配列) に連結してもよい。次に、このキメラ遺伝子は、*in vitro* または *in vivo* 組換えによりアデノウイルスゲノム中に挿入される。ウイルスゲノムの非必須領域 (例えば、領域E1またはE3) への挿入により、組換えウイルスが得られ、これは、生存活性があり、感染宿主中で抗体分子を発現することができる (例えば、Logan & Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359を参照)。挿入された抗体コード配列の効率的な翻訳のために、特異的開始シグナルも必要でありうる。これらのシグナルには、ATG開始コドンと隣接配列がある。さらに開始コドンは、インサート全体の翻訳を確保するために、所望のコード配列の読み枠と同期していなければならない。これらの外来性翻訳制御シグナルおよび開始コドンは、種々の起源 (天然と合成の両方) のものであってよい。発現の効率は、適切な転写エンハンサーエレメント、転写ターミネーターなどを含めることにより増強される (例えば、Bittnerら、1987, Methods in Enzymol. 153:51-544)。

【0287】

さらに、挿入された配列の発現を調節し、所望の特定の方法で遺伝子産物を修飾しプロセシングする宿主細胞株が選択されうる。タンパク質産物のそのような修飾 (例えば、グリコシル化) およびプロセシング (例えば、切断) は、タンパク質の機能にとって重要である。異なる宿主細胞は、タンパク質および遺伝子産物の翻訳後プロセシングと修飾のための特徴的かつ特異的な機構を有する。発現される外来タンパク質の正しい修飾とプロセシングを確保するために、適切な細胞株または宿主系を選択することができる。このために、一次転写物の正しいプロセシング、遺伝子産物のグリコシル化およびリン酸化のため

の細胞機構を有する真核生物宿主細胞が使用されうる。そのような哺乳動物宿主細胞には、特に限定されないが、CHO、VERY、BHK、Hela、COS、MDCK、293、3T3、W138、BT483、Hs 578T、HTB2、BT20、およびT47D、NS0（いかなる免疫グロブリン鎖も内因的に産生しないマウスミエローマ細胞株）、CRL7030およびHsS78Bst細胞がある。

【0288】

組換えタンパク質を長期にわたり高収率で産生するために、安定な発現が好ましい。例えば、抗体分子を安定に発現する細胞株を遺伝子工学的に作製してもよい。ウイルスの複製開始点を含む発現ベクターを使用する代わりに、適切な発現制御エレメント（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位など）により制御されるDNAおよび選択マーカーを用いて、宿主細胞を形質転換してもよい。外来DNAの導入後に、作成した細胞を、富化培地中で1～2日間増殖させ、次に選択培地に切り換える。組換えプラスミド中の選択マーカーは、選択に対する耐性を与え、細胞がプラスミドをその染色体内に安定に組み込んで、増殖して細胞増殖巣を形成することを可能にし、そして、その細胞は次に、クローン化され、細胞株へと増殖させることができる。この方法は、抗体分子を発現する細胞株を作成するのに、有利に使用される。このように作成された細胞株は、抗体分子と直接または間接に相互作用する組成物のスクリーニングと評価に、特に有用である。

【0289】

多くの選択系が使用され、特に限定されないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Wiglerら、1977, Cell 11:223）、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Szybalska & Szybalski, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202）、およびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Lowyら、1980, Cell 22:8-17）遺伝子が挙げられるが、それらはそれぞれtk-、hgprrt-、またはaprt-細胞中で使用することができる。また代謝拮抗物質耐性を、以下の遺伝子に対する選択の基礎として利用することができる：メトトレキサートに対する耐性を付与するdhfr（Wiglerら、1980, Natl. Acad. Sci. USA 77:357；O'Hareら、1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527）；ニコフェノール酸に対する耐性を付与するgpt（Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072）；アミノグリコシドG-418に対する耐性を付与するneo（WuとWu, 1991, Biotechnology, 3:87-95；Tlstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596；Mulligan, 1993, Science 260:926-932；およびMorganとAnderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217；May, 1993, TIB TECH 11(5):155-215）；およびハイグロマイシンに対する耐性を付与するhygro（Santerreら、1984, Gene:30:147）。所望の組換えクローンを選択するのに、組換えDNA技術の分野で一般的に知られている方法をルーチンに適用してもよく、そのような方法は、例えばAusubelら（編）、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)；Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)；および第12章と第13章、Dracopoliら（編）、Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994)；Colberre-Garapinら、1981, J. Mol. Biol. 150:1、これらは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0290】

抗体分子の発現レベルは、ベクター増幅により増大させることができる（総説については、BebbingtonとHentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3（アカデミックプレス（Academic Press）、ニューヨーク、1987）を参照）。抗体を発現するベクター系中のマーカーが増幅可能な時、宿主細胞の培養物中に存在するインヒビターのレベルの増加は、マーカー遺伝子のコピー数を増加させる。増幅された領域は抗体遺伝子を伴うため、抗体の産生も増加するであろう（Crouseら、1983, Mol. Cell. Biol. 3:257）。

【0291】

宿主細胞は、本発明の2つの発現ベクター（重鎖由来のポリペプチドをコードする第1のベクターと、軽鎖由来のポリペプチドをコードする第2のベクター）を用いて同時トラ

ンスフェクションしてもよい。この2つのベクターは、重鎖および軽鎖ポリペプチドの同等な発現を可能にする同一の選択マーカ含有してもよい。あるいは、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方をコードし、かつこれを発現することができる単一のベクターを使用してもよい。そのような状況において、有害な遊離の重鎖が過剰になるのを避けるために、軽鎖を重鎖の前に配列するべきである (Proudfoot, 1986, Nature 322:52; および Kohler, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:2197)。重鎖と軽鎖のコード配列は、cDNA またはゲノムDNAを含有してもよい。

【0292】

本発明の抗体分子がいったん組換え発現により産生されると、これは、免疫グロブリン分子の精製について当該分野で公知の任意の方法、例えばクロマトグラフィー (例えば、イオン交換、アフィニティ、特にプロテインA処理後の特異的抗原のアフィニティによるもの、およびサイズカラムクロマトグラフィー)、遠心分離、示差的溶解度により、またはタンパク質の精製のための他の任意の標準的方法により精製される。さらに本発明の抗体またはその断片は、精製を容易にするために、本明細書に記載のまたは当該分野で公知の他の異種ポリペプチド配列に融合させてもよい。

【0293】

5.7. キット

本発明はまた、本発明の医薬組成物の1つ以上の成分を充填した1つ以上の容器を含む医薬パックまたはキットを提供する。そのような容器には、場合により、医薬品または生物学的製剤の製造、使用または販売を規制する政府機関により定められた様式の注意書 (この注意書は、ヒトへの投与のための製造、使用または販売についてのその機関の認可を示すものである) が添付されていてもよい。

【0294】

本発明は、上記方法で利用できるキットを提供する。ある実施形態において、キットは、1つ以上の容器中に本発明の抗体、好ましくは精製抗体を含む。別の実施形態においてキットは、RSV抗原に免疫特異的に結合する抗体断片を含む。具体例において、本発明のキットは、対照として実質的に単離されたRSV抗原を含有する。好ましくは本発明のキットは、RSV抗原と反応しない対照抗体をさらに含む。別の具体例において、本発明のキットは、RSV抗原への抗体の結合を検出するための手段を含有する (例えば、蛍光化合物、酵素基質、放射性化合物または発光化合物のような検出可能な基質にコンジュゲートしてもよく、または一次抗体を認識する二次抗体が、検出可能な基質にコンジュゲートしてもよい)。具体例において、キットは、組換え法で産生されたかまたは化学合成されたRSV抗原を含んでよい。キット中に提供されるRSV抗原はまた、固体支持体に結合されていてもよい。さらなる具体例において、上記キットの検出手段は、RSV抗原が結合した固体支持体を含む。そのようなキットはまた、非結合レポーター標識抗ヒト抗体を含む。この実施形態において、RSV抗原への抗体の結合は、該レポーター標識抗体の結合により検出することができる。

【0295】

別の実施形態において本発明は、RSV抗原を含有する血清のスクリーニングに使用される診断キットを含む。この診断キットは、RSV抗原と特異的に免疫反応する実質的に単離された抗体と、その抗体へのRSV抗原の結合を検出するための手段とを含む。ある実施形態において、抗体は固体支持体に結合している。具体例において、その抗体はモノクローナル抗体でもよい。キットの検出手段は、第2の標識モノクローナル抗体を含有してもよい。あるいは、またはそれに加えて、検出手段は、標識された競合性抗原を含有してもよい。

【0296】

ある診断的構成において、試験血清は、本発明の方法により得られた表面結合RSV抗原を有する固相試薬と反応させられる。RSV抗原が特異的抗体に結合した後、非結合血清成分を洗浄により除去し、レポーター標識抗ヒト抗体を加え、非結合抗ヒト抗体を洗浄により除去し、試薬をレポーター標識抗ヒト抗体と反応させて、固体支持体上に結合した抗RS

V抗原抗体の量に比例してその試薬にレポーターを結合させる。典型的には、レポーターは酵素であり、これは、適当な蛍光、発光または比色基質（シグマ（Sigma）、セントルイス、ミズーリ州）の存在下で、固相をインキュベートすることにより検出される。

【0297】

上記アッセイにおける固相表面試薬は、固相材料（例えば、ポリマービーズ、ディップスティック、96ウェルプレート、またはフィルター材料）に、タンパク質材料を結合させるための公知の技術により製造される。これらの結合法は一般に、支持体へのタンパク質の非特異的吸着、または固体支持体上の化学的反応性基（例えば、活性化カルボキシル基、ヒドロキシル基、またはアルデヒド基）への、通常は遊離のアミン基を介するタンパク質の共有結合を含む。あるいは、ストレプトアビジン被覆プレートを、ビオチン化抗原とともに使用することができる。

10

【0298】

このように本発明は、この診断法を実施するためのアッセイ系またはキットを提供する。キットは一般に、表面結合組換えRSV抗原を有する支持体、および表面結合抗RSV抗原抗体を検出するためのレポーター標識抗ヒト抗体を含む。

【実施例】

【0299】

6. 実施例：BIAcore（商標名）によるヒト化RSVモノクローナル抗体の速度論解析

典型的な速度論研究では、0.05% Tween-20を含有するPBSバッファー（PBS/Tween）中の種々の濃度（25～300nM）の250 μ lのモノクローナル抗体（「Mab」）を注入することを含んだ。流速を75 μ l/分で維持して、15分の解離時間を与えた。Mabの注入後、解離速度を測定するために、流れ液をPBS/Tweenバッファーと30分間交換した。センサーチップを、100mM HClの1分パルスのサイクル間で再生した。再生工程により、固定化F-タンパク質の結合能力のわずかな喪失が起きた（1サイクルにつき4%の喪失）。この小さな減少は、結合と解離の速度定数（それぞれ、 k_{on} と k_{off} とも呼ぶ）の計算値を変化させることはなかった。

20

【0300】

さらに具体的には、 k_{assoc} （または k_{on} ）の測定のために、Fタンパク質を、EDC/NHS法により直接固定化した（EDC=N-エチル-N'-[3-ジエチルアミノプロピル]-カルボジイミド）。簡単に説明すると、10mM NaOAc（pH5.0）中の25mg/mlのFタンパク質を調製し、約5～10 μ lの注入は、上記の参照条件下で約30～50RU（応答単位）の固定化Fタンパク質を与える。速度論解析のためにブランクを引いた。100mM HClを使用してカラムを再生できた（完全な再生には60秒の接触時間が必要である）。この処理は、固定化抗原を損傷することなく結合Fabを完全に除去し、40回を超える再生で使うことができた。 k_{on} 測定のために、Fab濃度は、0.39nM、0.75nM、1.56nM、3.13nM、12.5nM、25nM、50nM、および100nMであった。解離相を、約900秒間解析した。速度論は、1：1ラングミュア適合（全体適合）により解析した。測定は、HBS-EPバッファー（10mM HEPES、pH7.4、150mM NaCl、3mM EDTA、0.005%（v/v）界面活性剤P20）で行った。

30

【0301】

本明細書に開示のようにコンビナトリアルクロンの測定のために、 k_{on} と k_{off} を別々に測定した。 k_{on} は、単一突然変異クロンと同じ条件で測定し、同様に解析した。

40

【0302】

k_{off} の測定のために、以下の条件を使用した。簡単に説明すると、4100RUのFタンパク質を、ブランクとして使用したCM-デキストランで固定化（上記）した。ここで、3000RUのFabが結合した（解離したFabは、機械の変動をうち消すのに充分高かった）。HBS + 5nM Fタンパク質（ K_d - 解離平衡定数より約350～2000倍高い）を、バッファーとして使用した。解離相は、流速5ml/分で6～15時間であった。ここで使用した条件下で、解離したFabの再結合は最小であった。さらなる詳細については、バイオセンサーのマニュアルを参照されたい。

【0303】

50

本明細書に開示したFタンパク質またはRSV上の他のエピトープ部位への高親和性抗RSV抗体の結合は、解離の1次速度定数と、結合または会合の2次速度定数の比から計算した ($K_d = k_{off}/k_{on}$)。 k_{on} の値は、以下の速度式に基づいて計算した：

$$dR/dt = k_{on}[Mab]R_{max} - (k_{on}[Mab] + k_{off})R$$

式中、Rと R_{max} は、それぞれ時間tと無限大における応答単位である。Rの関数としての dr/dt のプロットは、傾き ($k_a[Mab] + k_d$) を与える。これらの傾きは[Mab]に線形に比例するため、傾き対[Mab]の再プロットから、 k_{on} の値を導くことができる。新しい直線の傾きは、 k_{on} に等しい。 k_{off} の値はY切片から外挿できるが、より正確な値は、 k_{off} の直接測定により決定された。Mabの注入相の後に、PBS/Tweenバッファはセンサーチップと通過して流れる。この点から、[Mab]=0。従って dR/dt についての上記式は、以下のように還元する：

$$dr/dt = -k_{off}R \quad \text{または} \quad dR/R = -k_{off}dt$$

次いでこの式を積分すると、以下のようになる：

$$\ln(R_0/R_t) = k_{off}t$$

式中、(R_0/R_t)は、それぞれ時間0（解離相の開始点）とtにおける応答単位である。最後に、 $\ln(R_0/R_t)$ をtの関数としてプロットすると、 k_{off} の傾きが得られる。

【0304】

このような抗体変異体の数値は、以下の表4～7に示すとおりであった。

【表4】

表4．高力価抗体の速度論定数の要約

抗体	$K_{on} \times 10^5 (M^{-1}s^{-1})$	$K_{off} \times 10^4 (s^{-1})$	$EC_{50} (nM)$
**SYNAGIS®	2.04; 1.89; 2.18	7.64; 7.38; 7.02	3.57
**AFFF	1.08; 0.96; 1.24	2.74; 2.66; 2.06	
*1X-493L1FR	1.85	6.5	
*H3-3F4	4.59; 4.67; 5.72; 6.25; 5.33	4.45; 4.02	
*M3H9	6.05	3.38	
*Y10H6	7.57	4.62	
*DG	2.65; 2.83; 4.16; 3.18; 2.88	1.67; 4.44	

10

20

30

*AFFF	2.12; 1.56; 1.86	2.45; 4.46; 2.68	
*6H8	3.14; 4.44	1.78; 4.73	
*L1-7E5	3.29; 3.57; 4.05; 3.35; 4.26	1.92; 3.31; 2.29	
*L2-15B10	3.69; 2.82; 3.12; 5.33; 3.78	1.34; 4.16; 2.70	
*P12f2	6.63	2.82	0.65
*P12f4	5.27	2.99	0.70
*P11d4	5.70; 5.72	7.17	>20
*A1e9	7.9	4.53	2.5
*A12a6	7.43	2.30	0.62
*A13a11	7.35	2.50	2.04
*A13c4	7.81; 7.35	2.80	0.52

10

20

【 0 3 0 5 】

【 表 5 】

表 5.

モノクローナル抗体 対 Bac-F (1:1)

	K_{on} (x E+5)	K_{off} (x E-5)	K_D (nM)	Chi2
P12f2	4.07	12.8	0.31 (13)	0.9
P12f4	4.95	5.55	0.11 (35)	0.6
A13c4	3.00	3.96	0.13 (30)	1.2
A12a6	4.60	1.65	0.04 (98)	1.2
A1e9	4.33	14.3	0.33 (12)	2.5
A8c7	4.17	8.75	0.21 (19)	1.8
P11d4	4.66	28.9	0.62 (6)	1.0
A17d4	4.56	4.07	0.09 (43)	0.5
A4B4	4.34	1.06	0.02 (195)	1.5
SYNAGIS®	1.32	51.5	3.90 (1)	0.6

30

40

【 0 3 0 6 】

【表 6】

表 6.

モノクローナル抗体 対 NUF4 (1:1)

	K_{on} (x E+5)	K_{off} (x E-5)	K_D (nM)	Chi2
P12f2	5.41	17.8	0.33 (26)	1.2
P12f4	9.43	22.9	0.24 (36)	0.9
A13c4	3.65	27.2	0.75 (12)	1.8
A12a6	4.00	29.1	0.73 (12)	1.9
A1e9	8.43	58.4	0.69 (13)	0.9
A8c7	8.25	53.5	0.65 (13)	0.7
P11d4	9.04	76.6	0.85 (10)	2.5
A17d4	4.99	36.2	0.73 (12)	2.0
A4B4	4.96	28.2	0.57 (15)	1.9
SYNAGIS®	3.04	265	8.70 (1)	0.4

10

【 0 3 0 7 】

20

【表 7】

表 7.

モノクローナル抗体 対 NUF4 (2:1)

	K_{on} (x E+5)	K_{off} (x E-5)	K_D (nM)	Chi2
P12f2	2.82	23.6	0.84 (371)	1.5
P12f4	2.73	63.6	2.33 (134)	4.9
A13c4	3.20	22.5	0.70 (446)	1.7
A12a6	2.18	40.8	1.87 (167)	1.9
A1e9	3.29	139	4.22 (74)	2.8
A8c7	4.30	114	2.65 (118)	2.0
P11d4	3.66	313	8.55 (36)	3.6
A17d4	2.64	29.2	1.11 (281)	1.7
A4B4	2.03	40.06	2.00 (156)	1.4
SYNAGIS®	0.78	2420	312 (1)	1.3

30

【 0 3 0 8 】

1X-493L1FR、H3-3F4、M3H9、Y10H6、DG、AFFF、6H8、L1-7E5、L2-15B10、P12f2、P12f4、P11d4、A1e9、A12a6、A13a11、およびA13c4は、図1のフレームワーク配列と表2に示して挙げた、示されたCDR配列を有するFab断片である。SYNAGISとAFFFは、図1のフレームワーク配列と、Johnsonら(1997, Journal of Infectious Diseases 176:1215-1224)と米国特許第5,824,307号に記載の定常領域を有する実際のモノクローナル抗体である。これらの抗体のフレームワーク配列は、Fab断片のものとは少し異なりうる。

40

【 0 3 0 9 】

表1に示されたCDRのアミノ酸配列は、本明細書と同時係属出願第60/168,426号と第60/186,252号に記載の方法により産生された、高力価抗体のCDR内の重要な位置に位置するアミノ酸残基を示す。例えば、より高い k_{on} 値を生成して抗体の力価を上昇させるために、参照抗体について表1中の太字で下線を引いた残基が教示する重要な位置に位置するアミ

50

ノ酸を、表 2 の CDR 下に挙げたアミノ酸（これも太字と下線で示す）により置換されるであろう。すなわち、これらの一文字コードは、その力価が上昇させるべき参照抗体について図 2 に示す CDR（表 2 の配列中の太字の残基）の重要な位置（または決定的に重要な位置）の参照アミノ酸を置換するアミノ酸を示す。

【 0 3 1 0 】

7. 実施例：マイクロ中和アッセイ

本発明の抗体の中和は、マイクロ中和アッセイにより測定した。このマイクロ中和アッセイは、Andersonらが記載した方法（1985, J. Clin. Microbiol. 22:1050-1052、この開示内容は、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）を改変したものである。ここで使用した方法は、Johnsonら、1999, J. Infectious Diseases 180:35-40に記載されている（この開示内容は、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。抗体希釈は、96ウェルプレートを使用して、三重で行った。10 TCID₅₀の呼吸器合胞体ウイルス(respiratory syncytial virus) (RSV-Long株)を、試験すべき抗体（または Fab）の連続希釈物と、37℃で2時間、96ウェルプレートのウェル中でインキュベートした。次に、RSV感受性HEp-2細胞（ 2.5×10^4 ）を各ウェルに加え、37℃で5%CO₂中で5日間培養した。5日後、培地を吸引し、細胞を洗浄し、80%メタノールと20%PBSでプレートに固定した。次に、RSV複製を、Fタンパク質発現により測定した。固定した細胞を、ビオチンコンジュゲート抗Fタンパク質モノクローナル抗体（pan Fタンパク質、C部位特異的Mab 133-1H）とインキュベートし、洗浄し、西洋ワサビペルオキシダーゼコンジュゲートアビジンをウェルに加えた。ウェルを再度洗浄し、基質TMB（チオニトロ安息香酸）のターンオーバーを450nmで測定した。中和力価を、ウイルスのみの対照細胞から、450nmの吸収度（OD₄₅₀）の少なくとも50%低下を引き起こした抗体濃度として表した。表 2 に挙げたモノクローナル抗体と Fab断片のアッセイからの結果を、上記表 4 と下記表 8 に示す。

10

20

【表 8】

表 8. 高速度突然変異体 IgG と Fab の終点 RSV マイクロ中和力価

分子	平均 IC50 (曲線) μ g/ml	STDEV 曲線 IC50	倍数の差 (曲線 ICX50)	平均 IC50 (対照) μ g/ml	STDEV 対照 IC50	倍数の差 (対照 IC50)	n (アッセイ 繰り返し)
**SYNAGIS®	0.4527	0.208	-	0.5351	0.238	-	8
**A1e9	0.0625	0.0268	7	0.0645	0.0223	8	3
**A17d4	0.0342	0.022	13	0.0354	0.0187	15	4
**P11d4	0.0217	0.0331	21	0.0289	0.0110	19	5
**P12f2	0.0231	0.0141	20	0.0223	0.0083	24	6
**A8c7	0.0337	0.0309	13	0.0383	0.0283	14	5
**A12a6	0.0357	0.0316	13	0.0354	0.0261	15	7
**P12f4	0.0242	0.0163	19	0.0235	0.0076	23	7
**A13c4	0.0376	0.0268	12	0.0375	0.0213	14	6
**A4B4	0.0171	0.0018	27	0.0154	0.00417	35	2
*A1e9	0.157	-	3	0.125	-	4	1
*A17d4	0.0179	-	25	0.0171	-	31	1
*P11d4	>1.00	-	-	>1.00	-	-	1
*P12f2	0.0407	0.0112	11	0.0326	0.00905	16	2
*A8c7	0.177	-	3	0.157	-	34	1
*A12a6	0.0287	0.00417	16	0.0310	0.00982	17	2

10

20

30

40

*P12f4	0.0464	0.00791	10	0.0351	0.0126	15	2
*A13c4	0.0264	0.00141	17	0.0258	0.00071	21	2
*A4B4	0.0414	-	11	0.0411	-	13	1
*A13a11	0.120	0.0222	4	0.1022	0.0260	5	2
*A1h5	0.194	0.462	2	0.176	0.0625	3	2

** モノクローナル抗体

* Fab断片

【0311】

8. 実施例：RSV融合阻害アッセイ

細胞にウイルスが結合後、RSV誘導性の融合を本発明の抗体またはその断片が阻止する能力は、融合阻害アッセイで測定される。このアッセイは、マイクロ中和アッセイと同じであるが、細胞は、抗体を加える前に4時間RSV(Long)で感染させた(Taylorら、1992, J. Gen. Virol. 73:2217-2223)。

【0312】

9. 実施例：等温滴定熱量測定

熱力学的結合親和性とエンタルピーを、抗体と、RSV F糖タンパク質(NUF4)(RSVウイルスの結合部位を模倣する抗原)との相互作用について、等温滴定熱量測定(ITC)値から決定した。

【0313】

方法と材料

抗体と抗原

A13c4、A17d4、A4B4、およびSYNAGIS(登録商標)を、透析液で希釈し、濃度を、パーキンエルマー(Perkin Elmer) Lambda 4B分光光度計を用いて、280nmでの最大ピークの217,000M⁻¹cm⁻¹の吸光係数を使用して、UV分光吸収測定により測定した。吸光係数は、多量のサンプルを使用せずに正確な濃度を測定するには小さすぎるため、希釈したNUF4濃度は、元々のサンプルの量と希釈したサンプルの量の比から計算した。

【0314】

ITC測定

抗体の結合熱力学を、Microcal, Inc.のVP Titration Calorimeterを使用して、ITC測定により測定した。VP titration calorimeterは、断熱容器中に封入した対応した対のサンプル容器と参照容器(1.409ml)と、サンプル容器中にリガンド溶液を滴定するための回転スターラー-シリンジからなる。ITC測定は、25 と35 で行った。サンプル容器は、リン酸バッファー中に抗体を含有し、一方参照容器はバッファー溶液のみを含有した。リン酸バッファー溶液は、HyClone, Inc.の生理食塩水67mM PO₄ (pH7.4)であった。5もしくは10μlアリコートの0.05~0.1mM NUF4溶液を、抗体サンプル溶液中に3~4分間隔で、結合が飽和して熱交換シグナルが無くなって明らかになるまで、滴定した。一部の抗体サンプル溶液については、抗体の結合飽和後に、各アリコートの添加により追加の一定熱量が観察された。これは、NUF4滴定物の希釈の熱によるものであり、データの解析前に、滴定中に得られた滴定熱から引いた。

【0315】

Microcal, Inc.製の非線形、最小自乗最小化ソフトウェアプログラムOrigin5.0を使用して、以下の式(1)に従って、総熱Q_tのi番目の滴定(Q(i))の熱の増分を、総滴定濃

10

20

30

40

50

度 X_t に適合させ、

$$Q_t = nC_t - H_b \cdot V \{ 1 + X_t / nC_t + 1 / nK_b C_t - [(1 + X_t / nC_t + 1 / nK_b C_t)^2 - 4X_t / nC_t]^{1/2} \} / 2 \quad (1a)$$

$$Q(i) = Q(i) + dVi / 2V \{ Q(i) + Q(i-1) \} - Q(i-1) \quad (1b)$$

(式中、 C_t はサンプル容器中の初期抗体濃度、 V はサンプル容器の容量、そして n は結合反応の化学量論量である)、 K_b 、 H_b 、および n を得た。 K_b の測定のためのサンプル濃度の最適範囲は、 K_b の値に依存し、以下の関係により定義される。

【0316】

$$C_t K_b n < 500 \quad (2)$$

従って、 $1 \mu M$ では、測定可能な最大 K_b は、 $2.5 \times 10^8 M^{-1}$ 未満である。最初の滴定添加が結合等温線に適合しない場合、シリンジ開口部 - 溶液界面での気泡の放出を反映しているかもしれないため、これは最終解析では無視した。

【0317】

結果

ITC結果を表9に要約する。表9で2化学量論量より大きい値は、抗体またはNUF4の濃度測定が正しくないことを示す。同じNUF4サンプルを、35 でA13c4および35 でA17d4のアミノ酸配列を有する抗体とともに滴定物として使用したため（これは、滴定の少なくとも1つで正しい化学量論量2を示す）、滴定物濃度は正しく、 n の大きな値は、間違っ

測定された抗体濃度から得られると仮定される。しかし、結合定数は、滴定物濃度に決定的に依存し、従って、 n の2～3の不一致にもかかわらず、結合定数は正しいことを示すことができる。25 でA4B4とA13c4のアミノ酸配列を有する抗体の結合定数は、ITC（式2）による測定上限に近く、利用可能なNUF4の量が制限されているため、結合親和性を含むための参照温度として35 を使用することに決定した。表9に要約した結果は、NUF4に対する結合親和性が、A4B4 > A13c4 > A17d4 > SYNAGIS（登録商標）の順であることを示す。

【表9】

表9. NUF4の抗体に対する平均結合定数とエンタルピー

抗体	K_b	ΔH_b (kJmol ⁻¹)
A4B4	$269 \pm 74 \times 10^6 M^{-1}$ 又は約 3.7nM*	92.8 ± 1.0
A13c4	$107 \pm 28 \times 10^6 M^{-1}$ 又は 9nM	67 ± 17
A17d4	$75 \pm 14 \times 10^6 M^{-1}$ 又は 13nM	68 ± 10
SYNAGIS®	$1.23 \pm 0.17 \times 10^6 M^{-1}$ 又は 810nM	71 ± 5

* 35℃で行った最良の滴定にのみ基づく。

【0318】

4.0nMは、 $1/K_b$ 範囲のITCの下限である（ITC範囲は、 $[抗体]_n K_b = 500$ に限定される（この場合、 n は化学量論量であり、 $[抗体]$ は、細胞中の抗体の濃度である））。

【0319】

10. 実施例：コトンラット予防

静脈内（IV）経路で投与された時、コトンラットの下気道RSV感染を予防するSYNAGIS（登録商標）の能力を測定するため、およびSYNAGIS（登録商標）の血清濃度を肺RSV力価の低下と相関させるために。

【0320】

材料と方法

研究III-47とIII-47Aのために、SYNAGIS（登録商標）ロットL94H048を使用した。研究II-58には、SYNAGIS（登録商標）ロットL95K016を使用した。ウシ血清アルブミン（BSA）（画分V、Sigma Chemicals）。RSV-Long（Aサブタイプ）を、Hep-2細胞中で増殖させた。

【0321】

0日に、コトナラットの群（シグモドン・ヒスピディス（*Sigmodon hispidus*）、平均体重100g）に、筋肉内注射によりSYNAGIS（登録商標）、RSV-IGIV、またはBSAを投与した。投与の24時間後、動物を出血させ、 10^5 pfuのRSVを鼻内感染させた。24時間後、動物を出血させ、 10^5 pfuのRSV（Long株）を鼻内感染させた。注射の4日後、動物を屠殺し、肺組織を採取し、肺ウイルス力価をプラーク力価測定により測定した。研究III-47とIII-47Aについて、モノクローナル抗体（「MAb」）の投与量は、0.31、0.63、1.25、2.5、5.5および10mg/kg（体重）からなった。研究III-58については、MAbの投与量は、0.63、1.25、2.5、5.5および10mg/kg（体重）からなった。すべての3つの研究で、ウシ血清アルブミン（BSA）10mg/kgを陰性対照として使用した。チャレンジ時の血清中のヒト抗体濃度は、サンドイッチELISAを用いて測定される。

10

【0322】

結果

個々の実験の結果を表10～12に示す。まとめたすべての実験の結果を表13に示す。すべての3つの研究は、SYNAGIS（登録商標）で処理した動物の肺ウイルス力価の有意な低下を示す。動物で、明瞭な用量応答作用が観察された。まとめたデータは、2.5mg/kgの投与量が、肺RSV力価の99%を超える低下を引き起こすことを示した。ウイルスチャレンジ時のこの投与量のSYNAGIS（登録商標）の平均血清濃度は、 $28.6 \mu\text{g/ml}$ であった。

【表10】

表10. 実験III-47

20

化合物	動物の数	用量	ヒト IgG の 平均±標準誤差 濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	肺ウイルス力価 幾何平均±標準誤差 ($\log_{10}\text{pfu/gm}$)
BSA	4		0	$1.4 \times 10^5 \pm 1.7$
SYNAGIS®	3	0.312mg/kg	3.83 ± 1.1	$2.1 \times 10^4 \pm 2.1$
SYNAGIS®	3	0.625mg/kg	5.27 ± 0.37	$7.7 \times 10^4 \pm 1.6$
SYNAGIS®	4	1.25mg/kg	9.15 ± 0.16	$3.4 \times 10^4 \pm 1.3$
SYNAGIS®	3	2.50mg/kg	23.4 ± 2.8	$1.4 \times 10^3 \pm 1.7$
SYNAGIS®	2	5.0mg/kg	42.4 ± 13.4	$4.6 \times 10^2 \pm 4.6$
SYNAGIS®	4	10.0mg/kg	141.1 ± 14.4	$1.0 \times 10^2 \pm 1.0$

30

【0323】

【表11】

表11. 実験III-47A

化合物	動物の数	用量	ヒト IgG の 平均±標準誤差 濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	肺ウイルス力価 幾何平均±標準誤差 ($\log_{10}\text{pfu/gm}$)
BSA	4		0	$1.9 \times 10^5 \pm 1.2$
SYNAGIS®	4	0.312mg/kg	1.8 ± 0.12	$8.5 \times 10^4 \pm 1.2$
SYNAGIS®	4	0.625mg/kg	4.0 ± 0.19	$5.0 \times 10^4 \pm 1.6$
SYNAGIS®	4	1.25mg/kg	11.8 ± 0.68	$1.9 \times 10^3 \pm 1.4$
SYNAGIS®	4	2.50mg/kg	18.9 ± 2.0	$5.3 \times 10^3 \pm 1.6$
SYNAGIS®	3	5.0mg/kg	55.6 ± 2.3	$1.6 \times 10^2 \pm 1.3$
SYNAGIS®	4	10.0mg/kg	109.7 ± 5.22	$1.0 \times 10^2 \pm 1.0$

40

【0324】

【表 1 2】

表 1 2. 実験III-58

化合物	動物の数	用量	ヒト IgG の 平均±標準誤差 濃度 (μg/ml)	肺ウイルス力価 幾何平均±標準誤差 (log10pfu/gm)
BSA	4		0	1.1x10 ⁵ ±1.2
SYNAGIS®	4	0.625mg/kg	5.78±0.32	1.6x10 ⁴ ±1.2
SYNAGIS®	4	1.25mg/kg	9.82±0.23	1.6x10 ³ ±1.3
SYNAGIS®	4	2.50mg/kg	34.1±2.11	4.3x10 ² ±1.6
SYNAGIS®	3	5.0mg/kg	58.3±4.48	1.0x10 ² ±1.0
SYNAGIS®	4	10.0mg/kg	111.5±5.04	1.0x10 ² ±1.0

10

【 0 3 2 5】

【表 1 3】

表 1 3. III-47、III-47A及びIII-58の組合せ

化合物	動物の数	用量	ヒト IgG の 平均±標準誤差 濃度 (μg/ml)	肺ウイルス力価 幾何平均±標準誤差 (log10pfu/gm)
BSA	18		0	1.3x10 ⁵ ±1.2
SYNAGIS®	7	0.312mg/kg	2.67±0.60	4.6x10 ⁴ ±1.5
SYNAGIS®	17	0.625mg/kg	5.27±0.27	2.7x10 ⁴ ±1.3
SYNAGIS®	18	1.25mg/kg	10.1±0.29	3.3x10 ³ ±1.4
SYNAGIS®	17	2.50mg/kg	28.6±2.15	9.6x10 ² ±1.5
SYNAGIS®	15	5.0mg/kg	55.6±3.43	1.3x10 ² ±1.2
SYNAGIS®	18	10.0mg/kg	117.6±5.09	1.0x10 ² ±1.0

20

【 0 3 2 6】

11. 実施例：筋肉内コトンラット研究

この実験は、A4b4、A4b4-F52S、またはA4b4/L1FR-S28Rをコトンラットに筋肉内投与する時は、同じ濃度のSYNAGIS（登録商標）をコトンラットに筋肉内投与する時より、RSV力価のより大きな低下が得られることを証明する。

30

【 0 3 2 7】

材料と方法

筋肉内コトンラット予防

コトンラット（S.ヒスピダス（S. hispidus）、平均体重100g）をメトキシフルランで麻酔し、0.1mlの精製モノクローナル抗体（MAb）またはBSA対照を筋肉内（i.m.）注射により投与した。24時間後、再度動物を麻酔し、血清MAb濃度測定のために出血させ、10⁵ pfuのRSV longを鼻内（i.n.）滴下によりチャレンジした。4日後、動物を屠殺し、血清サンプルを得て、肺を採取した。10部（wt/vol）のハンクス平衡塩溶液中で肺をホモジナイズし、生じる懸濁液を使用して、ブランクアッセイにより肺ウイルス力価を測定した。

40

【 0 3 2 8】

筋肉内コトンラット薬物動態

コトンラット（S.ヒスピダス、平均体重100g）をメトキシフルランで麻酔し、0.1mlの精製MAbまたはBSA対照を筋肉内（i.m.）注射により投与した。24時間後、すべての動物を血清MAb濃度測定のために出血させ、各群の半分の動物を屠殺して、気管支肺胞洗浄（BAL）を行った。4日後、残りの動物を屠殺し、血清サンプルを得て、BALを行った。

【 0 3 2 9】

結果

表14～16に示すように、SYNAGIS（登録商標）と等しいまたはより低い肺レベルのA4b4

50

、A4b4-F52S、またはA4b4L1/FR-S28Rで、RSV力価のより大きな低下が得られる。

【表 1 4】

表 1 4 : 筋肉内コトシラット予防データ

	0.5mg/kg				0.125mg/kg			
	血清 IgG ($\mu\text{g/ml}$)	肺 IgG ($\mu\text{g/ml}$)	ウイルス力価 (pfu/gm)	log ウイルス 力価	血清 IgG ($\mu\text{g/ml}$)	肺 IgG ($\mu\text{g/ml}$)	ウイルス力価 (pfu/gm)	log ウイルス 力価
Synagis	3.4	0.099	7.3×10^3	3.9	0.893	0.024	3.1×10^4	4.5
A4b4-F52S	2.9	0.089	7.3×10^2	2.9	0.781	0.020	8.6×10^3	3.9
A4b4/L1FR-S28R	3.3	0.093	6.1×10^2	2.8	0.748	0.016	2.3×10^4	4.4
BSA			5.9×10^4	4.8				

10

【 0 3 3 0 】

【表 1 5】

表 1 5 : 筋肉内コトシラット予防データ

分子	0.5mg/kg			log(10)	1mg/kg			log(10)
	血清 IgG $\mu\text{g/ml}$	肺 IgG $\mu\text{g/ml}$	肺 ウイルス		血清 IgG $\mu\text{g/ml}$	肺 IgG $\mu\text{g/ml}$	肺 ウイルス	
A4b4	2.4	0.013	4.3		3.1	0.094	3.4	
Synagis	1.9	0.038	4.4		4.2	0.212	3.3	
BSA								4.4

20

【 0 3 3 1 】

【表 1 6】

表 1 6 : 筋肉内コトシラット薬物動態データ

分子	24 時間		96 時間	
	血清 IgG ($\mu\text{g/ml}$)	BAL IgG (ng/ml)	血清 IgG ($\mu\text{g/ml}$)	BAL IgG (ng/ml)
A4b4	3.4	2.2	2.6	1.4
Synagis	4.1	5.3	2.8	3.5

30

【 0 3 3 2 】

12. 実施例：RSV株A/LONGのSYNAGIS（登録商標）特異的モノクローナル抗体耐性突然変異体（MARM）のin vitro単離

この実施例は、SYNAGIS（登録商標）の存在下で複数回の選択により、RSV実験室株A/Longから、MARMが単離できることを示す。

【 0 3 3 3 】

材料：

40

SYNAGIS（登録商標）（調製品：refRN1002.148）、対照Pan RSV MAbプール（Chemicon MAB858-4、3つのMAb 抗F、G、およびNタンパク質の混合物）、抗RSV A型MAb（Chemicon MAB858-1）、および抗RSV B型MAb（Chemicon MAB858-2）をこの研究で使用した。2次検出試薬は、Alexa（商標名）488コンジュゲートヤギF(ab')₂抗マウスまたはヒトIgG(H+L)であった。RSV A/Long株（ 5×10^7 TCID₅₀/ml）を、Master Virus Bank 031797から増殖させた。HEp-2細胞を、10%FBSと2mM L-Glnを補足したEMEM中で37℃で、5%CO₂環境中で増殖させた。全細胞RNAを、Promega RNAagents キットを使用して、感染HEp-2細胞から単離した。Boehringer Mannheim 1st Strand cDNA 合成キットを用いて、オリゴ(dT)プライマーを使用して、cDNAを合成した。DNA配列決定のためのFタンパク質の断片の増幅を、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）により、遺伝子特異的オリゴヌクレオチド（MR-120とM

50

R-122) およびBoehringer Mannheim High Fidelity PCRキットを使用して行った。

【0334】

方法：

MARMの選択：

24ウェルプレートの1ウェルあたり 4×10^5 HEp-2細胞を、増殖培地 (EMEM、10%FBS、2 mM L-Gln) 中に接種し、増殖条件 (37、5 %CO₂) で一晩インキュベートした。個々のMARM選択のために、40ウェルに接種した。感染の前に、master virus bank RSV A/Longの新鮮なバイアルを、37 で急速に融解し、HEp-2増殖培地でウイルス力価を 4×10^6 pfu/ml に調整した。ウイルス接種物にSYNAGIS (登録商標) を最終濃度30 µg/mlになるように加え、混合物を37 で1時間インキュベートした。RSVのアリコートが無関係のヒトIgG1 MAb (MEDI-507) とインキュベートし、陰性対照として使用した。各プレートについて、未感染対照ウェルも準備した。細胞を新鮮な培地で1回洗浄し、100 µlのRSV A/Longウイルスストック/MAb混合物 (感染多重度[m.o.i.]=4) を重層した。増殖条件下で細胞を4時間インキュベートし、次に各ウェルに1mlの増殖培地を加えた。細胞変性作用 (CPE) を、毎日光学顕微鏡でモニターした。選択の7日後、各ウェルの内容物に、さらに30 µg/mlのSYNAGIS (登録商標) または無関係のヒトIgG1 MAbを補足し、新鮮な接種したHEp-2細胞を感染するのに使用した (24ウェルプレートの1ウェルあたり 4×10^5 細胞)。さらに7日間の選択後、このプロセスを、もう一度繰り返し、全部で3回選択した。

【0335】

MARMのブランク精製：

3回目の選択後、10個の独立したウェルの内容物をランダムに選択し、MARMのブランク精製のために使用した。残りの上清を50%ショ糖溶液と1:1で混合し、直ちに-80 で凍結した。上清を、増殖培地で1:10、1:100、および1:1000で希釈し、30 µg/mlのSYNAGIS (登録商標) と1時間インキュベーション後、感染させた。60mmの丸い培養シャーレ (1×10^6 細胞/シャーレ) 中のHEp-2細胞の単層に1mlのウイルス接種物を重層し、増殖条件下で4時間インキュベートした。感染後、接種物を注意深く吸引し、細胞に、0.8%低融点アガロース (Gibco BRL) を補足し、30 µg/mlのSYNAGIS (登録商標) を含有する3mlの増殖培地を重層した。アガロースが完全に固化してから、シャーレをインキュベーターに戻し、ブランク形成を毎日モニターした。比較のために、未感染対照と野生型RSV対照プレートを準備した。5~6日後、各プレートに、50 µg/mlのニュートラルレッドを補足した増殖培地中0.8%のアガロースをさらに2ml重層した。増殖条件下で一晩インキュベーション後、ブランクをスコアし、2回目の精製のために拾い上げた。

【0336】

クローン性MARMの増幅：

2回目のブランク精製後、各分離株からの2つのクローンを、高力価ウイルスストックの産生のために拡張した。個々のブランクを、ピペットチップで拾い上げ、0.1mlの新鮮な培地中で4で一晩インキュベートして、ウイルスを溶出させた。各アリコートを使用して、平底96ウェルプレート中でHEp-2細胞 (1×10^4 細胞/ウェル) を30 µg/mlのSYNAGIS (登録商標) の存在下で感染させた。5日後、ウェルの全内容物を使用して、24ウェルプレート中でHEp-2細胞を30 µg/mlのSYNAGIS (登録商標) の存在下で感染させた。次に、各接種物を、30 µg/mlのSYNAGIS (登録商標) の存在下でT-25フラスコ (1×10^6 細胞/フラスコ) に拡張し、5mlの高力価ウイルスストックを産生した。MARMストックを、前述のように凍結した。

【0337】

Fタンパク質cDNA合成とDNA配列決定：

SYNAGIS (登録商標) のエピトープを含有すると考えられるFタンパク質遺伝子の約400ヌクレオチド領域のヌクレオチド配列を決定するために、感染4日後にMARM感染HEp-2細胞から単離した全細胞RNAを用いて、First strand cDNA合成を行った。材料の節に記載のように、DNA配列決定のためにFタンパク質の断片の増幅を行った。増幅したMARM Fタンパク質 cDNAを、フェノール/クロロホルム抽出とエタノール沈殿により精製し、遺伝子

特異的オリゴとPerkin-Elmer Cetus Big-Dye Terminator反応混合物を用いたPCR配列決定反応に使用して、関連する領域を配列決定した。

【0338】

免疫蛍光アッセイ (IFA) :

RSV分離株を感染させた細胞を、SYNAGIS (登録商標) と対照 Pan RSV MAbプールにより、以下のように抗RSV結合について試験した。4 ~ 5日のRSV感染HEp-2培養物をPBSと混合し、300 × gで室温で5分間遠心分離した。分析のために、ペレットを少量のPBSに再懸濁した。5mmウェルあたり各細胞懸濁液の5 ~ 10 μlを、アセトンで洗浄した12ウェルHTCスーパー硬化ガラススライドにスポットし、風乾させた。スライドを、冷 (-20 °C) アセトン中で10分間固定した。各ウェルにPBS中1% BSAの10 μlをスポットし、室温で10分間インキュベートして、反応をブロッキングした。スライドを、1 × PBS / 0.1% Tween-20で3回洗浄し、風乾した。ブロッキングバッファーで250ng/mlに希釈した各1次抗体試薬10 μlを1ウェルあたりにスポットし、反応物を、加湿37 °C環境で30分間インキュベートした。次にスライドを、1 × PBS / 0.1% Tween-20を3回交換して1分間洗浄し、風乾した。ブロッキングバッファーで250ng/mlに希釈した適当な2次コンジュゲート抗体試薬の10 μlを各ウェルに加え、反応物を、加湿37 °C環境でさらに30分間インキュベートした。次に、スライドを1 × PBS / 0.1% Tween-20を3回交換して1分間洗浄した。PBS、10mM Tris (pH8.0)、1mM EDTA中の50%グリセロールの5 μlを、各反応ウェルにスポットし、スライドにカバーガラスをのせた。次に、各反応ウェルを、蛍光顕微鏡で200 × の倍率でB-2Aフィルター (EX450 ~ 490nm) を使用して分析した。陽性反応物を、染色していない細胞または2次試薬のみで染色した細胞で得られた自己蛍光バックグラウンドに対して、スコアした。

【0339】

RSV陽性反応物を、感染細胞の細胞質中の小さな封入体で中断される明るい蛍光により特性付けした。

【0340】

マイクロ中和アッセイ :

ここで使用した方法は、Johnsonら、1999, J. Infectious Diseases 180:35-40に記載されている (この開示内容は、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。簡単に説明すると、抗体希釈は、96ウェルプレートを使用して、三重で行った。10 TCID₅₀のRSV A MARMSを、試験すべき抗体の連続希釈物と、37 °Cで2時間、96ウェルプレートのウェル中でインキュベートした。このアッセイで使用した抗体は、SYNAGIS (登録商標) の重鎖、点突然変異を有するSYNAGIS (登録商標) の重鎖、またはA4B4の重鎖、およびSYNAGIS (登録商標) の軽鎖、点突然変異を有するSYNAGIS (登録商標) の軽鎖、点突然変異を有するA4B4の軽鎖、点突然変異を有するA4B4の軽鎖、L1FR (a.k.a. 1X-493L1FR) の軽鎖、または点突然変異を有するL1FRの軽鎖を含んだ。アッセイで陽性対照としてMab13/19を使用した。次に、RSV感受性HEp-2細胞 (2.5 × 10⁴) を各ウェルに加え、37 °Cで5%CO₂中で5日間培養した。5日後、培地を吸引し、細胞を洗浄し、80%メタノールと20%PBSを有するプレートに固定した。次に、RSV複製を、Fタンパク質発現により測定した。固定した細胞を、ビオチンコンジュゲート抗Fタンパク質モノクローナル抗体 (pan Fタンパク質、C部位特異的Mab133-1H) とインキュベートし、洗浄し、西洋ワサビペルオキシダーゼコンジュゲートアビジンをウェルに加えた。ウェルを再度洗浄し、基質TMB (チオニトロ安息香酸) のターンオーバーを450nmで測定した。モノクローナル抗体についてのアッセイの結果を下記表19に示す。

【0341】

結果と考察 :

SYNAGIS (登録商標) の結合活性を、IFAにより、SYNAGIS (登録商標) の存在下でHEp-2細胞上での3回の選択で得られた20個のRSV A/Long MARMのパネルに対して試験した。RSVの融合タンパク質、糖タンパク質、核タンパク質に対するモノクローナル抗体のプール (対照 Pan RSV MAb プール) を、RSVの検出のための陽性対照として使用した。A型とB型の糖タンパク質を区別する2つのモノクローナル抗体を用いて、RSV MARMのサブタイプ決定

を行った。表17に要約したように、SYNAGIS（登録商標）による結合活性の欠如が、すべての20個のMARMで証明された。SYNAGIS（登録商標）による結合の欠如に対して、対照 Pan RSV MAb プールの結合は、試験したすべてのMARMで証明された。すべての20個のMARMを、RSV A型として分類した。野生型RSV A/Longを感染させたHEp-2細胞は、SYNAGIS（登録商標）、Pan RSV MAb プール、およびRSV A型MAbに結合したが、予測された通り、RSV B型MAbには反応しなかった。

【0342】

提唱されたSYNAGIS（登録商標）エピトープを包含するRSV Fタンパク質cDNAの約400ヌクレオチド領域のDNA配列決定分析により、272位にアミノ酸レベルで単一の突然変異が明らかになった。表18は、今日までに配列決定した12個の分離株での272位におけるアミノ酸変化を示す。RSV MARM Fタンパク質の全ヌクレオチド配列は決定されていないが、これらの結果は、アミノ酸272が、そのエピトープへのSYNAGIS（登録商標）の結合をモジュレートするのに決定的に重要な残基であることを示唆する。

【0343】

RSV A MARMの複製を中和する種々のモノクローナル抗体の能力を測定した。表19に示すように、RSV MARMの複製を中和するモノクローナル抗体の能力は、抗体の重鎖（HC）と軽鎖（LC）のアミノ酸配列に応じて変化した。

【表17】

表17. 免疫蛍光アッセイ(IFA)によるRSV A/Long MARMにおけるSYNAGIS(登録商標)、対照Pan RSV MAb プール(抗F、G、Nタンパク質)、抗RSV A型MAb及び抗RSV B型MAbでの抗RSV結合活性の特性付け

RSV MARM	反応性 w/ SYNAGIS*	反応性 w/ 抗 RSV MAb プール	反応性 w/ 抗 RSV A 型 MAb	反応性 w/ 抗 RSV B 型 MAb
B1	-	+	+	-
B2	-	+	+	-
B3	-	+	+	-
B4	-	+	+	-
B5	-	+	+	-
B6	-	+	+	-
B7	-	+	+	-
B8	-	+	+	-
B9	-	+	+	-
B10	-	+	+	-
B11	-	+	+	-
B12	-	+	+	-
B13	-	+	+	-
B14	-	+	+	-
B15	-	+	+	-
B16	-	+	+	-
B17	-	+	+	-
B18	-	+	+	-

B19	-	+	+	-
B20	-	+	+	-
Wt RSV A/	+	+	+	-

【0344】

【表 18】

表 18. 提唱された SYNAGIS (登録商標) エピトープを包含する野生型 RSV A/Long 及び MARM F タンパク質領域のアミノ酸配列

分離株	アミノ酸配列(位置番号)													
野生型 RSV Long	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279
	I	T	N	D	Q	K	K	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B1	I	T	N	D	Q	K	N	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B2	I	T	N	D	Q	K	M	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B3	I	T	N	D	Q	K	M	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B4	I	T	N	D	Q	K	M	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B6	I	T	N	D	Q	K	M	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B7	I	T	N	D	Q	K	T	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B8	I	T	N	D	Q	K	M	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B9	I	T	N	D	Q	K	Q	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B10	I	T	N	D	Q	K	T	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B13	I	T	N	D	Q	K	M	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B14	I	T	N	D	Q	K	Q	L	M	S	N	N	V	Q
MARM B15	I	T	N	D	Q	K	M	L	M	S	N	N	V	Q

10

20

30

【 0 3 4 5 】

【表 19】

表 19. マイクロ中和アッセイによるMARM解析

RSV モノクローナル抗体を用いる Synagis に対する RSV A MARM の RSV マイクロ中和アッセイ					
アミノ酸変化		K272Q	K272N	K272M	K272T
抗体		SYNAGIS (登録商標) に対する MARM			
HC/LC		MARM B9	MARM B1	MARM B2	MARM B7
SYNAGIS®/SYNAGIS®		-	-	-	-
A4B4/A4B4		+	+	+	+
A4B4/SYNAGIS®		+	+	+	-
SYNAGIS®/A4B4		-	-	-	-
A4B4/L1FR		+	+	+	-
A4B4/L1FR S28R		+	+	+	+
A4B4/L1FR S28R,S52F		+	+	+	+
A4B4/L1FR-28R, 52F, F93		-	-	-	-
A4B4/A4b428S		+	+	+	+
A4B4/A4b452S		+	+	+	+
Mab 13/19		+	+	+	+
SYNAGIS®/K53F		-	-	-	-
SYNAGIS®/S28R		-	-	-	-
SYNAGIS®/Q26S		-	-	-	-
SYNAGIS®/A55D		-	-	-	-
SYNAGIS®/K24S		-	-	-	-
SYNAGIS®/C25A		-	-	-	-
SYNAGIS®/L27S		-	-	-	-

注釈

精製 Ab

精製 Ab

精製 Ab

精製 Ab

精製 Ab

精製 Ab

精製 Ab

精製 Ab

精製 Ab

精製 Ab

293H sup

293H sup

293H sup

293H sup

293H sup

293H sup

SYNAGIS®/S52F	-	-	-	-	293H sup
SYNAGIS®/L105V	-	-	-	-	293H sup
T98F/SYNAGIS®	-	-	-	-	精製 ab
S32A/SYNAGIS®	-	-	-	-	293H sup
S95D/SYNAGIS®	-	-	-	-	293H sup
D58H/SYNAGIS®	-	-	-	-	293H sup
A105Q/SYNAGIS®	-	-	-	-	293H sup
S65D/SYNAGIS®	-	-	-	-	293H sup
W100F/SYNAGIS®	-	-	-	-	293H sup

十＝中和が検出された；－＝中和が検出されなかった

【 0 3 4 6 】

13. 実施例：RSV株A/LongのA4B4特異的モノクローナル抗体耐性突然変異体（MARM）のin vitro単離

本実施例は、A4B4の存在下での複数回の選択によりRSV実験株A/LongからMARMが単離できることを証明する。

【 0 3 4 7 】

材料：

A4B4（ロット#524-9、3.57mg/ml）、対照 Pan RSV MAb プール（Chemicon MAB858-4、3つのMAb 抗F、G、およびNタンパク質の混合物）、抗RSV A型MAb（Chemicon MAB858-1）、および抗RSV B型MAb（Chemicon MAB858-2）を、この研究で使用した。2次検出試薬は、Alexa（商標名）488コンジュゲートヤギF(ab')₂抗マウスまたはヒトIgG(H+L)であった。RSV A/Long株NWVB020500のウイルスバンク（ 2.38×10^7 TCID₅₀/ml）を、Master Virus Bank 031797から増殖させた。HEp-2細胞を、10%FBSと2mM L-Glnを補足したEMEM中で37℃、5%CO₂環境中で増殖させた。mRNA捕捉キット（Roche）を使用して、感染細胞からメッセンジャーRNAを精製した。mRNAサンプルを使用して、cDNA First Strand 反応キッ

ト (Roche) の試薬を用いてcDNAを作製し、遺伝子特異的プライマーを使用するポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) によりRSV Fタンパク質遺伝子を増幅した。

【 0 3 4 8 】

方法：

MARMの選択：

24ウェルプレートの1ウェルあたり 4×10^5 HEp-2細胞を、増殖培地 (EMEM、10%FBS、2 mM L-Gln) 中に接種し、増殖条件 (37℃、5 %CO₂) で一晩インキュベートした。個々のMARM選択のために、44ウェルに接種した。感染の前に、ウイルスバンクRSV A/Longの新鮮なバイアルを、37℃で急速に融解し、HEp-2増殖培地中でウイルス力価を 4×10^6 pfu/ml に調整した。ウイルス接種物にA4B4を最終濃度 2 µg/ml になるように加え、混合物を37℃で1時間インキュベートした。RSVのアリコート、無関係のヒトIgG1 MAb (MEDI-507) とインキュベートし、陰性対照として使用した。各プレートについて、未感染対照ウェルも準備した。細胞を新鮮な培地で1回洗浄し、100 µlのRSV A/Longウイルスストック / MAb混合物を重層した。増殖条件下で細胞を4時間インキュベートし、次に各ウェルに1mlの増殖培地を加えた。細胞変性作用 (CPE) を、毎日光学顕微鏡でモニターした。選択の7日後、各ウェルの内容物に、さらに 4 µg/mlのA4B4または無関係のヒトIgG1 MAbを補足し、新鮮な接種したHEp-2細胞を感染するのに使用した (24ウェルプレートの1ウェル当たり 4×10^5 細胞)。さらに7日間の選択後、このプロセスをもう一度繰り返し、全部で3回選択した。明瞭なCPEを示すウェルの内容物を、50% ショ糖溶液と1 : 1で混合し、直ちに-80℃で凍結した。

【 0 3 4 9 】

MARMのブランク精製：

3回目の選択後、2個の独立したウェルの内容物をランダムに選択し、MARMのブランク精製のために使用した。MARMストックの新鮮なバイアル (3回目の選択後凍結した) を室温で融解し、増殖培地で1 : 10、1 : 100、および1 : 1000に希釈し、4 µg/mlのA4B4と1時間インキュベーション後、感染させた。6ウェルプレート (5×10^5 細胞 / ウェル) 中のHEp-2細胞の単層上に0.5mlのウイルス接種物を重層し、増殖条件下で4時間インキュベートした。感染後、接種物を注意深く吸引し、細胞に、0.8%低融解温度アガロース (Gibco BRL) を補足し4 µg/mlのA4B4を含有する2mlの増殖培地を重層した。アガロースが完全に固化した後、シャーレをインキュベーターに戻し、ブランク形成について毎日モニターした。比較のために、未感染対照と野生型RSV対照プレートを準備した。5 ~ 6日後、各プレートに、50 µg/mlのニュートラルレッドを補足した増殖培地中0.8%のアガロースをさらに2ml重層した。増殖条件下で一晩インキュベーション後、ブランクをスコアし、2回目の精製のために拾い上げた。

【 0 3 5 0 】

クローン性MARMの増幅：

2回目のブランク精製後、各分離株からの3つのクローンを、高力価ウイルスストックの産生のために拡張した。個々のブランクを、ピペットチップで拾い上げ、0.2mlの新鮮な培地中で4℃で一晩インキュベートして、ウイルスを溶出させた。各アリコートを使用して、平底24ウェルプレート中でHEp-2細胞 (前日に接種した 2.5×10^5 細胞 / ウェル) を4 µg/mlのA4B4の存在下で感染させた。5日後、ウェルの全内容物を使用して、24ウェルプレート中でHEp-2細胞を4 µg/mlのA4B4の存在下で感染させた。次に、各接種物を、4 µg/mlのA4B4の存在下でT-25フラスコ (前日に接種した 6.5×10^6 細胞 / フラスコ) に拡張し、5mlの高力価ウイルスストックを産生した。MARMストックを、前述のように凍結した。

【 0 3 5 1 】

F タンパク質cDNA合成とDNA配列決定：

SYNAGIS (登録商標) のエピトープを含有すると考えられるFタンパク質遺伝子の約800ヌクレオチド領域のヌクレオチド配列を決定するために、感染4日後にMARM感染HEp-2細胞から単離したmRNAを用いて、First strand cDNA合成を行った。RSV感染HEp-2細胞を、m

RNA捕捉キットで提供される150 μ lの溶解バッファーで溶解した。ビオチン化オリゴdTを、ヌクレアーゼを含まないH₂Oで1:10に希釈し、4 μ lを各溶解物に加えた。サンプルを、42℃で10分間インキュベートして、オリゴdTをmRNAにアニーリングさせた。溶解物の50 μ lアリコートをし、ストレプトアビジン被覆PCRチューブに移し、37℃で3分間インキュベートした。PCRチューブから溶解物を取り出し、捨てた。チューブに捕捉されたRNAを、200 μ lの洗浄バッファーで3回洗浄した。

【0352】

First Strand cDNAキット (Roche Molecular Biochemicals) からの試薬を使用して、RT反応を行った。各反応物が、最終容量50 μ l中に5 μ l 10Xバッファー、5 μ l dNTP、10 μ l MgCl₂、1 μ lゼラチン、2 μ l RNaseインヒビター、2 μ l AMV-RTを含有するように、マスター混合物を調製した。50 μ lアリコートのマスター混合物を、捕捉されたmRNAを含有するPCRチューブに移した。サンプルをサーマルサイクラーに入れ、42℃で2時間インキュベートした。次に、PCRチューブからcDNA反応混合物を取り出し、捨てた。PCRチューブに捕捉したcDNAを、200 μ lの洗浄バッファーで洗浄した。配列分析のために十分なRSV Fタンパク質遺伝子を得るために、遺伝子特異的プライマーを使用して、cDNAをPCRに供した。各反応物は、最終容量50 μ l中に、10mM Tris-HCl (pH8.3)、50mM KCl、2.5mM MgCl₂、200 μ M dNTP、125ngの各フォワードプライマー (5'AGTGTCTTAACCAGCAAAGTGTAGA3'; 配列番号258)、およびリバースプライマー (5'TCATTGACTTGAGATATTGATGCATC3'; 配列番号259)、および2.5単位のTaqポリメラーゼ (PE Biosystems) を含有した。すべての反応の温度プロフィールは、95℃で2分、次に95℃で30秒、55℃で45秒、72℃で45秒を40サイクル行い、72℃で10分で最後の伸長を行った。

【0353】

すべてのPCR産物を、1X TBE中の2%アガロースゲルで電気泳動して分離し、臭化エチジウムの蛍光で視覚化した。

【0354】

PCR産物を、Qiaquickスピンカラム (Qiagen) を使用して精製し、Big DyeターミネーターPRISMキット (Applied Biosystems (ABI)) を使用して配列決定した。反応物は、最終容量20 μ l中に、鋳型として70ngのPCR産物、3 pmolのプライマー、および8.0 μ lのPRISM色素ターミネーター反応混合物を含有した。ABIの色素-ターミネーター配列決定説明書に従って、反応物をサーマルサイクリングに供した。Centri-Sepスピンカラム (Princeton Separations) を使用して、伸長産物から、取り込まれなかった色素を除去した。伸長産物を、Savant Speed Vac中で乾燥し、次に10 μ lのHiDiホルムアミド (ABI) ローディングバッファーに溶解した。ABI3100自動シーケンサーで電気泳動してサンプルを適用した。シーケンサーで集めた配列データを、Lasargene (DNA Star) を使用して解析した。

【0355】

免疫蛍光アッセイ (IFA) :

RSV分離株を感染させた細胞を、A4B4、SYNAGIS (登録商標) および対照 Pan RSV MAbプールにより、以下のように抗RSV結合について試験した。4~5日のRSV感染HEp-2培養物をPBSと混合し、300 \times gで室温で5分間遠心分離した。分析のために、ペレットを少量のPBSに再懸濁した。5mmウェルあたり各細胞懸濁液の5~10 μ lを、アセトンで洗浄した12ウェルHTCスーパー硬化ガラススライド上にスポットし、風乾させた。スライドを、冷 (-20℃) アセトン中で10分間固定した。各ウェルにPBS中1% BSAの10 μ lをスポットし、室温で10分間インキュベートして、反応をブロッキングした。スライドを、1 \times PBS / 0.1% Tween-20で3回洗浄し、風乾した。1ウェルあたりブロッキングバッファーで250ng/mlに希釈した各1次抗体試薬10 μ lをスポットし、反応物を、加湿37℃環境で30分間インキュベートした。次にスライドを、1 \times PBS / 0.1% Tween-20を3回交換して1分間洗浄し、風乾した。ブロッキングバッファーで250ng/mlに希釈した適当な2次コンジュゲート抗体試薬の10 μ lを各ウェルに加え、反応物を、加湿37℃環境でさらに30分間インキュベートした。次に、スライドを1 \times PBS / 0.1% Tween-20を3回交換して1分間洗浄した。PBS、10mM Tris (pH8.0)、1mM EDTA中の50%グリセロールの5 μ lを、各反応ウェルにスポットし

、スライドにカバーガラスをのせた。次に、各反応ウェルを、蛍光顕微鏡で200×の倍率でB-2Aフィルター（EX450～490nm）を使用して分析した。陽性反応物を、染色していない細胞または2次試薬のみで染色した細胞で得られた自己蛍光バックグラウンドに対して、スコアした。

【0356】

RSV陽性反応物を、感染細胞の細胞質中の小さな封入体で中断される明るい蛍光により特性付けした。

【0357】

マイクロ中和アッセイ：

ここで使用した方法は、Johnsonら、1999, J. Infectious Diseases 180:35-40に記載されている（この開示内容は、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。簡単に説明すると、抗体希釈は、96ウェルプレートを使用して、三重で行った。10 TCID₅₀のRSV A MARMを、試験すべき抗体の連続希釈物と、37℃で2時間、96ウェルプレートのウェル中でインキュベートした。このアッセイで使用した抗体は、SYNAGIS（登録商標）の重鎖および軽鎖、A4B4の重鎖と軽鎖、SYNAGIS（登録商標）とA4B4の重鎖と軽鎖の組合せ、軽鎖または重鎖に点突然変異を有するSYNAGIS（登録商標）重鎖または軽鎖、または軽鎖に点突然変異を有するA4B4の重鎖を含んだ。アッセイで陽性対照としてMAB13/19を使用した。次に、RSV感受性HEp-2細胞（2.5×10⁴）を各ウェルに加え、37℃で5%CO₂中で5日間培養した。5日後、培地を吸引し、細胞を洗浄し、80%メタノールと20%PBSを有するプレートに固定した。次に、RSV複製を、Fタンパク質発現により測定した。固定した細胞を、ビオチンコンジュゲート抗Fタンパク質モノクローナル抗体（pan Fタンパク質、C部位特異的MAB133-1H）とインキュベートし、洗浄し、西洋ワサビペルオキシダーゼコンジュゲートアビジンをウェルに加えた。ウェルを再度洗浄し、基質TMB（チオニトロ安息香酸）のターンオーバーを450nmで測定した。モノクローナル抗体についてのアッセイの結果を下記表22に示す。

【0358】

結果と考察：

A4B4の結合活性を、IFAにより、SYNAGIS（登録商標）の存在下でHEp-2細胞上での3回の選択で得られたRSV A/Long MARMのパネルに対して試験した。RSVの融合タンパク質、糖タンパク質、および核タンパク質に対するモノクローナル抗体のプール（対照 Pan RSV MAb プール）を、RSVの検出のための陽性対照として使用した。A型とB型の糖タンパク質を区別する2つのモノクローナル抗体を用いて、RSV MARMのサブタイプ決定を行った。表20に要約したように、A4B4とSYNAGIS（登録商標）による結合活性の欠如が、MARMで証明された。A4B4とSYNAGIS（登録商標）による結合の欠如に対して、対照 Pan RSV MAb プールの結合は、試験したすべてのMARMで証明された。双方のMARMを、RSV A型として分類した。野生型RSV A/Longを感染させたHEp-2細胞は、A4B4およびSYNAGIS（登録商標）、Pan RSV MAb プール、およびRSV A型MAbに結合したが、予測された通り、RSV B型MAbには反応しなかった。

【0359】

提唱されたA4B4エピトープを包含するRSV Fタンパク質cDNAの約800ヌクレオチド領域のDNA配列決定分析により、272位と276位にアミノ酸レベルでの突然変異が明らかになった。表21は、今日までに配列決定された分離株におけるアミノ酸変化を示す。RSV MARM Fタンパク質の全ヌクレオチド配列は決定されていないが、これらの結果は、アミノ酸272と276が、そのエピトープへのA4B4の結合をモジュレートするのに決定的に重要な残基であることを示唆する。

【0360】

RSV A MARMの複製を中和する種々のモノクローナル抗体の能力を測定した。表22に示すように、RSV MARMの複製を中和するモノクローナル抗体の能力は、抗体の重鎖（HC）と軽鎖（LC）のアミノ酸配列に応じて変化した。

【 表 2 0 】

表 2 0 . 免疫蛍光アッセイ (IFA) による RSV A/Long MARM における A4B4、Synagis (登録商標)、
対照 Pan RSV Mab プール (抗 F、G、N タンパク質)、抗 RSV A 型 Mab 及び抗 RSV B 型 Mab での
抗 RSV 結合活性の特性付け

	反応性 w/ Synagis®	反応性 w/ 抗 RSV Mab プール	反応性 w/ 抗 RSV A 型 Mab	反応性 w/ 抗 RSV B 型 Mab	反応性 A4B4
RSV MARM サンプル					
MARM #6	-	+	+	-	-
MARM #9	-	+	+	-	-
MARM #10	-	+	+	-	-
MARM #11	-	+	+	-	-
Wt	+	+	+	-	+

【 0 3 6 1 】

10

20

30

【表 2 1】

表 2 1. 野生型 RSV A/Long 及び MARM F タンパク質領域のアミノ酸配列

分離株	アミノ酸配列(位置番号)													
	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279
野生型	I	T	N	D	Q	K	K	L	M	S	N	N	V	Q
RSV	I	T	N	D	Q	K	E	L	M	S	Y	N	V	Q
MARM #10	I	T	N	D	Q	K	E	L	M	S	N	N	V	Q
MARM #6	I	T	N	D	Q	K	E	L	M	S	N	N	V	Q
MARM #9	I	T	N	D	Q	K	E	L	M	S	N	N	V	Q
MARM #11	I	T	N	D	Q	K	E	L	M	S	N	N	V	Q
MARM #14	I	T	N	D	Q	K	E	L	M	S	N	N	V	Q

【 0 3 6 2 】

10

20

30

【表 2 2】

表 2 2. マイクロ中和アッセイによるMARM解析

RSV モノクローナル抗体を用いる A4B4 に対する RSV A MARM の RSV マイクロ中和アッセイ		
	K272E, N276Y	
抗体	MARM to	注釈
HC/LC	MARM 10	
SYNAGIS®/SYNAGIS®	-	精製 Ab
A4B4/A4B4	-	精製 Ab
A4b4/SYNAGIS®	-	精製 Ab
SYNAGIS®/A4B4	-	精製 Ab
A4B4/L1FR	-	精製 Ab
A4B4/L1FR S28R	-	精製 Ab
A4B4/L1FR S28R, S52F	-	精製 Ab
A4B4/L1FR-28R, 52F, 93F	-	精製 Ab
A4B4/A4B428S	-	精製 Ab
A4B4/A4B452S	-	精製 Ab
Mab 13/19	+	精製 Ab

+=中和が検出された；-=中和が検出されなかった

【 0 3 6 3 】

14. 実施例：MARM B9（SYNAGISに対するRSV株A/LongのMARM）のA4B4特異的モノクローナル抗体耐性突然変異体（MARM）のin vitro単離

本実施例は、A4B4の存在下での複数回の選択によりSYNAGISに対するRSVA/LongのMARM(MARM B9)からMARMが単離できることを証明する。

【 0 3 6 4 】

材料：

A4B4（ロット#524-9、3.57mg/ml）、対照 Pan RSV MAb プール（Chemicon MAB858-4、3つのMAb 抗F、G、およびNタンパク質の混合物）、抗RSV A型MAb（Chemicon MAB858-1）、および抗RSV B型MAb（Chemicon MAB858-2）を、この研究で使用した。2次検出試薬は、Alexa（商標名）488コンジュゲートヤギF(ab')₂抗マウスまたはヒトIgG(H+L)であった。ここでは、MARM B9（ 1.78×10^6 TCID₅₀/ml）を使用した。HEp-2細胞を、10%FBSと2mM L-Glnを補足したEMEM中で37℃で、5%CO₂環境中で増殖させた。mRNA捕捉キット（Roche）を使用して、感染細胞からメッセンジャーRNAを精製した。mRNAサンプルを使用して、cDNA First Strand 反応キット（Roche）を用いてcDNAを作製し、遺伝子特異的プライマーを使用するポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によりRSV Fタンパク質遺伝子を増幅した。

【 0 3 6 5 】

方法：

MARMの選択：

24ウェルプレートの1ウェルあたり 4×10^5 HEp-2細胞を、増殖培地（EMEM、10%FBS、2mM L-Gln）に接種し、増殖条件（37℃、5%CO₂）で一晩インキュベートした。個々のMARM選択のために、44ウェルに接種した。感染の前に、ウイルスバンクMARM B9の新鮮なバイアルを、37℃で急速に融解し、HEp-2増殖培地でウイルス力価を 6×10^5 pfu/mlに調整した。ウイルス接種物にA4B4を最終濃度 2 μg/mlになるように加え、混合物を37℃で1時間インキュベートした。RSVのアリコート、無関係のヒトIgG1 MAb（MEDI-507）とインキュベートし、陰性対照として使用した。各プレートについて、未感染対照ウェルも準備し

10

20

30

40

50

た。細胞を新鮮な培地で1回洗浄し、100 μ lのRSV A/Longウイルスストック / MAb混合物を重層した。増殖条件下で細胞を4時間インキュベートし、次に各ウェルに1mlの増殖培地を加えた。細胞変性作用 (CPE) を、毎日光学顕微鏡でモニターした。選択の7日後、各ウェルの内容物に、さらに4 μ g/mlのA4B4または無関係のヒトIgG1 MAbを補足し、新鮮な接種したHEp-2細胞を感染するのに使用した (24ウェルプレートの1ウェル当たり 4×10^5 細胞)。さらに7日間の選択後、このプロセスを、もう一度繰り返し、全部で3回選択した。明瞭なCPEを示すウェルの内容物を、50%ショ糖溶液と1:1で混合し、直ちに-80で凍結した。

【0366】

MARMのブランク精製:

3回目の選択後、独立したウェルの内容物をMARMのブランク精製のために使用した。MARMストックの新鮮なバイアル (3回目の選択後凍結した) を室温で融解し、増殖培地で1:10、1:100、および1:1000で希釈し、4 μ g/mlのA4B4と1時間インキュベーション後、感染させた。6ウェルプレート (5×10^5 細胞 / ウェル) 中のHEp-2細胞の単層上に0.5mlのウイルス接種物を重層し、増殖条件下で4時間インキュベートした。感染後、接種物を注意深く吸引し、細胞に、0.8%低融解温度アガロース (Gibco BRL) を補足し4 μ g/mlのA4B4を含有する2mlの増殖培地を重層した。アガロースが完全に固化した後、シャーレをインキュベーターに戻し、ブランク形成について毎日モニターした。比較のために、未感染対照とMARM B9 RSV対照プレートを準備した。5~6日後、各プレートに、50 μ g/mlのニュートラルレッドを補足した増殖培地中0.8%のアガロースをさらに2ml重層した。増殖条件下で一晩インキュベーション後、ブランクをスコアし、2回目の精製のために拾い上げた。

【0367】

クローン性MARMの増幅:

2回目のブランク精製後、分離株からの3つのクローンを、高力価ウイルスストックの産生のために拡張した。個々のブランクを、ピペットチップで拾い上げ、0.2mlの新鮮な培地中で4で一晩インキュベートして、ウイルスを溶出させた。各アリコートを使用して、平底24ウェルプレート中でHEp-2細胞 (前日に接種した 2.5×10^5 細胞 / ウェル) を4 μ g/mlのA4B4の存在下で感染させた。5日後、ウェルの全内容物を使用して、24ウェルプレート中でHEp-2細胞を4 μ g/mlのA4B4の存在下で感染させた。次に、各接種物を、4 μ g/mlのA4B4の存在下でT-25フラスコ (前日に接種した 6.5×10^6 細胞 / フラスコ) に拡張し、5mlの高力価ウイルスストックを産生した。MARMストックを、前述のように凍結した。

【0368】

Fタンパク質cDNA合成とDNA配列決定:

SYNAGIS (登録商標) のエピトープを含有すると考えられるFタンパク質遺伝子の約800ヌクレオチド領域のヌクレオチド配列を決定するために、感染4日後にMARM感染HEp-2細胞から単離したmRNAを用いて、First strand cDNA合成を行った。RSV感染HEp-2細胞を、mRNA捕捉キットで提供される150 μ lの溶解バッファーで溶解した。ピオチン化オリゴdTを、ヌクレアーゼを含まないH₂Oで1:10に希釈し、4 μ lを各溶解物に加えた。サンプルを、42で10分間インキュベートして、オリゴdTをmRNAにアニーリングさせた。溶解物の50 μ lアリコートを、ストレプトアビジン被覆PCRチューブに移し、37で3分間インキュベートした。PCRチューブから溶解物を取り出し、捨てた。チューブに捕捉されたRNAを、20 μ lの洗浄バッファーで3回洗浄した。

【0369】

First Strand cDNAキット (Roche Molecular Biochemicals) からの試薬を使用して、RT反応を行った。各反応物が、最終容量50 μ l中に5 μ l 10Xバッファー、5 μ l dNTP、10 μ l MgCl₂、1 μ lゼラチン、2 μ l RNaseインヒビター、2 μ l AMV-RTを含有するように、マスター混合物を調製した。50 μ lアリコートのマスター混合物を、捕捉されたmRNAを含有するPCRチューブに移した。サンプルをサーマルサイクラーに入れ、42で2時間インキュベートした。次に、PCRチューブからcDNA反応混合物を取り出し、捨てた。PCRチュ

10

20

30

40

50

ープに捕捉したcDNAを、200 μ lの洗浄バッファーで洗浄した。配列分析のために十分なRSV Fタンパク質遺伝子を得るために、遺伝子特異的プライマーを使用して、cDNAをPCRに供した。各反応物は、最終容量50 μ l中に、10mM Tris - HCl (pH8.3)、50mM KCl、2.5mM $MgCl_2$ 、200 μ M dNTP、125ngの各フォワードプライマー (5'AGTGTCTTAACCAGCAAAGTGTAGA3' ; 配列番号258)、およびリバースプライマー (5'TCATTGACTTGAGATATTGATGCATC3' ; 配列番号259)、および2.5単位のTaqポリメラーゼ (PE Biosystems) を含有した。すべての反応の温度プロフィールは、95 で2分、次に95 で30秒、55 で45秒、72 で45秒を40サイクル行い、72 で10分で最後の伸長を行った。

【0370】

すべてのPCR産物を、1X TBE中の2%アガロースゲルで電気泳動して分離し、臭化エチジウムの蛍光で視覚化した。

10

【0371】

PCR産物を、Qiaquickスピンカラム (Qiagen) を使用して精製し、Big DyeターミネーターPRISMキット (Applied Biosystems (ABI)) を使用して配列決定した。反応物は、最終容量20 μ l中に、鋳型として70ngのPCR産物、3 pmolのプライマー、および8.0 μ lのPRISM色素ターミネーター反応混合物を含有した。ABIの色素 - ターミネーター配列決定説明書に従って、反応物をサーマルサイクリングに供した。Centri-Sepスピンカラム (Princeton Separations) を使用して、伸長産物から、取り込まれなかった色素を除去した。伸長産物を、Savant Speed Vac中で乾燥し、次に10 μ lのHiDiホルムアミド (ABI) ローディングバッファーに溶解した。ABI3100自動シーケンサーで電気泳動してサンプルを適用した。シーケンサーで集めた配列データを、Lasargene (DNA Star) を使用して解析した。

20

【0372】

免疫蛍光アッセイ (IFA) :

RSV分離株を感染させた細胞を、A4B4、SYNAGIS (登録商標) および対照 Pan RSV MAbプールにより、以下のように抗RSV結合について試験した。4 ~ 5日のRSV感染HEp-2培養物をPBSと混合し、300 \times gで室温で5分間遠心分離した。分析のために、ペレットを少量のPBSに再懸濁した。5mmウェルあたり各細胞懸濁液の5 ~ 10 μ lを、アセトンで洗浄した12ウェルHTCスーパー硬化ガラススライドにスポットし、風乾させた。スライドを、冷 (-20 $^{\circ}$ C) アセトン中で10分間固定した。各ウェルにPBS中1% BSAの10 μ lをスポットし、室温で10分間インキュベートして、反応をブロッキングした。スライドを、1 \times PBS / 0.1% Tween-20で3回洗浄し、風乾した。1ウェルあたりブロッキングバッファーで250ng/mlに希釈した各1次抗体試薬10 μ lをスポットし、反応物を、加湿37 $^{\circ}$ C環境で30分間インキュベートした。次にスライドを、1 \times PBS / 0.1% Tween-20を3回交換して1分間洗浄し、風乾した。ブロッキングバッファーで250ng/mlに希釈した適当な2次コンジュゲート抗体試薬の10 μ lを各ウェルに加え、反応物を、加湿37 $^{\circ}$ C環境でさらに30分間インキュベートした。次に、スライドを1 \times PBS / 0.1% Tween-20を3回交換して1分間洗浄した。PBS、10mM Tris (pH8.0)、1mM EDTA中の50%グリセロールの5 μ lを、各反応ウェルにスポットし、スライドにカバーガラスをのせた。次に、各反応ウェルを、蛍光顕微鏡で200 \times の倍率でB-2Aフィルター (EX450 ~ 490nm) を使用して分析した。陽性反応物を、染色していない細胞または2次試薬のみで染色した細胞で得られた自己蛍光バックグラウンドに対して、スコアした。

30

40

【0373】

RSV陽性反応物を、感染細胞の細胞質中の小さな封入体で中断される明るい蛍光により特性付けした。

【0374】

マイクロ中和アッセイ :

ここで使用した方法は、Johnsonら、1999, J. Infectious Diseases 180:35-40に記載されている (この開示内容は、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。簡単に説明すると、抗体希釈は、96ウェルプレートを使用して、三重で行った。10 TCID₅₀のRSV A MARMSを、試験すべき抗体の連続希釈物と、37 $^{\circ}$ Cで2時間、96ウェルプレート

50

のウェル中でインキュベートした。このアッセイで使用した抗体は、SYNAGIS（登録商標）の重鎖またはA4B4の重鎖、およびSYNAGIS（登録商標）の軽鎖、A4B4の軽鎖、点突然変異を有するA4B4の軽鎖、L1FRの軽鎖、または点突然変異を有するL1FRの軽鎖を含んだ。アッセイで陽性対照としてMAB13/19を使用した。次に、RSV感受性HEp-2細胞（ 2.5×10^4 ）を各ウェルに加え、37℃で5%CO₂中で5日間培養した。5日後、培地を吸引し、細胞を洗浄し、80%メタノールと20%PBSを有するプレートに固定した。次に、RSV複製を、Fタンパク質発現により測定した。固定した細胞を、ビオチンコンジュゲート抗Fタンパク質モノクローナル抗体（pan Fタンパク質、C部位特異的MAB133-1H）とインキュベートし、洗浄し、西洋ワサビペルオキシダーゼコンジュゲートアビジンをウェルに加えた。ウェルを再度洗浄し、基質TMB（チオニトロ安息香酸）のターンオーバーを450nmで測定した。モノクローナル抗体についてのアッセイの結果を下記表25に示す。

10

【0375】

結果と考察：

A4B4の結合活性を、IFAにより、A4B4の存在下でHEp-2細胞での3回の選択で得られたMAR Mに対して試験した。RSVの融合タンパク質、糖タンパク質、および核タンパク質に対するモノクローナル抗体のプール（対照 Pan RSV MAb プール）を、RSVの検出のための陽性対照として使用した。A型とB型の糖タンパク質を区別する2つのモノクローナル抗体を用いて、RSV MARMのサブタイプ決定を行った。表23に要約したように、A4B4とSYNAGIS（登録商標）による結合活性の欠如が、両方のMARMで証明された。A4B4とSYNAGIS（登録商標）による結合の欠如に対して、対照 Pan RSV MAb プールの結合は、試験したすべてのMAR Mで証明された。両方のMARMを、RSV A型として分類した。野生型RSV A/Longを感染させたHEp-2細胞は、A4B4およびSYNAGIS（登録商標）、Pan RSV MAb プール、およびRSV A型MAbに結合したが、予測された通り、RSV B型MAbには反応しなかった。

20

【0376】

提唱されたA4B4エピトープを包含するRSV Fタンパク質cDNAの約800ヌクレオチド領域のDNA配列決定分析により、272位と262位にアミノ酸レベルでの突然変異が明らかになった。表24は、今日までに配列決定された分離株におけるアミノ酸変化を示す。RSV MARM Fタンパク質の全ヌクレオチド配列は決定されていないが、これらの結果は、アミノ酸272と262が、そのエピトープへのA4B4の結合をモジュレートするのに決定的に重要な残基であることを示唆する。

30

【0377】

RSV A MARMSの複製を中和する種々のモノクローナル抗体の能力を測定した。表25に示すように、RSV MARMの複製を中和するモノクローナル抗体の能力は、抗体の重鎖（HC）と軽鎖（LC）のアミノ酸配列に応じて変化した。

【表23】

表23. 免疫蛍光アッセイ(IFA)によるRSV A/Long MARMにおけるA4B4、SYNAGIS(登録商標)、対照 Pan RSV MAb プール(抗F、G、Nタンパク質)、抗RSV A型MAb及び抗RSV B型MAbでの抗RSV結合活性の特性付け

40

RSV MARM サンプル	反応性 w/ Synagis [®]	反応性 w/ 抗 RSV MAb プール	反応性 w/ 抗 RSV A 型 MAb	反応性 w/ 抗 RSV B 型 MAb	反応性 A4B4
MARM #13	-	+	+	-	-
B9	-	+	+	-	+
Wt	+	+	+	-	-

【0378】

【表 2 4】

表 2 4. 野生型 RSV A/Long 及び MARM F タンパク質領域のアミノ酸配列

分離株	アミノ酸配列(位置番号)														
	262	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279
野生型 RSV Long A	N	I	T	N	D	Q	K	K	L	M	S	N	N	V	Q
MARM #13	K	I	T	N	D	Q	K	Q	L	M	S	N	N	V	Q

【表 25】

表 25. マイクロ中和アッセイによるMARM解析

RSV モノクローナル抗体を用いる A4B4 に対する RSV A MARM の RSV マイクロ中和アッセイ		
抗体	K272Q,N262K	注釈
HC/LC	SYNAGIS(登録商標)及びA4B4に対するMARM	
SYNAGIS®/SYNAGIS®	MARM 13	
A4B4/A4B4	-	精製 Ab
A4B4/SYNAGIS®	-	精製 Ab
SYNAGIS®/A4B4	-	精製 Ab
A4B4/L1FR	-	精製 Ab
A4B4/L1FR S28R	-	精製 Ab
A4B4/L1FR S28R, S52F	-	精製 Ab
A4B4/L1FR-28R, 52F, 93F	-	精製 Ab
A4B4/A4B428S	-	精製 Ab
A4B4/A4B452S	-	精製 Ab
Mab 13/19	+	精製 Ab

+ = 中和が検出された； - = 中和が検出されなかった

【0380】

15. 実施例：臨床試験

in vitroアッセイと動物モデルで試験した本発明の抗体またはその断片を、さらに安全性、耐性、および薬物動態について、正常で健康な成人ボランティアの群で評価できる。ボランティアに、筋肉内、静脈内、または肺送達系で、RSV抗原に免疫特異的に結合する抗体またはその断片の0.5mg/kg、3 mg/kg、5 mg/kg、10mg/kgまたは15mg/kgの単一用量を投与した。各ボランティアを少なくとも24時間モニターした後、抗体またはその断片の単一用量を受け、各ボランティアは、臨床の場で用量を受けた後少なくとも48時間モニターされるだろう。次にボランティアは、投薬後3、7、14、21、28、35、42、49、および56日目に通院患者としてモニターされる。

【0381】

留置カテーテルまたは10mlのレッドトップ(red-top)Vacutainerチューブを使用して直接静脈穿刺により、以下の間隔で血液サンプルを採取した：(1) 抗体または抗体断片の用量を投与する前；(2) 抗体または抗体断片の用量の投与中；(3) 抗体または抗体断片の用量の投与後5分、10分、15分、20分、30分、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、

10

20

30

40

50

24時間、および48時間後；および(4) 抗体または抗体断片の用量の投与後3日、7日、14日、21日、28日、35日、42日、49日、および56日後。サンプルを室温で凝固させ、遠心分離後に血清を採取するだろう。

【0382】

血清サンプルから抗体または抗体断片を部分精製し、サンプル中の抗体または抗体断片の量をELISAにより定量するだろう。簡単に説明すると、ELISAは、ボランティアに投与される抗体または抗体断片を認識する抗体で、マイクロタイタープレートで4で一晚被覆することからなる。次にプレートを、PBS-Tween-0.5% BSAで室温で約30分ブロッキングする。ボランティアに投与しなかった精製抗体または抗体断片を使用して、標準曲線を構築する。サンプルをPBS-Tween-BSAで希釈する。サンプルと標準物質を、室温で約1時間インキュベートする。次に結合した抗体を標識抗体（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼコンジュゲートヤギ抗ヒトIgG）で、室温で約1時間処理する。標識抗体の結合を、例えば分光光度計により検出する。

10

【0383】

ボランティアの血清中の抗体または抗体断片の濃度レベルを、用量の投与後に、各採取間隔での血清レベルから、投薬前血清レベル（バックグラウンドレベル）を引いて補正する。各ボランティアについて、モデル依存性アプローチ（Gibaldiら、1982, Pharmacokinetics, 第2版、Marcel Dekker, New York）に従って、薬物動態パラメータを、補正した血清抗体または抗体断片濃度から計算する。

【0384】

20

同等物

当業者は、ルーチン実験のみを使用することで、本明細書に記載の発明の特定の実施形態に対する多くの同等物を、認識するだろうしまたは確認することができる。そのような同等物は、以下の特許請求の範囲に包含されることが意図される。

【0385】

本明細書で言及したすべての刊行物、特許および特許出願は、個々の各刊行物、特許および特許出願が、参照することにより特異的かつ個別に本明細書に取り込まれることを示しているのと同程度に、参照することにより本明細書に組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0386】

30

【図1】図1A～1BはRSV抗原と結合する高アフィニティモノクローナル抗体の(A)軽鎖可変部及び(B)重鎖可変部のアミノ酸配列を示し、その効力は本明細書にまたは本出願人の同時係属中特許出願第60/168,426号及び第60/186,252号に記載の方法により増加することができる。参考として記すと、これはJohnsonら、1997, J. Infect. Dis. 176:1215-1224及び米国特許第5,824,307号に開示されたSYNAGIS（登録商標）抗体のアミノ酸配列である。ここでCDR領域は下線が引かれており、下線が引かれていない残基はそれぞれの抗体の可変部のフレームワーク領域を形成する。この抗体において、CDRはマウス抗体から誘導され、フレームワーク領域はヒト抗体から誘導された。定常部（示されてない）もヒト抗体から誘導された。

【図2】図2A～2Bは、ある抗体配列の(A)軽鎖可変部及び(B)重鎖可変部を示す。CDR領域に下線を引いた。この配列は、軽鎖のVH CDR1の最初の4残基、軽鎖の残基103、及び重鎖の残基112が、図1A～1Bに開示した配列と異なる。

40

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> MEDIMMUNE, INC.

<120> Methods of Adminstering/Dosing Anti-RSV Antibodies for Prophylaxis
and Treatment

<130> 10271-049-228

<160> 259

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<400> 1

Thr Ser Gly Met Ser Val Gly

1 5

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 3

Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His

1 5 10

30

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

```

<400> 6
Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 7
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 7
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> VL Domain

<400> 8
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

```

10

20

30

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 9
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> VH Domain

<400> 9
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10

20

<210> 10
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 10
 Thr Ala Gly Met Ser Val Gly
 1 5

<210> 11
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 11
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 12
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 12
 Ser Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 13
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 13
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30

20

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Phe Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 14
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 14
 Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 15
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 15
 Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser
 1 5

<210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 16
 Phe Gln Phe Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 1 5

<210> 17
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 17
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

20

<210> 18
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 18
 Thr Pro Gly Met Ser Val Gly
 1 5

30

<210> 19
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 19
 Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
 1 5 10 15

<210> 20

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20
 Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 21
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> VL Domain

10

<400> 21
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Asp Thr Phe Tyr Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80

20

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 22
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 22
 Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 23
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 23
 Asp Thr Phe Tyr Leu Ser Ser
 1 5

<210> 24
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> VH Domain

<400> 24
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10

<210> 25
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 25
 Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
 1 5 10 15
 <210> 26
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 26
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Arg Gly Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95

30

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 27
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27
Asp Thr Arg Gly Leu Pro Ser
1 5

<210> 28
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 28
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

20

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 29
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29
Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

30

<210> 30
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Met Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 31
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 31
 Ser Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 32
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32
 Asp Thr Met Arg Leu Ala Ser
 1 5

20

<210> 33
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

30

<210> 34
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 35
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 35
 Asp Thr Phe Lys Leu Ser Ser
 1 5

20

<210> 36
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 36
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

30

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 37
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37
Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
1 5 10 15

<210> 38
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 38
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Phe Lys Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

20

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 39
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39
Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 40
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 40
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 41
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 41
 Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
 1 5 10 15

<210> 42
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 42
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

20

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Asp Thr Met Tyr Gln Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

30

<210> 43
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 43
 Asp Thr Met Tyr Gln Ser Ser
 1 5

<210> 44
 <211> 120

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 44
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10

<210> 45
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 45
 Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
 1 5 10 15

 <210> 46
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 46
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Met Tyr Gln Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Phe Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95

30

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 47
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 47
Leu Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 48
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 48
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

20

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 49
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 49
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

30

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Phe Phe Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 50
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 50
 Asp Thr Phe Phe Leu Asp Ser
 1 5

<210> 51
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 51
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 52
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 52
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Asp Thr Arg Tyr Gln Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

10

20

30

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 53
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53
Asp Thr Arg Tyr Gln Ser Ser
1 5

10

<210> 54
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<223> VL Domain

<400> 54
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
20 25 30

20

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

30

<210> 55
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 55
Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10

<210> 56
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> VL Domain

<400> 56
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

20

30

<210> 57
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> VL Domain

<400> 57
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Tyr Lys Gln Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 58
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 58
 Asp Thr Tyr Lys Gln Thr Ser
 1 5

<210> 59
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<220>
 <221> misc feature
 <223> VL Domain

<400> 59
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Arg Tyr Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

30

<210> 60
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 60
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Phe Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 61
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 61
 Phe Gln Gly Ser Phe Tyr Pro Phe Thr
 1 5

<210> 62
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<220>
 <221> misc_feature
 <223> VL Domain

<400> 62
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

30

<210> 63
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 63
 Asp Thr Phe Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 64
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> misc_feature
 <223> VL Domain

10

<400> 64
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

20

<210> 65
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 65
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80

30

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 66
 Asp Thr Phe Arg Leu Ala Ser
 1 5

<210> 67
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 67
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 68
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 68
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Asp Thr Tyr Arg His Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

10

20

30

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 69
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 69
Asp Thr Tyr Arg His Ser Ser
1 5

10

<210> 70
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 70
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

20

Asp Thr Tyr Lys Gln Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 71
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 71
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Phe Phe His Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 72
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 72
Ser Leu Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

10

<210> 73
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 73
Asp Thr Phe Phe His Arg Ser
1 5

<210> 74
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 74
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Leu Leu Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

30

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 75
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 75
Asp Thr Leu Leu Leu Asp Ser
1 5

<210> 76
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 76
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Phe Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 77
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 77
 Asp Thr Ser Phe Leu Asp Ser
 1 5

20

<210> 78
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 78
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
 100 105 110

30

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 79
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 79
Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 80
Lys Cys Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 81
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 81
Asp Thr Ser Tyr Leu Ala Ser
1 5

<210> 82
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 82
Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 83
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 83
Asp Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 84
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 84
Lys Cys Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85
 Asp Thr Ser Tyr Leu Ser Ser
 1 5

<210> 86
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 86
 Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
 1 5 10 15

<210> 87
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 87
 Lys Cys Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 88
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 88
 Asp Thr Lys Lys Leu Ser Ser
 1 5

<210> 89
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 89
 Lys Leu Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 90
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 90
 Asp Thr Phe Tyr Leu Ser Ser
 1 5

30

<210> 91
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 91
 Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 92
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

```

<400> 92
Lys Leu Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1          5          10

<210> 93
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 93
Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1          5          10          15

<210> 94
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 94
Ser Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val
1          5          10

<210> 95
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 95
Lys Leu Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1          5          10

<210> 96
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 96
Asp Thr Phe Lys Leu Ser Ser
1          5

<210> 97
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 97
Ser Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val
1          5          10

<210> 98
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 98
Lys Leu Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1          5          10

<210> 99
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

10

20

30

<400> 99
 Asp Thr Phe Tyr Leu Ala Ser
 1 5

<210> 100
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 100
 Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 101
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 101
 Lys Leu Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 102
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 102
 Asp Thr Ser Lys Leu Pro Ser
 1 5

<210> 103
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 103
 Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asp
 1 5 10 15

<210> 104
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 104
 Lys Leu Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

30

<210> 105
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 105
 Asp Thr Ser Gly Leu Ala Ser
 1 5

<210> 106
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 106
 Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 107
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 107
 Lys Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 108
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 108
 Asp Thr Ser Gly Leu Pro Ser
 1 5

<210> 109
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 109
 Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 110
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 110
 Lys Leu Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 111
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 111
 Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

30

<210> 112
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 112
 Lys Cys Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 113
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 113
 Asp Thr Arg Lys Leu Ala Ser
 1 5

<210> 114
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 114
 Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 115
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 115
 Lys Cys Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 116
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 116
 Asp Thr Arg Gly Leu Ala Ser
 1 5

<210> 117
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 117
 Lys Cys Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 118
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 118
 Asp Thr Arg Lys Leu Pro Ser
 1 5

30

<210> 119
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 119
 Lys Cys Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 120
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 120
 Ser Leu Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 121
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 121
 Asp Thr Met Lys Leu Ala Ser
 1 5

<210> 122
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 122
 Ser Leu Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 123
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 123
 Asp Thr Ser Arg Leu Ala Ser
 1 5

<210> 124
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 124
 Asp Thr Ser Leu Leu Ala Ser
 1 5

<210> 125
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 125
 Ser Leu Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

30

<210> 126
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 126
 Asp Thr Ser Leu Leu Asp Ser
 1 5

<210> 127
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 127
 Ser Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 128
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 128
 Asp Thr Ser Lys Leu Asp Ser
 1 5

<210> 129
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 129
 Ser Cys Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 130
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 130
 Ser Cys Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 131
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 131
 Asp Thr Leu Lys Leu Asp Ser
 1 5

<210> 132
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 132
 Ser Cys Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

30

<210> 133
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 133
 Asp Thr Leu Leu Leu Ala Ser
 1 5

<210> 134
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 134
 Ser Leu Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 135
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 135
 Asp Thr Leu Lys Leu Ala Ser
 1 5

<210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 136
 Ser Leu Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 137
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 137
 Asp Thr Ser Lys Leu Ser Ser
 1 5

<210> 138
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 138
 Ser Leu Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 139
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 139
 Asp Thr Ser Lys Gln Ala Ser
 1 5

30

<210> 140
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 140
 Ser Leu Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 141
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 141
 Asp Thr Ser Lys Gln Ser Ser
 1 5

<210> 142
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 142
 Ser Cys Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 143
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 143
 Asp Thr Ser Tyr Leu Ala Ser
 1 5

<210> 144
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 144
 Ser Cys Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 145
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 145
 Asp Thr Ser Tyr Leu Ser Ser
 1 5

<210> 146
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 146
 Ser Cys Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

30

<210> 147
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 147
 Asp Thr Ser Tyr Gln Ala Ser
 1 5

<210> 148
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 148
Ser Cys Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 149
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 149
Asp Thr Ser Tyr Gln Ser Ser
1 5

<210> 150
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 150
Lys Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 151
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 151
Asp Thr Met Tyr Gln Ala Ser
1 5

<210> 152
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 152
Lys Pro Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
1 5 10

<210> 153
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 153
Lys Pro Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

30

<210> 154
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 154
Asp Thr Met Lys Gln Ala Ser
1 5

<210> 155
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 155
 Lys Pro Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 156
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 156
 Asp Thr Met Lys Gln Ser Ser
 1 5

<210> 157
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 157
 Lys Pro Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 158
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 158
 Asp Thr Met Tyr Leu Ala Ser
 1 5

<210> 159
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 159
 Lys Pro Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 160
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 160
 Asp Thr Met Tyr Leu Ser Ser
 1 5

30

<210> 161
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 161
 Lys Pro Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 162
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 162
 Asp Thr Met Lys Leu Ala Ser
 1 5

<210> 163
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 163
 Lys Pro Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 164
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 164
 Asp Thr Met Lys Leu Ser Ser
 1 5

<210> 165
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 165
 Asp Thr Ser Lys Leu Ser Ser
 1 5

<210> 166
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 166
 Ser Pro Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 167
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 167
 Asp Thr Ser Lys Leu Ser Ser
 1 5

30

<210> 168
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 168
 Ser Pro Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 169
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 169
 Ser Pro Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 170
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 170
 Asp Thr Arg Tyr Gln Ala Ser
 1 5

<210> 171
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 171
 Ser Pro Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 172
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 172
 Asp Thr Arg Lys Gln Ser Ser
 1 5

<210> 173
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 173
 Ser Pro Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 174
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 174
 Asp Thr Arg Lys Leu Ala Ser
 1 5

30

<210> 175
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 175
 Asp Thr Arg Lys Leu Ser Ser
 1 5

<210> 176
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 176
 Ser Pro Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 177
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 177
 Ser Pro Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 178
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 178
 Asp Thr Arg Tyr Leu Ala Ser
 1 5

<210> 179
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 179
 Lys Ala Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 180
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 180
 Lys Ala Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 181
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 181
 Lys Ala Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

30

<210> 182
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 182
 Lys Ala Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 183
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 183
 Lys Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 184
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 184
 Lys Ala Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 185
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 185
 Lys Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 186
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 186
 Lys Ala Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 187
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 187
 Ser Ala Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 188
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 188
 Ser Ala Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

30

<210> 189
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 189
 Ser Ala Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 190
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 190
 Ser Ala Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 191
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 191
 Ser Ala Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 192
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 192
 Leu Pro Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 193
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 193
 Leu Pro Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 194
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 194
 Leu Pro Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 195
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 195
 Leu Cys Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

30

<210> 196
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 196
 Leu Cys Ser Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 197
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 197
 Leu Cys Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 198
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 198
 Leu Cys Ser Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 199
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 199
 Leu Pro Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 200
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 200
 Leu Pro Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 201
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 201
 Leu Pro Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 202
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 202
 Leu Pro Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

30

<210> 203
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 203
 Leu Cys Gln Ser Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 204
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 204
 Leu Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 205
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 205
 Leu Cys Gln Ser Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 206
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 206
 Leu Cys Gln Leu Arg Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 207
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 207
 Ser Ala Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
 1 5 10

<210> 208
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 208
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

30

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450

10

20

30

<210> 209
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 209
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

10

20

<210> 210
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 210
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

30

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

10

20

30

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 211
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 211
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Phe Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

10

20

30

<210> 212
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 212
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

10

20

30

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 213
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 213
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Tyr Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

10

20

30

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 214
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 214
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

10

20

30

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 215
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 215
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Arg Gly Leu Pro Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

10

20

30

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 216
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 216
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Pro
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

10

20

30

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 217
 <211> 213

10

20

30

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 217

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45
Asp Thr Met Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205
Asn Arg Gly Glu Cys
210

10

20

<210> 218
<211> 450
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 218

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
20 25 30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

30

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

10

20

30

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 219
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 219
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

10

20

30

<210> 220
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 220
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

10

20

30

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 221
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 221
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

10

20

30

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 222
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 222
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

10

20

30

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 223
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 223
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Met Tyr Gln Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

10

20

30

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 224
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 224
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

10

20

30

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 225
 <211> 213

10

20

30

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 225
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Leu Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Met Tyr Gln Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 226
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 226
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

10

20

30

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

10

20

30

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 227
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 227
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Phe Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

10

20

30

<210> 228
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 228
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Ser Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

10

20

30

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 229
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 229
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Arg Tyr Gln Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

10

20

30

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 230
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 230
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Tyr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu
 35 40 45
 Glu Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro
 50 55 60
 Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 65 70 75 80
 Val Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

10

20

30

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 231
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 231
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

10

20

30

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 232
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 232
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

10

20

30

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 233
 <211> 213

10

20

30

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 233

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
      20      25      30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
      35      40      45
Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
      50      55      60
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
      65      70      75      80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
      85      90      95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
      100      105      110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
      115      120      125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
      130      135      140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
      145      150      155      160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
      165      170      175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
      180      185      190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
      195      200      205
Asn Arg Gly Glu Cys
      210

```

<210> 234
<211> 450
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 234

```

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1      5      10      15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
      20      25      30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
      35      40      45

```

10

20

30

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

10

20

30

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 235
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 235
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Tyr Lys Gln Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

10

20

30

<210> 236
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 236

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

10

20

30

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 237
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 237
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Arg Tyr Leu Ser Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

10

20

30

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 238
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 238
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

10

20

30

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 239
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 239
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

10

20

30

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

10

<210> 240
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 240
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

30

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 241
 <211> 213

10

20

30

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 241
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Phe Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

 <210> 242
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 242
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

10

20

30

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

10

20

30

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 243
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 243
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

10

20

30

<210> 244
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 244
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

10

20

30

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 245
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 245
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

10

20

30

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 246
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 246
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Thr Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

10

20

30

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 247
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 247
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

10

20

30

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 248
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 248
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

10

20

30

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 249
 <211> 214

10

20

30

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 249

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Pro Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
      20      25      30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
      35      40      45
Asp Thr Tyr Arg His Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
      50      55      60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
      65      70      75      80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe
      85      90      95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
      100      105      110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
      115      120      125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
      130      135      140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
      145      150      155      160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
      165      170      175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
      180      185      190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
      195      200      205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
      210

```

<210> 250
<211> 450
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 250

```

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
1      5      10      15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
      20      25      30
Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
      35      40      45

```

10

20

30

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Gly Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

10

20

30

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 251
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 251
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Leu Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Phe Phe His Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

10

20

30

<210> 252
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 252
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

10

20

30

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 253
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 253
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Leu Leu Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

10

20

30

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 254
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 254
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

10

20

30

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 255
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 255
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

10

20

30

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 256
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 256
 Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ala
 20 25 30
 Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys His Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Met Ile Phe Asn Phe Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

10

20

30

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 257
 <211> 213

10

20

30

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 257
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Gly Tyr Met
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45
 Asp Thr Ser Phe Leu Asp Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
 65 70 75 80
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

10

20

<210> 258
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial

30

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Primer

<400> 258
 agtgtcttaa ccagcaaagt gttaga

26

<210> 259
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Primer

40

<400> 259
 tcattgactt gagatattga tgcac

26

【 ☒ 1 】

A

DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCKCQLSVGYMH WYQQKPG 40
CDR L1KAPKLLIY DTSKLAS GVPSR FSGSGSGTEF TLTISLQPD 80
CDR L2DFATYYC FQGSGYPFT FGGGSKLEIK 106
CDR L3

B

QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTFSGFSLT TSGMSVG WIR 40
CDR H1QPPGKALEWL A DIWWDDKKDYNPSLKS RLT ISKDTSKNOV 80
CDR H2VLKVTNMDPA DTATYYCAR SMITNWFYDV W GAGTTTVTVSS 120
CDR H3

【 ☒ 2 】

A

DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCSASSSVGYMH WYQQKPG 40
CDR L1KAPKLLIY DTSKLAS GVPSR FSGSGSGTEF TLTISLQPD 80
CDR L2DFATYYC FQGSGYPFT FGGG TKVEIK 106
CDR L3

B

QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTFSGFSLT TSGMSVG WIR 40
CDR H1QPPGKALEWL A DIWWDDKKDYNPSLKS RLT ISKDTSKNOV 80
CDR H2VLKVTNMDPA DTATYYCAR SMITNWFYDV W GAGTTTVTVSS 120
CDR H3

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/00 1 0 1
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 N	5/00 1 0 2
G 0 1 N	33/569	(2006.01)	C 1 2 P	21/08
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	G 0 1 N	33/569 G
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 K	39/395 S
A 6 1 P	31/14	(2006.01)	A 6 1 P	11/00
			A 6 1 P	31/14

- (72)発明者 コーニグ, スコット
アメリカ合衆国 2 0 8 5 2 メリーランド州, ロックヴィル, ラルソン ロード 1 0 9 0 1
- (72)発明者 ジョンソン, レスリー, エス.
アメリカ合衆国 2 0 8 7 4 メリーランド州, ジャーマンタウン, ローレル ヒル ウェイ 2 0 1 4 7
- (72)発明者 ワトキンス, ジェフリー ディー.
アメリカ合衆国 9 2 0 2 4 カリフォルニア州, エンシニタス, フォーチュナ ランチ ロード 3 4 4 2
- (72)発明者 ヒューズ, ウィリアム ディー.
アメリカ合衆国 9 2 0 1 4 カリフォルニア州, デル マル, ザッポ ストリート 1 9 9 3
- (72)発明者 ウー, ヘレン
アメリカ合衆国 2 0 8 4 1 メリーランド州, ボイズ, ハーベスト ムーン ロード 1 4 4 0 5

審査官 田中 晴絵

- (56)参考文献 特表平06-502762(JP, A)
Journal of Virology, 64(6), 1990, pp.3091-3092
Journal of Virology, 55(3), 1985, pp.517-520
Journal of Infectious Diseases, 176(5), 1997, pp.1215-1224

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07K 16/10
A61K 39/395
A61P 11/00
A61P 31/14
C12N 1/15
C12N 1/19
C12N 1/21
C12N 5/10
C12N 15/09
C12P 21/08
G01N 33/569
CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)