(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7330977号
(P7330977)

(45)発行日　令和5年8月22日(2023.8.22)

(24)登録日　令和5年8月14日(2023.8.14)

(51)国際特許分類			FI		
C12N	*15/62*	*(2006.01)*	C12N	15/62	Z
C07K	*16/46*	*(2006.01)*	C07K	16/46	ZNA
C07K	*16/28*	*(2006.01)*	C07K	16/28	
C12N	*15/13*	*(2006.01)*	C12N	15/13	
C12N	*15/63*	*(2006.01)*	C12N	15/63	Z

請求項の数　9　（全204頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-533715(P2020-533715)
(86)(22)出願日　平成30年12月19日(2018.12.19)
(65)公表番号　特表2021-506297(P2021-506297A)
(43)公表日　令和3年2月22日(2021.2.22)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/066616
(87)国際公開番号　WO2019/126398
(87)国際公開日　令和1年6月27日(2019.6.27)
審査請求日　令和3年12月17日(2021.12.17)
(31)優先権主張番号　62/607,875
(32)優先日　平成29年12月19日(2017.12.19)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/641,217
(32)優先日　平成30年3月9日(2018.3.9)
最終頁に続く

(73)特許権者　519271621
スロゼン オペレーティング， インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　Ｗｎｔサロゲート分子及びその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

可溶性かつ多価性かつ多重特異的なＷｎｔサロゲート分子であって、（ｉ）１つ以上のフリズルド（Ｆｚｄ）受容体と特異的に結合する１つ以上のＦｚｄ結合領域と、（ｉｉ）低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）受容体関連タンパク質５（ＬＲＰ５）及び／または低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）受容体関連タンパク質６（ＬＲＰ６）と特異的に結合する１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域とを含み、

前記１つ以上のＦｚｄ結合領域が、フリズルド５（Ｆｚｄ５）およびフリズルド８（Ｆｚｄ８）に特異的に結合する１つ以上の抗体または前記抗体の抗原結合フラグメントを含み、前記１つ以上の抗体または前記抗原結合フラグメントが、配列番号３０７のＣＤＲＨ１、配列番号５０１のＣＤＲＨ２、配列番号９６４のＣＤＲＨ３、配列番号１０９８のＣＤＲＬ１、配列番号１１７５のＣＤＲＬ２及び配列番号１３７２のＣＤＲＬ３配列を含み、

前記１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域が、１つ以上の抗体または前記抗体の抗原結合フラグメントを含み、前記１つ以上の抗体または前記抗原結合フラグメントが、配列番号１６１８のＣＤＲＨ１、配列番号１７１５のＣＤＲＨ２、及び配列番号２０１２のＣＤＲＨ３配列を含む、Ｗｎｔサロゲート分子。

【請求項２】

請求項１に記載のＷｎｔサロゲート分子であって、前記Ｗｎｔサロゲート分子が、（ｉ）２つのＦｚｄ結合領域と、（ｉｉ）２つのＬＲＰ５／６結合領域とを含み、

前記Ｆｚｄ結合領域の各々が、１つ以上の抗体またはその抗原結合フラグメントを含み、

前記１つ以上の抗体または前記その抗原結合フラグメントが、配列番号３０７のＣＤＲＨ１、配列番号５０１のＣＤＲＨ２、配列番号９６４のＣＤＲＨ３、配列番号１０９８のＣＤＲＬ１、配列番号１１７５のＣＤＲＬ２及び配列番号１３７２のＣＤＲＬ３配列を含み、前記ＬＲＰ５／６結合領域の各々が、１つ以上の抗体またはその抗原結合フラグメントを含み、前記１つ以上の抗体または前記その抗原結合フラグメントが、配列番号１６１８のＣＤＲＨ１、配列番号１７１５のＣＤＲＨ２、及び配列番号２０１２のＣＤＲＨ３配列を含む、Ｗｎｔサロゲート分子。

【請求項３】

前記Ｗｎｔサロゲート分子が、配列番号１３７に記載の配列に対し少なくとも９０％の同一性を有する１つ以上のポリペプチドと、配列番号１５３に記載の配列に対し少なくとも９０％の同一性を有する１つ以上のポリペプチドとを含む、請求項１に記載のＷｎｔサロゲート分子。

【請求項４】

前記Ｗｎｔサロゲート分子が、配列番号１３７に記載の配列に対し少なくとも９０％の同一性を有する２つのポリペプチドと、配列番号１５３に記載の配列に対し少なくとも９０％の同一性を有する２つのポリペプチドとを含む、請求項２に記載のＷｎｔサロゲート。

【請求項５】

前記Ｆｚｄ結合領域が、２つの軽鎖と２つの重鎖を含む全長免疫グロブリンＧ（ＩｇＧ）を含み、前記ＬＲＰ５／６結合領域がＶＨＨを含む、請求項１に記載のＷｎｔサロゲート分子。

【請求項６】

前記１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域の各々が、前記軽鎖のうちの１つのＮ末端と融合している、請求項５に記載のＷｎｔサロゲート分子。

【請求項７】

前記１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域の各々が、リンカー部分を介して前記軽鎖のうちの１つと融合している、請求項６に記載のＷｎｔサロゲート分子。

【請求項８】

生理的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、請求項２に記載のＷｎｔサロゲート分子の治療有効量とを含む、医薬組成物。

【請求項９】

生理的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、請求項４に記載のＷｎｔサロゲート分子の治療有効量とを含む、医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の相互参照

本出願は、２０１７年１２月１９日に出願された米国仮出願第６２／６０７，８７５号、２０１８年３月９日に出願された米国仮出願第６２／６４１，２１７号、及び２０１８年６月４日に出願された米国仮出願第６２／６８０，５２２号の優先権を主張し、これらの各々はその全体が参照により本明細書に援用される。

【０００２】

配列表に関する記述

本発明に付随する配列表は、紙の複写の代わりにテキスト形式で提供され、参照により本明細書に援用される。配列表を含むテキストファイルの名称は、ＳＲＺＮ＿００６＿０３ＷＯ＿ＳＴ２５．ｔｘｔである。このテキストファイルは、１．２ＭＢであり、２０１８年１２月１９日に作成され、ＥＦＳ－Ｗｅｂを介して電子的に提出されている。

【０００３】

本発明は概して、Ｗｎｔシグナリング経路アゴニスト分子ならびにＷｎｔシグナリング経路アゴニスト分子を用いた組成物及び使用方法に関する。このような分子は、例えば、Ｗｎｔシグナリング経路の調節に有用である。

【背景技術】
【０００４】
Ｗｎｔ（「ウイングレス関連統合部位」または「ウイングレス及びＩｎｔ－１」または「ウイングレス－Ｉｎｔ」）リガンド及びそのシグナルは、多くの本質的な臓器及び組織（骨、肝臓、皮膚、胃、腸、腎臓、中枢神経系、乳腺、味蕾、卵巣、蝸牛、及び他の多くの組織を含む）の発生、ホメオスタシス、及び再生の調節において重要な役割を担っている（例えば、Ｃｌｅｖｅｒｓ，Ｌｏｈ，ａｎｄ　Ｎｕｓｓｅ，２０１４；３４６：１２４８０１２により概説されている）。Ｗｎｔシグナリング経路の調節は、変性性疾患及び組織損傷の治療に有力である。
Ｗｎｔシグナリング調節の治療薬としての課題の１つは、複数のＷｎｔリガンド及びＷｎｔ受容体、フリズルド１～１０（Ｆｚｄ１～１０）の存在であり、多くの組織が複数の重複するＦｚｄを発現する。また、カノニカルＷｎｔシグナルは、Ｆｚｄに加えて、共受容体として、様々な組織内で広く発現する低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）受容体関連タンパク質５（ＬＲＰ５）または低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）受容体関連タンパク質６（ＬＲＰ６）にも関係する。したがって、当技術分野では、Ｗｎｔシグナリング経路を調節するための１つ以上のＦｚｄ、ＬＲＰ５、またはＬＲＰ６と特異的に結合する結合部分が明確に必要とされている。本発明は、この必要性に対処するものである。
【先行技術文献】
【非特許文献】
【０００５】
【文献】Ｃｌｅｖｅｒｓ，Ｌｏｈ，ａｎｄ　Ｎｕｓｓｅ，２０１４；３４６：１２４８０１２
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００６】
様々な実施形態において、本発明は、ＷＮＴサロゲート分子及びその関連する使用を提供する。
【０００７】
１つの実施形態において、本開示は、可溶性かつ２価かつ二重特異的なＷｎｔサロゲート分子であって、（ｉ）１つ以上のフリズルド（Ｆｚｄ）受容体と特異的に結合する１つ以上の領域（Ｆｚｄ結合領域）と、（ｉｉ）低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）受容体関連タンパク質５（ＬＲＰ５）及び／または低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）受容体関連タンパク質６（ＬＲＰ６）と特異的に結合する１つ以上の領域（ＬＲＰ５／６結合領域）と、を含む、Ｗｎｔサロゲート分子を提供する。
【０００８】
特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、２つ以上のＦｚｄ結合領域と、２つ以上のＬＲＰ５／６結合領域とを含む。特定の実施形態において、１つ以上のＦｚｄ結合領域は、抗体の１つ以上の抗原結合フラグメントを含む。特定の実施形態において、１つ以上の抗原結合フラグメントは、ＩｇＧ、ｓｃＦｖ、Ｆａｂ、及びＶＨＨまたはｓｄＡｂからなる群より選択される。
【０００９】
特定の実施形態において、任意のＦｚｄ抗原結合フラグメントは、（ｉ）表１Ａまたは１Ｂの抗体のいずれかについて記載されたＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２、及びＣＤＲＨ３配列、ならびに／または（ｉｉ）表１Ａまたは１Ｂの抗体のいずれかについて記載されたＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、及びＣＤＲＬ３配列、あるいは１つ以上のアミノ酸修飾を含む当該Ｆｚｄ結合領域のバリアントであって、当該ＣＤＲ配列中に８つ未満のアミノ酸置換を含む、バリアントを含む。特定の実施形態において、任意のＦｚｄ結合領域は、配列番号１～６５もしくは１２９～１３２に記載の配列のいずれかに対し少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列、またはその抗原結合フラグメントを含む。
【００１０】

特定の実施形態において、任意のＦｚｄ結合領域は、フリズルド１（Ｆｚｄ１）、フリズルド２（Ｆｚｄ２）、フリズルド３（Ｆｚｄ３）、フリズルド４（Ｆｚｄ４）、フリズルド５（Ｆｚｄ５）、フリズルド６（Ｆｚｄ６）、フリズルド７（Ｆｚｄ７）、フリズルド８（Ｆｚｄ８）、フリズルド９（Ｆｚｄ９）、及びフリズルド１０（Ｆｚｄ１０）のうちの１つ以上に結合する。特定の実施形態において、任意のＦｚｄ結合領域は、フリズルド１（Ｆｚｄ１）、フリズルド２（Ｆｚｄ２）、フリズルド３（Ｆｚｄ３）、フリズルド４（Ｆｚｄ４）、フリズルド５（Ｆｚｄ５）、フリズルド６（Ｆｚｄ６）、フリズルド７（Ｆｚｄ７）、フリズルド８（Ｆｚｄ８）、フリズルド９（Ｆｚｄ９）、及びフリズルド１０（Ｆｚｄ１０）のうちの２つ以上に結合する。特定の実施形態において、任意のＦｚｄ結合領域は、（ｉ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ９；（ｉｉ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、及びＦｚｄ７；（ｉｉｉ）Ｆｚｄ５及びＦｚｄ８；（ｉｖ）Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８；（ｖ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ４、Ｆｚｄ５、及びＦｚｄ８；（ｖｉ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８；（ｖｉｉ）Ｆｚｄ４及びＦｚｄ９；（ｖｉｉｉ）Ｆｚｄ９及びＦｚｄ１０；（ｉｘ）Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ８、及びＦｚｄ１０；（ｘ）Ｆｚｄ４、Ｆｚｄ５、及びＦｚｄ８；Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８に結合する。

【００１１】

特定の実施形態において、任意のサロゲート分子は、抗体の１つ以上の抗原結合フラグメントを含む１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域を含む。特定の実施形態において、１つ以上の抗原結合フラグメントは、ＩｇＧ、ｓｃＦｖ、Ｆａｂ、及びＶＨＨまたはｓｄＡｂからなる群より選択される。特定の実施形態において、１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域または抗原結合フラグメントのいずれかは、（ｉ）表２の抗体のいずれかについて記載されたＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２、及びＣＤＲＨ３配列、ならびに／または（ｉｉ）表２の抗体のいずれかについて記載されたＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、及びＣＤＲＬ３配列、あるいは１つ以上のアミノ酸修飾を含む当該ＬＲＰ５／６結合領域のバリアントであって、当該ＣＤＲ配列中に８つ未満のアミノ酸置換を含む、バリアントを含む。特定の実施形態において、１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域のいずれかは、配列番号６６～８８もしくは１３３に記載の配列のいずれかに対し少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列、またはその抗原結合フラグメントを含む。

【００１２】

任意のＷｎｔサロゲート分子における特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域はＦａｂを含み、ＬＲＰ５／６結合領域はＶＨＨまたはｓｄＡｂを含む。特定の実施形態において、Ｆａｂは、軽鎖及び重鎖を含む全免疫グロブリン（Ｉｇ）内、任意選択でＩｇＧ内に存在する。特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合領域は、重鎖のＮ末端またはＣ末端と融合している。特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合領域は、軽鎖のＮ末端またはＣ末端と融合している。ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合領域は、全Ｉｇの重鎖のＮ末端または全Ｉｇの軽鎖のＮ末端と融合している。ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合領域は、全Ｉｇの重鎖のＣ末端または全Ｉｇの軽鎖のＣ末端と融合している。ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合Ｆａｂの可変軽鎖領域は、全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合している。ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合Ｆａｂの可変軽鎖領域は、全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、ＬＲＰ５／６結合Ｆａｂの可変重鎖領域は、全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している。特定の実施形態において、任意のＬＲＰ５／６結合領域は、１つ以上のリンカー部分を介して重鎖または軽鎖と融合している。

【００１３】

任意のＷｎｔサロゲート分子のある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域はＶＨＨまたはｓｄＡｂを含み、ＬＲＰ５／６結合領域はＦａｂを含む。特定の実施形態において、Ｆａｂは、軽鎖及び重鎖を含む全免疫グロブリン（Ｉｇ）内、任意選択でＩｇＧ内に存在する。ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域は、重鎖のＮ末端またはＣ末端と融合している。ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域は、軽鎖のＮ末端またはＣ

末端と融合している。いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合領域は、全ＩｇのＮ末端または全Ｉｇの軽鎖のＮ末端と融合している。いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合領域は、全Ｉｇの重鎖のＣ末端または全Ｉｇの軽鎖のＣ末端と融合している。いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合ＦａｂのＮ末端と融合している。いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合Ｆａｂの可変軽鎖領域は、全ＩｇのＮ末端と融合し、Ｆｚｄ結合Ｆａｂの可変重鎖領域は、全ＩｇＧのＮ末端と融合している。ある特定の実施形態において、任意のＦｚｄ結合領域は、１つ以上のリンカー部分を介して重鎖または軽鎖と融合している。

【００１４】

別の実施形態において、任意のＦｚｄ結合領域はＦａｂまたはＦｖを含み、ＬＲＰ５／６結合領域はＦａｂまたはＦｖを含む。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域のＦａｂまたはＬＲＰ５／６結合領域のＦａｂは、軽鎖及び重鎖を含む全免疫グロブリン（Ｉｇ）内、任意選択でＩｇＧ内に存在する。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域のＦａｂまたはＬＲＰｐ５／６結合領域のＦａｂのうちの１つのみが、全免疫グロブリン（Ｉｇ）内に存在する。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域のＦａｂまたはＦｖは、全Ｉｇ内に存在する。特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合領域のＦａｂまたはＦｖは、ＩｇのＮ末端と融合している。特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合領域のＦａｂは、ＩｇのＣ末端と融合している。さらなる実施形態において、ＬＲＰ５／６結合領域のＦａｂは、全Ｉｇ内に存在する。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域のＦａｂは、ＩｇのＮ末端と融合している。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域のＦａｂは、ＩｇのＣ末端と融合している。いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合Ｆａｂの可変軽鎖領域は、全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、Ｆｚｄ結合Ｆａｂの可変重鎖領域は、全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している。いくつかの実施形態において、ＬＲＰ５／６結合Ｆｖの可変軽鎖領域は、全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、ＬＲＰ５／６結合Ｆｖの可変重鎖領域は、全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している。いくつかの実施形態において、ＬＲＰ５／６結合Ｆｖの可変重鎖領域は、全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、ＬＲＰ５／６結合Ｆｖの可変軽鎖領域は、全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している。いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合Ｆｖの可変軽鎖領域は、全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、Ｆｚｄ結合Ｆｖの可変重鎖領域は、全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している。いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合Ｆｖの可変重鎖領域は、全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、Ｆｚｄ結合Ｆｖの可変軽鎖領域は、全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している。

【００１５】

別の実施形態において、任意のＦｚｄ結合領域はＶＨＨまたはｓｄＡｂを含み、ＬＲＰ５／６結合領域はＶＨＨまたはｓｄＡｂを含む。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域はＬｒｐ５／６結合領域と融合し、Ｆｚｄ結合領域またはＬＲＰ５／６結合領域はＦｃ領域と融合している。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域はＦｃ領域のＮ末端と融合し、ＬＲＰ５／６結合領域はＦｃ領域のＣ末端と融合している。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域はＦｃ領域のＣ末端と融合し、ＬＲＰ５／６結合領域はＦｃ領域のＮ末端と融合している。

【００１６】

さらなる実施形態において、任意の抗体またはその１つ以上の抗原結合フラグメントは、ヒト化されている。さらなる実施形態において、任意のＷｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄ受容体に５０μＭ以下のK_Dで結合する。さらなる実施形態において、任意のＷｎｔサロゲート分子は、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に５０μＭ以下のK_Dで結合する。

【００１７】

さらなる実施形態において、任意のＷｎｔサロゲート分子は、細胞内の、任意選択で哺乳類細胞内のＷｎｔシグナリング経路を調節する。特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、細胞内のＷｎｔシグナリング経路を介したシグナリングを増加させる。特

定の実施形態において、Ｗｎｔシグナリング経路は、カノニカルＷｎｔシグナリング経路または非カノニカルＷｎｔシグナリング経路である。

【００１８】

関連する実施形態において、本開示は、Ｗｎｔサロゲート分子のＦｚｄ結合領域の１つ以上及び／または前記ＬＲＰ５／６結合領域の１つ以上を含むポリペプチド配列をコードする、単離ポリヌクレオチドを提供する。特定の実施形態において、本開示は、単離ポリヌクレオチドを含む発現ベクターを提供する。さらなる特定の実施形態において、本開示は、発現ベクターを含む単離宿主細胞を提供する。

【００１９】

関連する実施形態において、本開示は、生理的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、本明細書で開示されている任意のＷｎｔサロゲート分子の治療有効量とを含む、医薬組成物を提供する。

【００２０】

関連する実施形態において、本開示は、細胞内のＷｎｔシグナリング経路を刺激するための方法であって、細胞を任意のＷｎｔサロゲート分子に接触させることを含み、Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路のアゴニストである、方法を提供する。

【００２１】

特定の実施形態において、本開示は、Ｗｎｔシグナリング低減に関連する疾患または障害を有する対象を治療するための方法であって、対象に、医薬組成物の有効量を投与することを含み、Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路のアゴニストである、方法を提供する。特定の実施形態において、疾患または障害は、骨折、骨粗鬆症（例えば、閉経後骨粗鬆症）、骨粗鬆症性骨折、脊椎癒合、脊椎圧迫骨折、脊椎手術の術前最適化、整形外科デバイスの骨結合、腱－骨結合、歯の成長及び再生、歯科インプラント、歯周病、顎顔面再構築、顎の骨壊死、変形性関節症（ＯＡ）、筋ジストロフィー、サルコペニアまたはカヘキシーに起因する筋萎縮、脱毛症、難聴（内及び外有毛細胞の再生を含む）、前庭機能低下、黄斑変性、硝子体網膜症、網膜変性疾患（糖尿病性網膜症を含む）、血液脳関門の完全性に影響を及ぼす疾患／障害、フックスジストロフィー、卒中、外傷性脳損傷、アルツハイマー病、多発性硬化症、脊髄損傷、口腔粘膜炎、短腸症候群、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）（クローン病（ＣＤ）及び潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、特に瘻孔形成を伴うＩＢＤを含む）、メタボリックシンドローム、糖尿病、脂質異常症、膵炎、膵外分泌不全、創傷治癒、糖尿病性足部潰瘍、冠動脈疾患、急性腎損傷、慢性腎疾患、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、肺線維症（特発性肺線維症を含む）、急性肝不全、急性アルコール性肝損傷、Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）による慢性肝疾患、抗ウイルス薬療法後のＨＣＶ対象、Ｂ型肝炎ウイルス（ＨＢＶ）による慢性肝疾患、線維症、抗ウイルス薬療法後のＨＢＶ対象、慢性アルコール性肝疾患、アルコール性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患及び非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）、肝硬変、ならびにあらゆる原因の慢性肝不全からなる群より選択される。ある特定の実施形態において、疾患または状態は、骨疾患または骨障害である。特定の実施形態において、疾患または障害は骨疾患または骨障害であり、Ｗｎｔサロゲート分子は、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、及びＦＺＤ７に結合し、かつＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合する。ある特定の実施形態において、疾患または障害は骨疾患または骨障害であり、Ｗｎｔサロゲート分子は、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、ＦＺＤ７、Ｆｚｄ５、及びＦｚｄ８に結合し、かつＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６にも結合する。

【００２２】

別の関連する実施形態において、本開示は、その必要のある対象における、骨ミネラル密度を増加させる、骨体積を増加させる、骨皮質厚を増加させる、骨ミネラル付着率を増加させる、骨の剛性を増加させる、骨の生体力学的強度を増加させる、骨折に対する耐性を増加させる、骨吸収を減少させる、または骨粗鬆症に関連する骨喪失を減少させるための方法であって、対象に、Ｗｎｔサロゲート分子を含む医薬組成物の有効量を提供することを含み、Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路のアゴニストである、方法を提供する。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２

、及びＦＺＤ７に結合し、かつＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合する。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、ＦＺＤ７、Ｆｚｄ５、及びＦｚｄ８に結合し、かつＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６にも結合する。

【００２３】

特定の実施形態において、骨粗鬆症（例えば、閉経後骨粗鬆症）などの骨疾患または骨障害の治療または防止に関連する方法を含めた本発明の方法は、さらに、対象に（Ｗｎｔサロゲート分子と組み合わせて）骨吸収抑制剤を提供することを含む。骨吸収抑制剤の例としては、限定されるものではないが、ビスホスホネートまたは選択的エストロゲン受容体調節物質が挙げられる。骨吸収抑制剤は、骨粗鬆症を有する個体の骨強度を増加させるために使用され、これには５つの主要な薬剤クラス：ビスホスホネート、エストロゲン、選択的エストロゲン受容体調節物質（ＳＥＲＭ）、カルシトニン、及びデノスマブなどのモノクローナル抗体が含まれ、これらのいずれかが使用され得る。骨吸収抑制剤の例示的な例としては、限定されるものではないが、ビスホスホネート、例えば、アレンドロネートと一般に称される医薬品（商品名：Ｆｏｓａｍａｘ（商標）、Ｆｏｓａｍａｘ（商標）Ｐｌｕｓ　Ｄ））、リセドロネート（商品名：Ａｃｔｏｎｅｌ（商標）、カルシウム入りＡｃｔｏｎｅｌ（商標））、イバンドロネート（商品名：Ｂｏｎｉｖａ（商標））、及びゾレドロン酸（商品名：Ｒｅｃｌａｓｔ（商標））；その他の骨吸収抑制剤、例えば、エストロゲン療法またはホルモン療法、ラロキシフェン（商品名：Ｅｖｉｓｔａ（商標））、及びデノスマブ（Ｐｒｏｌｉａ（商標））；ならびにタンパク同化医薬品、例えば、テリパラチド（Ｆｏｒｔｅｏ（商標））が挙げられる。

【００２４】

さらなる関連する実施形態において、本開示は、その必要のある対象における、肝臓対体重比を増加させる、肝臓再生を促進する、肝細胞の増殖または有糸分裂を増加させる、肝線維化、任意選択で慢性肝損傷の後の肝線維化、を減少させる、肝細胞機能を増加させる、または肝臓における凝固時間を減少させるための方法であって、対象に、Ｗｎｔサロゲート分子を含む医薬組成物の有効量を提供することを含み、Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路のアゴニストである、方法を提供する。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

（項目１）

可溶性かつ多価性かつ多重特異的なＷｎｔサロゲート分子であって、（ｉ）１つ以上のフリズルド（Ｆｚｄ）受容体と特異的に結合する１つ以上の領域（Ｆｚｄ結合領域）と、（ｉｉ）低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）受容体関連タンパク質５（ＬＲＰ５）及び／または低密度リポタンパク質（ＬＤＬ）受容体関連タンパク質６（ＬＲＰ６）と特異的に結合する１つ以上の領域（ＬＲＰ５／６結合領域）とを含む、Ｗｎｔサロゲート分子。

（項目２）

１つ以上のＦｚｄ結合領域と、１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域とを含む、項目１に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目３）

前記１つ以上のＦｚｄ結合領域が抗体の１つ以上の抗原結合フラグメントを含む、項目１に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目４）

前記１つ以上の抗原結合フラグメントが、ＩｇＧ、ｓｃＦｖ、Ｆａｂ、及びＶＨＨまたは単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）からなる群より選択される、項目３に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目５）

前記１つ以上のＦｚｄ抗原結合フラグメントが、（ｉ）表１Ａまたは１Ｂの抗体のいずれかについて記載されたＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２、及びＣＤＲＨ３配列、ならびに／または（ｉｉ）表１Ａまたは１Ｂの抗体のいずれかについて記載されたＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、及びＣＤＲＬ３配列、あるいは１つ以上のアミノ酸修飾を含む前記Ｆｚｄ結合領域のバリアントであって、前記ＣＤＲ配列中に８つ未満のアミノ酸置換を含む、バリアントを

含む、項目３～４のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目６）
前記１つ以上のＦｚｄ結合領域が、配列番号１～６５または１２９～１３２に記載の配列のいずれかに対し少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列、またはその抗原結合フラグメントを含む、項目３～５のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目７）
前記１つ以上のＦｚｄ結合領域が、フリズルド１（Ｆｚｄ１）、フリズルド２（Ｆｚｄ２）、フリズルド３（Ｆｚｄ３）、フリズルド４（Ｆｚｄ４）、フリズルド５（Ｆｚｄ５）、フリズルド６（Ｆｚｄ６）、フリズルド７（Ｆｚｄ７）、フリズルド８（Ｆｚｄ８）、フリズルド９（Ｆｚｄ９）、及びフリズルド１０（Ｆｚｄ１０）のうちの１つ以上に結合する、項目１～６のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目８）
前記１つ以上のＦｚｄ結合領域が、フリズルド１（Ｆｚｄ１）、フリズルド２（Ｆｚｄ２）、フリズルド３（Ｆｚｄ３）、フリズルド４（Ｆｚｄ４）、フリズルド５（Ｆｚｄ５）、フリズルド６（Ｆｚｄ６）、フリズルド７（Ｆｚｄ７）、フリズルド８（Ｆｚｄ８）、フリズルド９（Ｆｚｄ９）、及びフリズルド１０（Ｆｚｄ１０）のうちの２つ以上に結合する、項目７に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目９）
前記１つ以上のＦｚｄ結合領域が、（ｉ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ９；（ｉｉ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、及びＦｚｄ７；（ｉｉｉ）Ｆｚｄ５及びＦｚｄ８；（ｉｖ）Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８；（ｖ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ４、Ｆｚｄ５、及びＦｚｄ８；（ｖｉ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８；（ｖｉｉ）Ｆｚｄ４及びＦｚｄ９；（ｖｉｉｉ）Ｆｚｄ９及びＦｚｄ１０；（ｉｘ）Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ８、及びＦｚｄ１０；（ｘ）Ｆｚｄ４、Ｆｚｄ５、及びＦｚｄ８；Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８に結合する、項目８に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目１０）
前記１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域が抗体の１つ以上の抗原結合フラグメントを含む、項目１～９のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目１１）
前記１つ以上の抗原結合フラグメントが、ＩｇＧ、ｓｃＦｖ、Ｆａｂ、及びＶＨＨまたはｓｄＡｂからなる群より選択される、項目１０に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目１２）
前記１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域または抗原結合フラグメントが、（ｉ）表２の抗体のいずれかについて記載されたＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２、及びＣＤＲＨ３配列、ならびに／または（ｉｉ）表２の抗体のいずれかについて記載されたＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、及びＣＤＲＬ３配列、あるいは１つ以上のアミノ酸修飾を含む前記ＬＲＰ５／６結合領域のバリアントであって、前記ＣＤＲ配列中に８つ未満のアミノ酸置換を含む、バリアントを含む、項目１～１１のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目１３）
前記１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域が、配列番号６６～８８または１３３に記載の配列のいずれかに対し少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列、またはその抗原結合フラグメントを含む、項目１０～１２のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目１４）
前記Ｆｚｄ結合領域及び前記ＬＲＰ５／６結合領域が、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲートのいずれかについて表３に記載された配列を含む、項目１～１３のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート。
（項目１５）
前記Ｆｚｄ結合領域がＦａｂを含み、前記ＬＲＰ５／６結合領域がＶＨＨもしくはｓｄＡｂまたはｓｃＦｖを含む、項目１～１４のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目１６）

前記Ｆａｂが、軽鎖及び重鎖を含む全免疫グロブリン（Ｉｇ）内、任意選択でＩｇＧ内に存在する、項目１５に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目１７）
前記ＬＲＰ５／６結合領域が、前記重鎖のＮ末端もしくはＣ末端と融合しているか、または前記軽鎖のＮ末端もしくはＣ末端と融合している、項目１６に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目１８）
前記ＬＲＰ５／６結合領域が、１つ以上のリンカー部分を介して前記重鎖または前記軽鎖と融合している、項目１７に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目１９）
前記Ｆｚｄ結合領域がＶＨＨもしくはｓｄＡｂまたはｓｃＦｖを含み、前記ＬＲＰ５／６結合領域がＦａｂを含む、項目１～１４のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目２０）
前記Ｆａｂが、軽鎖及び重鎖を含む全免疫グロブリン（Ｉｇ）内、任意選択でＩｇＧ内に存在する、項目１９に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目２１）
前記Ｆｚｄ結合領域が、前記重鎖のＮ末端またはＣ末端と融合している、項目２０に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目２２）
前記Ｆｚｄ結合領域が、前記軽鎖のＮ末端またはＣ末端と融合している、項目２０に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目２３）
前記Ｆｚｄ結合領域が、１つ以上のリンカー部分を介して前記重鎖または前記軽鎖と融合している、項目２１または項目２２に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目２４）
前記Ｆｚｄ結合領域がＦａｂまたはＦｖを含み、前記ＬＲＰ５／６結合領域がＦａｂまたはＦｖを含む、項目１～１４のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目２５）
前記Ｆｚｄ結合領域の前記Ｆａｂまたは前記ＬＲＰ５／６結合領域の前記Ｆａｂが、軽鎖及び重鎖を含む全免疫グロブリン（Ｉｇ）内、任意選択でＩｇＧ内に存在する、項目２４に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目２６）
前記Ｆｚｄ結合領域の前記Ｆａｂまたは前記ＬＲＰｐ５／６結合領域の前記Ｆａｂのうちの１つのみが、前記全免疫グロブリン（Ｉｇ）内に存在する、項目２５に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目２７）
前記Ｆｚｄ結合領域の前記Ｆａｂが前記全Ｉｇ内に存在する、項目２６に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目２８）
前記ＬＲＰ５／６結合領域の前記ＦａｂまたはＦｖが、前記ＩｇのＮ末端、任意選択で前記全Ｉｇの前記重鎖のＮ末端または前記全Ｉｇの前記軽鎖のＮ末端、と融合している、項目２７に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目２９）
前記ＬＲＰ５／６結合領域の前記Ｆａｂが、前記ＩｇのＣ末端、任意選択で前記全Ｉｇの前記重鎖のＣ末端または前記全Ｉｇの前記軽鎖のＣ末端、と融合している、項目２７に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目３０）
前記ＬＲＰ５／６結合Ｆａｂの可変軽鎖領域が、前記全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合している、項目２７に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目３１）

前記ＬＲＰ５／６結合Ｆａｂの可変軽鎖領域が、前記全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、前記ＬＲＰ５／６結合Ｆａｂの可変重鎖領域が、前記全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している、項目２７に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目３２）

前記ＬＲＰ５／６結合Ｆｖの可変軽鎖領域が、前記全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、前記ＬＲＰ５／６結合Ｆｖの可変重鎖領域が、前記全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している、項目２７に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目３３）

前記ＬＲＰ５／６結合Ｆｖの可変重鎖領域が、前記全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、前記ＬＲＰ５／６結合Ｆｖの可変軽鎖領域が、前記全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している、項目２７に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目３４）

前記ＬＲＰ５／６結合領域の前記Ｆａｂが前記全Ｉｇ内に存在する、項目２６に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目３５）

前記Ｆｚｄ結合領域の前記ＦａｂまたはＦｖが、前記ＩｇのＮ末端、任意選択で前記全Ｉｇの前記重鎖のＮ末端または前記全Ｉｇの前記軽鎖のＮ末端、と融合している、項目３４に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目３６）

前記Ｆｚｄ結合領域の前記ＦａｂまたはＦｖが、前記ＩｇのＣ末端、任意選択で前記全Ｉｇの前記重鎖のＣ末端または前記全Ｉｇの前記軽鎖のＣ末端、と融合している、項目３４に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目３７）

前記Ｆｚｄ結合Ｆａｂの可変軽鎖領域が、前記全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合している、項目３４に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目３８）

前記Ｆｚｄ結合Ｆａｂの可変軽鎖領域が、前記全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、前記Ｆｚｄ結合Ｆａｂの可変重鎖領域が、前記全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している、項目３４に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目３９）

前記Ｆｚｄ結合Ｆｖの可変軽鎖領域が、前記全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、前記Ｆｚｄ結合Ｆｖの可変重鎖領域が、前記全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している、項目３４または項目３５に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目４０）

前記Ｆｚｄ結合Ｆｖの可変重鎖領域が、前記全Ｉｇの可変重鎖領域のＮ末端と融合し、前記Ｆｚｄ結合Ｆｖの可変軽鎖領域が、前記全ＩｇＧの可変軽鎖領域のＮ末端と融合している、項目３４または項目３５に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目４１）

前記Ｆｚｄ結合領域がＶＨＨもしくはｓｄＡｂまたはｓｃＦｖを含み、前記ＬＲＰ５／６結合領域がＶＨＨもしくはｓｄＡｂまたはｓｃＦｖを含む、項目１～１４のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目４２）

前記Ｆｚｄ結合領域が前記Ｌｒｐ５／６結合領域と融合し、前記Ｆｚｄ結合領域または前記ＬＲＰ５／６結合領域がＦｃ領域と融合している、項目４１に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目４３）

前記Ｆｚｄ結合領域がＦｃ領域のＮ末端と融合し、前記ＬＲＰ５／６結合領域がＦｃ領域のＣ末端と融合している、項目４１に記載のＷｎｔサロゲート分子。

（項目４４）

前記Ｆｚｄ結合領域がＦｃ領域のＣ末端と融合し、前記ＬＲＰ５／６結合領域がＦｃ領

域のＮ末端と融合している、項目４１に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目４５）
前記サロゲート分子が、図１Ａ～Ｄ、１０Ａ、１５Ａ、１６Ａ、または１８Ａに記載された構造を有する、項目１～１４のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目４６）
前記その１つ以上の抗原結合フラグメントがヒト化されている、項目１～４５のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目４７）
前記１つ以上のＦｚｄ受容体に５０μＭ以下のＫＤで結合する、項目１～４６のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目４８）
前記１つ以上のＬＲＰ５／６受容体に５０μＭ以下のＫＤで結合する、項目１～４７のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目４９）
任意選択で哺乳類細胞である細胞内のＷｎｔシグナリング経路を調節する、項目１～４８のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目５０）
前記Ｗｎｔシグナリング経路が、カノニカルＷｎｔシグナリング経路または非カノニカルＷｎｔシグナリング経路である、項目４９に記載のＷｎｔサロゲート。
（項目５１）
前記細胞内の前記Ｗｎｔシグナリング経路を介したシグナリングを増加させる、項目４９または項目５０に記載のＷｎｔサロゲート分子。
（項目５２）
項目１～５１のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子の前記Ｆｚｄ結合領域の１つ以上及び／または前記ＬＲＰ５／６結合領域の１つ以上を含むポリペプチド配列をコードする、単離ポリヌクレオチド。
（項目５３）
項目５２に記載の単離ポリヌクレオチドを含む、発現ベクター。
（項目５４）
項目５３に記載の発現ベクターを含む、単離宿主細胞。
（項目５５）
生理的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体と、項目１～５１のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子、項目５２に記載のポリヌクレオチド、項目５３に記載の発現細胞、または項目５４に記載の宿主細胞の治療有効量とを含む、医薬組成物。
（項目５６）
細胞内のＷｎｔシグナリング経路を刺激するための方法であって、前記細胞を、項目１～５１のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子、項目５２に記載のポリヌクレオチド、項目５３に記載の発現細胞、または項目５４に記載の宿主細胞に接触させることを含み、前記Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路のアゴニストである、方法。
（項目５７）
Ｗｎｔシグナリングの低減に関連する疾患または障害を有する対象を治療するための方法であって、前記対象に、項目１～５１のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子、項目５２に記載のポリヌクレオチド、項目５３に記載の発現細胞、項目５４に記載の宿主細胞、または項目５５に記載の医薬組成物の有効量を投与することを含み、前記Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路のアゴニストである、方法。
（項目５８）
前記疾患または障害が骨疾患または骨障害である、項目５７に記載の方法。
（項目５９）
前記Ｗｎｔサロゲート分子が、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、及びＦＺＤ７に結合し、かつＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合する、項目５８に記載の方法。

（項目６０）
前記Ｗｎｔサロゲート分子がＦｚｄ５及びＦｚｄ８にも結合する、項目５９に記載の方法。
（項目６１）
前記疾患または障害が、骨折、疲労骨折、脊椎圧迫骨折、骨粗鬆症、骨粗鬆症性骨折、癒合不全骨折、癒合遅延骨折、脊椎固定、脊椎手術のための術前最適化、骨壊死、移植または整形外科デバイスの骨結合、骨形成不全症、骨移植、腱修復、腱－骨結合、歯の成長及び再生、顎顔面手術、歯科インプラント、歯周病、顎顔面再構築、顎、臀部、または大腿骨頭の骨壊死、無血管性壊死、脱毛症、難聴、前庭機能低下、黄斑変性、加齢性黄斑変性（ＡＭＤ）、硝子体網膜症、網膜症、糖尿病性網膜症、網膜変性疾患、フックスジストロフィー、角膜疾患、卒中、外傷性脳損傷、アルツハイマー病、多発性硬化症、筋ジストロフィー、サルコペニア及びカヘキシーによって引き起こされる筋萎縮、血液脳関門（ＢＢＢ）の完全性に影響を及ぼす疾患、脊髄損傷、脊髄疾患、口腔粘膜炎、短腸症候群、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、メタボリックシンドローム、糖尿病、脂質異常症、膵炎、膵外分泌機能不全、創傷治癒、糖尿病性足部潰瘍、褥瘡、静脈性下腿潰瘍、表皮水疱症、皮膚形成不全、心筋梗塞、冠動脈疾患、心不全、造血細胞障害、免疫不全、移植片対宿主病、急性腎損傷、慢性腎疾患、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、特発性肺線維症、あらゆる原因の急性肝不全、薬物誘発性急性肝不全、アルコール性肝疾患（アルコール性肝炎を含む）、あらゆる原因の慢性肝不全、肝硬変、あらゆる原因の肝線維症、門脈圧亢進症、あらゆる原因の慢性肝不全、非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）、非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）（脂肪肝）、アルコール性肝炎、Ｃ型肝炎ウイルス誘発性肝疾患（ＨＣＶ）、Ｂ型肝炎ウイルス誘発性肝疾患（ＨＢＶ）、その他のウイルス性肝炎（例えば、Ａ型肝炎ウイルス誘発性肝疾患（ＨＡＶ）及びＤ型肝炎ウイルス誘発性肝疾患（ＨＤＶ））、原発性胆汁性肝硬変、自己免疫性肝炎、肝臓手術、肝損傷、肝移植、肝臓の手術及び移植における「過小グラフト（ｓｍａｌｌ　ｆｏｒ　ｓｉｚｅ）」症候群、先天性肝疾患及び肝障害、遺伝性疾患、変性、加齢、薬物、または損傷に起因するその他の任意の肝障害または検出からなる群より選択される、項目５７に記載の方法。
（項目６２）
骨ミネラル密度を増加させる、骨体積を増加させる、骨皮質厚を増加させる、骨ミネラル付着率を増加させる、骨の剛性を増加させる、骨の生体力学的強度を増加させる、骨折に対する耐性を増加させる、または骨粗鬆症に関連する骨喪失を減少させるための方法であって、対象に、項目５５に記載の医薬組成物の有効量を提供することを含み、前記Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路のアゴニストである、方法。
（項目６３）
前記Ｗｎｔサロゲート分子が、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、及びＦＺＤ７に結合し、かつＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合する、項目６２に記載の方法。
（項目６４）
前記Ｗｎｔサロゲート分子がＦｚｄ５及びＦｚｄ８にも結合する、項目６３に記載の方法。
（項目６５）
肝臓対体重比を増加させる、肝臓再生を促進する、肝細胞の増殖または有糸分裂を増加させる、肝線維化、任意選択で慢性肝損傷の後の肝線維化、を減少させる、肝細胞機能を増加させる、または肝臓における凝固時間を減少させるための方法であって、対象に、項目５５に記載の医薬組成物の有効量を提供することを含み、前記Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路のアゴニストである、方法。
（項目６６）
前記対象に骨吸収抑制剤を提供することをさらに含む、項目５７～６５のいずれかに記載の方法。
（項目６７）
骨粗鬆症、任意選択で閉経後骨粗鬆症、の治療のための項目６６に記載の方法。

（項目６８）
その必要のある対象における骨吸収を阻害または低減するための方法であって、前記対象に、項目１～５１のいずれかに記載のＷｎｔサロゲート分子、項目５２に記載のポリヌクレオチド、項目５３に記載の発現細胞、項目５４に記載の宿主細胞、または項目５５に記載の医薬組成物の有効量を提供することを含み、前記Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路のアゴニストである、方法。
（項目６９）
前記対象に骨吸収抑制剤を提供することをさらに含む、項目６８に記載の方法。
（項目７０）
前記対象が、骨粗鬆症、任意選択で閉経後骨粗鬆症、と診断されているか、またはそのリスクがある、項目６８または項目６９に記載の方法。
【図面の簡単な説明】
【００２５】
【図１】図１Ａ～Ｄは、Ｗｎｔサロゲート分子の例示的形式の概略図である。
【図２－１】図２Ａ～２Ｄは、Ｗｎｔサロゲート分子Ｒ２Ｍ３－２６のキャラクタリゼーションを示す。
【図２－２】同上。
【図３－１】図３Ａ～３Ｄは、Ｗｎｔサロゲート分子Ｒ２Ｍ３－３２のキャラクタリゼーションを示す。
【図３－２】同上。
【図４】図４Ａ～４Ｂは、Ｒ２Ｍ３－２６及びＲ２Ｍ３－３２の活性が、可溶性のＦｚｄＥＣＤによって、及びＬｒｐ結合アームを伴わないＲ２Ｍ３　ＩｇＧ単独によって阻害され得ることを示すグラフである。
【図５－１】図５は、２９３、Ｈｕｈ７、Ａ３７５、及びＢＮＬ．ＣＬ２　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおける例示的なＲ２Ｍ３－Ｌｒｐ６結合物質融合物のキャラクタリゼーションを示す。
【図５－２】同上。
【図５－３】同上。
【図５－４】同上。
【図６－１】図６は、２９３、Ａ３７５、及びＢＮＬ．ＣＬ２　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおける例示的な１８Ｒ５－Ｌｒｐ６結合物質融合物のキャラクタリゼーションを示す。
【図６－２】同上。
【図７】図７は、２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおける例示的な１８Ｒ５－Ｌｒｐ５結合物質融合物のキャラクタリゼーションを示す。
【図８】図８Ａ～８Ｂは、２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおける例示的なＦｚｄ結合物質－Ｌｒｐ６結合物質２６融合物のキャラクタリゼーションを示す。
【図９】図９は、ＩｇＧ－Ｎａｂ融合形式の例示的なＷｎｔサロゲート分子のＳＡＲ解析を示す。
【図１０】図１０Ａ～１０Ｂは、２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおけるＦａｂ形式のＲ２Ｍ３－２６のキャラクタリゼーションを示す。
【図１１】図１１Ａ～１１Ｂは、２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおけるＦａｂ形式のＲ２Ｍ３－３２のキャラクタリゼーションを示す。
【図１２】図１２Ａ～１２Ｂは、２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおけるヘテロ－Ｉｇ形式のＲ２Ｍ３－２６のキャラクタリゼーションを示す。
【図１３－１】図１３は、２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおける、ＶＨＨ／ｓｄＡｂ－ＶＨＨ／ｓｄＡｂ形式の、異なるタンデム形式の、及びＦｃフラグメントの異なる端部上の２６－１７ＳＢ９のキャラクタリゼーションを示す。
【図１３－２】同上。
【図１３－３】同上。

【図１３－４】同上。
【図１４－１】図１４Ａ～１４Ｈは、２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおけるタンデムｓｃＦｖ形式の１８Ｒ５－ＬＲＰ６結合物質融合物のキャラクタリゼーションを示す。
【図１４－２】同上。
【図１４－３】同上。
【図１５－１】図１５Ａ～１５Ｇは、２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおけるＦａｂ－ＩｇＧ形式の様々なＷｎｔサロゲート分子のキャラクタリゼーションを示す。
【図１５－２】同上。
【図１６】図１６Ａ～１６Ｃは、２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおけるＦ（ａｂ’）２形式のＲ２Ｍ３－２６のキャラクタリゼーションを示す。
【図１７－１】図１７Ａ～１７Ｈは、２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおけるさらなるＷｎｔサロゲート分子のキャラクタリゼーションを示す。
【図１７－２】同上。
【図１７－３】同上。
【図１７－４】同上。
【図１７－５】同上。
【図１７－６】同上。
【図１７－７】同上。
【図１８】Ａは、２Ｆｖ－Ｉｇ形式の概略図である。Ｂ～Ｃは、Ｗｎｔサロゲート分子１０ＳＧ１１－１ＲＣ０７のキャラクタリゼーションを示す。
【図１９－１】図１９は、例示的なＷｎｔサロゲート分子のポリペプチド鎖の配列である。
【図１９－２】同上。
【図１９－３】同上。
【図１９－４】同上。
【図１９－５】同上。
【図１９－６】同上。
【図１９－７】同上。
【図１９－８】同上。
【図１９－９】同上。
【図１９－１０】同上。
【図１９－１１】同上。
【図１９－１２】同上。
【図１９－１３】同上。
【図１９－１４】同上。
【図１９－１５】同上。
【図１９－１６】同上。
【図１９－１７】同上。
【図１９－１８】同上。
【図１９－１９】同上。
【図１９－２０】同上。
【図１９－２１】同上。
【図１９－２２】同上。
【図２０】図２０Ａ～２０Ｂは、Ｒ２Ｍ３－２６のｉｎ　ｖｉｖｏ　ＰＫ／ＰＤキャラクタリゼーションを示す。
【図２１－１】図２１Ａ～２１Ｅは、１４日間の１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃの全身発現が骨ミネラル密度の増加をもたらすことを示す画像及びグラフである。＊Ｐ値＜０．０５；＊＊Ｐ値＜０．０００１。各時点について、左から右にかけてのバーは以下を示す：ビヒクル（菱形）、ロモソズマブ（四角）、ＡＡＶ　ＣＡＧ－ＧＦＰ（三角）、ＡＡＢ　ＳｃＦｖ（抗ＧＦＰ）－ＤＫＫ１ｃＦ２３４Ｋ－Ｆｌａｇ－Ｈｉｓ（逆三角）、及びＡＡＶ　１８Ｒ

５－ＤＫＫ１ｃ－ＦＬａｇＨｉｓ（丸）。
【図２１－２】同上。
【図２１－３】同上。
【図２２－１】図２２Ａ～２２Ｄは、１４日間または２８日間の１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃの全身発現が骨体積の増加をもたらすことを示す画像及びグラフである。各時点について、左から右にかけてのバーは以下を示す：ビヒクル、ロモソズマブ、ＡＡＶ　ＣＡＧ－ＧＦＰ、ＡＡＢ　ＳｃＦｖ（抗ＧＦＰ）－ＤＫＫ１ｃＦ２３４Ｋ－Ｆｌａｇ－Ｈｉｓ、及びＡＡＶ　１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦＬａｇＨｉｓ。＊Ｐ値＜０．０５；＊＊Ｐ値＜０．０００１、＊＊＊＊Ｐ値＜０．０００１。
【図２２－２】同上。
【図２２－３】同上。
【図２３】図２３Ａ～２３Ｂは、蛍光色素標識に基づいた骨形成の動的パラメーターを示すグラフである。各時点について、左から右にかけてのバーは以下を示す：ビヒクル、ロモソズマブ、ＡＡＶ　ＣＡＧ－ＧＦＰ、ＡＡＢ　ＳｃＦｖ（抗ＧＦＰ）－ＤＫＫ１ｃＦ２３４Ｋ－Ｆｌａｇ－Ｈｉｓ、及びＡＡＶ　１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦＬａｇＨｉｓ。
【図２４－１】図２４Ａ～２４Ｄは、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃの全身発現が骨表面での骨芽細胞の増加をもたらし破骨細胞の低減をもたらすことを示すグラフ及び画像である。各時点について、左から右にかけてのバーは以下を示す：ビヒクル、ロモソズマブ、ＡＡＶ　ＣＡＧ－ＧＦＰ、ＡＡＢ　ＳｃＦｖ（抗ＧＦＰ）－ＤＫＫ１ｃＦ２３４Ｋ－Ｆｌａｇ－Ｈｉｓ、及びＡＡＶ　１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦＬａｇＨｉｓ。＊＊Ｐ値＜０．０５。
【図２４－２】同上。
【図２５－１】図２５Ａ～２５Ｃは、骨剛性及び骨折に対するアッセイの図、ならびに指示通りに処置したマウスにおける破損への極限荷重及び剛性を示すグラフである。
【図２５－２】同上。
【図２６－１】図２６Ａ～２６Ｄは、Ｒ２Ｍ３－２６による全身処置が１週間後に骨の迅速かつ持続的な増加をもたらすことを示すグラフ及び画像である。各時点について、左から右にかけてのバーは、上から下に示された処置に対応する。＊＊＊＊はＰ値＜０．０００１を示す。
【図２６－２】同上。
【図２６－３】同上。
【図２６－４】同上。
【図２７－１】図２７Ａ～２７Ｃは、Ｒ２Ｍ３－２６処置が、卵巣摘出術誘発性骨粗鬆症に伴う骨喪失を迅速に回復させることを示す画像及びグラフである。各時点について、左から右にかけてのバーは、上から下に示された処置に対応する。
【図２７－２】同上。
【図２８－１】図２８Ａ～２８Ｃは、Ｒ２Ｍ３－２６の単回注射が骨体積を迅速に増加させることを示す画像及びグラフである。
【図２８－２】同上。
【図２８－３】同上。
【図２９－１】図２９Ａ～２９Ｄは、Ｒ２Ｍ３－２６及び１Ｒ－Ｃ０７－２６の高用量がナイーブマウスにおける骨形成を有意かつ迅速に増加させることを示すグラフである。各時点について、左から右にかけてのバーは、上から下に示された処置に対応する。
【図２９－２】同上。
【図２９－３】同上。
【図３０】図３０は、Ｒ２Ｍ３－２６及び１Ｒ－Ｃ０７－３がナイーブマウスにおける骨ミネラル密度を増加させることを示すグラフである。各時点について、左から右にかけてのバーは、上から下に示された処置に対応する。
【図３１】図３１は、卵巣摘出マウスにおいて毎週測定した全身骨ミネラル密度（ＢＭＤ）の変化を、ナイーブマウス及びシャム手術実施マウスと比較して示すグラフである。
【図３２】図３２は、様々な処置後にマウスから単離した椎骨における、椎骨ミネラル密

度の変化（画像を示す）と、４週間の処置後に力のニュートン単位で測定した椎骨の圧迫骨折に対する耐性の変化（棒グラフ）とを示す。
【図３３－１】図３３Ａ～Ｄは、アインホルン骨折モデルにおけるＷｎｔサロゲート分子の試験である。Ｗｎｔサロゲート分子を用いた処置から１週間後（Ａ）及び６週間後（Ｂ）における仮骨の放射線写真が示される。対側大腿骨における全身骨ミネラル密度（ＢＭＤ）の変化の写真が示される（Ｃ）。（Ｄ）に示されるような仮骨組織体積、仮骨体積、骨体積／組織体積の比（ＢＶ／ＴＶ）、及びミリリットル当たりの骨ミネラル含量（ＢＭＣ／ｍｍ）の変化を示す散布図が、骨切片の代表的な画像と共に示される。
【図３３－２】同上。
【図３３－３】同上。
【図３３－４】同上。
【図３３－５】同上。
【図３３－６】同上。
【図３３－７】同上。
【図３４】図３４は、異なるＷｎｔサロゲート分子投与スケジュールに伴う、毎週測定した全身骨ミネラル密度（ＢＭＤ）の変化についてのグラフである。
【図３５】図３５は、異なるＷｎｔサロゲート分子の単独及びロモソズマブとの組合せを用いて処置したマウスからの、毎週測定した全身骨ミネラル密度（ＢＭＤ）の変化についてのグラフである
【図３６】図３６は、ＥＬＩＳＡによる測定における、血清中の治療分子のレベルを示す。これらのデータは、表４に提示する遺伝子発現データに付随するものである。
【図３７－１】図３７は、ＡＡＶ送達Ｗｎｔサロゲートを用いた処置後の肝臓（Ａ）、小腸（Ｂ）、及び結腸（Ｃ）の体重に対する比を示す。（＊＊）ｐ＜０．０１。各グラフについて、左から右にかけて示された処置は、上から下に示された凡例中の処置に対応する。
【図３７－２】同上。
【図３８】図３８Ａ～図３８Ｂは、組換え産生したＷｎｔサロゲートタンパク質を用いた処置後の体重（Ａ）及び肝臓対体重比（Ｂ）を示す。（＊＊）ｐ＜０．０５。各時点について、左から右にかけて示された処置は、上から下に示された凡例中の処置に対応する。
【図３９－１】図３９Ａ～３９Ｄは、Ｒ２Ｍ３－２６及びＲｓｐｏ２組換えタンパク質に応答した増殖マーカーの誘発を示す。肝臓Ｋｉ６７（Ａ）及びサイクリンＤ１（Ｂ）ｍＲＮＡ発現。ＰＣＮＡ及びホスホヒストンＨ３抗体の免疫組織化学染色後における、１０倍視野当たりのそれぞれＰＣＮＡ（Ｃ）またはホスホヒストンＨ３（Ｄ）陽性核の平均数。（＊）ｐ＜０．０５、（＊＊）ｐ＜０．０１、（＊＊＊）ｐ＜０．００１、（＊＊＊＊）ｐ＜０．０００１。各時点について、左から右にかけて示された処置は、上から下に示された凡例中の処置に対応する。
【図３９－２】同上。
【図４０－１】図４０Ａ～４０Ｈは、チオアセタミド誘発性慢性肝疾患モデルにおけるＡＡＶ送達Ｗｎｔサロゲート及びＲ－スポンジンの有効性を示す。試験１（Ａ）及び試験２（Ｂ）の設計。試験１（Ｃ、Ｅ、Ｇ、及びＨ）、ならびに試験２（Ｄ、Ｆ、Ｈ）におけるＡＡＶ送達ｗｎｔサロゲート及びＲ－スポンジンに応答した肝臓対体重比（Ｃ～Ｄ）、肝臓重量（Ｅ～Ｆ）、肝臓コラーゲンＡ１　ｍＲＮＡ発現（Ｇ）、及びシリウスレッドで染色した肝臓組織学的切片における赤色領域パーセンテージ（Ｈ）。（＊）ｐ＜０．０５、（＊＊）ｐ＜０．０１、（＊＊＊）ｐ＜０．００１、（＊＊＊＊）ｐ＜０．０００１。各グラフについて、左から右にかけて示された処置は、（ベースラインを含めず）上から下に示された凡例中の処置に対応する。
【図４０－２】同上。
【図４０－３】同上。
【図４０－４】同上。
【図４１－１】図４１Ａ～４１Ｎは、チオアセタミド誘発性慢性肝疾患モデルにおける組換え産生したＷｎｔサロゲート及びＲ－スポンジンの有効性を示す。試験設計（Ａ）。Ｄ

－２、Ｄ０、Ｄ３、Ｄ７、Ｄ１０、Ｄ１４は、組換えタンパク質を用いた処置の開始からの日数を表す。Ｒｓｐｏ２単独処置（Ｂ、Ｄ、Ｆ、Ｈ、Ｊ、Ｌ）またはＲ２Ｍ３－２６／Ｒｓｐｏ２組合せ処置（Ｃ、Ｅ、Ｇ、Ｉ、Ｋ、Ｍ）を用いた試験における、肝臓対体重比（Ｂ、Ｃ）、肝臓アキシン２　ｍＲＮＡ（Ｄ、Ｅ）、サイクリンＤ１　ｍＲＮＡ（Ｆ、Ｇ）、及びＫｉ６７　ｍＲＮＡ（Ｈ、Ｉ）発現、ＰＣＮＡ及びホスホヒストンＨ３抗体の免疫組織化学染色後における、１０倍視野当たりのそれぞれＰＣＮＡ（Ｊ、Ｋ）またはホスホヒストンＨ３（Ｌ、Ｍ）陽性核の平均数。ＴＡＡ曝露なしの対照ナイーブマウスから収集した血漿中の平均プロトロンビン時間に対するプロトロンビン時間の比（Ｎ）。（＊）ｐ＜０．０５、（＊＊）ｐ＜０．０１、（＊＊＊＊）ｐ＜０．０００１。ＴＡＡ処置なしは、破線で示される。各棒グラフ時点について、左から右にかけて示された処置は、上方にある上から下に示された凡例中の処置に対応する。

【図４１－２】同上。

【図４１－３】同上。

【図４１－４】同上。

【図４１－５】同上。

【図４１－６】同上。

【図４１－７】同上。

【図４１－８】同上。

【図４２－１】図４２Ａ～４２Ｃは、ＣＣｌ４誘発性慢性肝疾患モデルにおける組換え産生したＷｎｔサロゲート及びＲ－スポンジンの有効性を示す。試験設計（Ａ）。ＣＣｌ４処置、Ｒ２Ｍ３－２６、及びＲｓｐｏ２に応答した肝臓対体重比（Ｂ）、プロトロンビン時間（Ｃ）、及びシリウスレッド染色（Ｄ）。（＊）ｐ＜０．０５、（＊＊）ｐ＜０．０１、（＊＊＊）ｐ＜０．００１、（＊＊＊＊）ｐ＜０．０００１。各グラフについて、左から右にかけて示された処置は、（ベースラインを含めず）上から下に示された凡例中の処置に対応する。

【図４２－２】同上。

【図４２－３】同上。

【図４２－４】同上。

【図４３－１】図４３Ａ～４３Ｄは、アセトアミノフェン誘発急性肝損傷モデルにおいて組換え産生したＷｎｔサロゲートに応答した増殖マーカーの誘発を示す。試験設計（Ａ）。アセトアミノフェンを用いた処置から２４及び４８時間後のアラニントランスフェラーゼの血清中レベル（Ｂ）。相対的サイクリンＤ１（Ｃ）及びＫｉ６７（Ｄ）ｍＲＮＡ発現。（＊）ｐ＜０．０５、（＊＊）ｐ＜０．００１、（＊＊＊＊）ｐ＜０．０００１。

【図４３－２】同上。

【図４３－３】同上。

【図４３－４】同上。

【図４４－１】図４４Ａ～４４Ｄは、アセトアミノフェン誘発急性肝損傷モデルにおいてＲ－スポンジンに応答した増殖マーカーの誘発を示す。試験設計（Ａ）。アセトアミノフェンを用いた処置から２４及び４８時間後のアラニントランスフェラーゼの血清中レベル（Ｂ）。相対的サイクリンＤ１（Ｃ）及びＫｉ６７（Ｄ）ｍＲＮＡ発現。（＊）ｐ＜０．０１、（＊＊）ｐ＜０．００１、（＊＊＊＊）ｐ＜０．０００１。

【図４４－２】同上。

【図４４－３】同上。

【図４４－４】同上。

【図４５－１】図４５Ａ～４５Ｄは、アセトアミノフェン誘発急性肝損傷モデルにおいてＷｎｔサロゲート及びＲ－スポンジンに応答した増殖マーカーの誘発を示す。試験設計（Ａ）。アセトアミノフェンを用いた処置から２４、３６、４８、及び６０時間後のアラニントランスフェラーゼの血清中レベル（Ｂ）。相対的サイクリンＤ１（Ｃ）及びＫｉ６７（Ｄ）ｍＲＮＡ発現。（＊）ｐ＜０．０５、（＊＊＊＊）ｐ＜０．０００１。各時点について、左から右にかけて示された処置は、上から下に示された凡例中の処置に対応する。

【図４５－２】同上。
【図４５－３】同上。
【図４５－４】同上。
【図４６－１】図４６Ａ～４６Ｄは、アセトアミノフェン誘発肝損傷後のマウスの生存期間に対する組換え産生したＷｎｔサロゲート及びＲ－スポンジンの有効性を示す。試験設計（Ａ）。対照の抗ｅＧＦＰ対照タンパク質、またはＲ２Ｍ３－２６（Ｂ）、Ｒｓｐｏ２（Ｃ）、もしくはＲ２Ｍ３－２６とＲｓｐｏ２との組合せ（Ｄ）組換えタンパク質で処置したマウスの生存曲線。
【図４６－２】同上。
【図４６－３】同上。
【図４６－４】同上。
【発明を実施するための形態】
【００２６】
本開示は、１つ以上のＦｚｄ受容体と１つ以上のＬＲＰ５またはＬＲＰ６受容体とに結合し、下流Ｗｎｔシグナリング経路を調節する、Ｗｎｔサロゲート分子に関する。特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、Ｗｎｔシグナリング経路を活性化するか、またはＷｎｔシグナリング経路を介しシグナリングを増加させる。特定の実施形態において、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子は、（ｉ）１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合する１つ以上の抗体またはその抗原結合フラグメント（特定のＦｚｄ受容体特異性及び／または機能的特性を有する抗体またはその抗原結合フラグメントを含む）、ならびに（ｉｉ）ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６と特異的に結合する１つ以上の抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。ある特定の実施形態は、Ｗｎｔ経路シグナリング及び関連する生物学的効果を増加させるのに有利な、Ｗｎｔサロゲート分子のＦｚｄ結合領域（１つまたは複数）及びＬＲＰ５／６結合領域（１つまたは複数）における特定の構造形式または配置を包含する。
【００２７】
本発明の実施形態は、Ｗｎｔシグナリング経路に関連する疾患及び障害の診断、評価、及び治療のための、Ｗｎｔサロゲート分子の使用に関する。ある特定の実施形態において、主題のＷｎｔサロゲート分子は、細胞または組織内のＷｎｔシグナリング経路を調節するのに使用される。ある特定の実施形態において、主題のＷｎｔサロゲート分子は、Ｗｎｔシグナリングの異常もしくは脱制御（例えば、低減）に関連する、またはＷｎｔシグナリングを調節する（例えば、増加させる）ことが治療利益をもたらすと考えられる、疾患及び障害の治療または防止で使用される。
【００２８】
本発明の実施には、反対の内容が明示されない限り、ウイルス学、免疫学、微生物学、分子生物学、及び組換えＤＮＡ技法の従来的方法が当業者の技能範囲内で用いられ、これらの多くについては例示のために後述する。このような技法は、文献で十分に説明されている。例えば、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ＢｉｏｌｏｇｙまたはＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．（２００９）；Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，３ｒｄ ｅｄ．，Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，１９９５；Ｓａｍｂｒｏｏｋ ａｎｄ Ｒｕｓｓｅｌｌ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（３ｒｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，２００１）；Ｍａｎｉａｔｉｓ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（１９８２）；ＤＮＡ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，ｖｏｌ．Ⅰ ＆ ⅡＩＩ（Ｄ．Ｇｌｏｖｅｒ，ｅｄ．）；Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（Ｎ．Ｇａｉｔ，ｅｄ．，１９８４）；Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ（Ｂ．Ｈａｍｅｓ ＆ Ｓ．Ｈｉｇｇｉｎｓ，ｅｄｓ．，１９８５）；Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ ａｎｄ Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎ（Ｂ．Ｈａｍｅｓ ＆ Ｓ．Ｈｉ

ｇｇｉｎｓ，ｅｄｓ．，１９８４）；Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ（Ｒ．Ｆｒｅｓｈｎｅｙ，ｅｄ．，１９８６）；Ｐｅｒｂａｌ，Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ（１９８４）及びその他の類似の参考文献を参照。

【００２９】

本明細書及び付属の請求項で使用する単数形「１つの（ａ／ａｎ）」及び「当該（ｔｈｅ）」は、内容による別段の明確な定めがない限り、複数の指示対象を含む。

【００３０】

本明細書全体において、文脈上他の意味が要求されない限り、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」、または「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」もしくは「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」などの変化形は、述べられた要素もしくは整数、または要素もしくは整数の群を含み、ただし、いかなる他の要素もしくは整数、または要素もしくは整数の群も除外しないことを意味するものと理解されたい。

【００３１】

本明細書中の各実施形態は、別段の明記がない限り、必要な変更を考慮しながら、他のあらゆる実施形態にも適用されるものとする。

【００３２】

組換えＤＮＡ、オリゴヌクレオチド合成、ならびに組織培養及び形質転換については、標準的な技法を使用することができる（例えば、エレクトロポレーション、リポフェクション）。酵素反応及び精製の技法は、製造業者の仕様に従って、または当技術分野で一般的に遂行されているように、または本明細書で説明されているように実施することができる。これら及び関連する技法及び手順は、概して、当技術分野で周知されている従来的な方法に従って、また本明細書全体で引用され論じられている様々な全般的及びより具体的な参考文献に記載されているように、実施することができる。具体的な定義が示されない限り、本明細書で説明されている分子生物学、分析化学、合成有機化学、ならびに医療的化学及び薬学的化学に関連して利用されている名称、ならびにこれらの分野の検査手順及び技法は、当技術分野で周知され一般的に使用されているものである。組換え技術、分子生物学、微生物学、化学合成、化学分析、医薬の調製、製剤、及び送達、ならびに対象の治療については、標準的な技法を使用することができる。

【００３３】

本発明の実施形態は、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する抗体及びその抗原結合フラグメントに関する。例示的な抗体、またはその抗原結合フラグメントもしくは相補性決定領域（ＣＤＲ）は、表１Ａ及び１Ｂならびに表３の配列番号１～６５または１２９～１３２に記載されている。使用され得る、または本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子中に存在し得る抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラグメントとしては、限定されるものではないが、「Ａｎｔｉ－Ｆｒｉｚｚｌｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｕｓｅ」という表題の米国仮特許出願第６２／６０７，８７７号（代理人整理番号ＳＲＺＮ－００４／００ＵＳ、２０１７年１２月１９日出願）で説明されているものが挙げられる。

【００３４】

本発明の実施形態は、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合する抗体及びその抗原結合フラグメントに関する。例示的な抗体、またはその抗原結合フラグメントもしくは相補性決定領域（ＣＤＲ）は、表２Ａ及び２Ｂならびに表３の配列番号６６～８８または１３３に記載されている。使用され得る、または本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子中に存在し得る抗ＬＲＰ５／６抗体またはその抗原結合フラグメントとしては、限定されるものではないが、「Ａｎｔｉ－ＬＲＰ５／６ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｕｓｅ」という表題の米国仮特許出願第６２／６０７，８７９号（代理人整理番号ＳＲＺＮ－００５／００ＵＳ、２０１７年１２月１９日出願）で説明されているものが挙げられる。

【００３５】

当技術分野で周知されているように、抗体は、標的（例えば、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、ポリペプチドなど）に対し、免疫グロブリン分子の可変領域内にある少なくとも１つのエピトープ認識部位を介して特異的に結合することができる、免疫グロブリン分子である。本明細書で使用する場合、当該用語は、インタクトなポリクローナルまたはモノクローナル抗体を包含するだけでなく、そのフラグメント（例えば、ｄＡｂ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ）、１本鎖（ｓｃＦｖ）、ＶＨＨまたはｓｄＡｂ、その合成バリアント、天然バリアント、抗体またはその抗原結合フラグメントを含む融合タンパク質、ヒト化抗体、キメラ抗体、及び必要とされる特異性を有する抗原結合部位またはフラグメント（エピトープ認識部位）を含む免疫グロブリン分子の他の任意の修飾構成も包含する。遺伝子融合によって構築された多価性または多重特異的フラグメントである「ダイアボディ」または２ｓｃＦＶ－Ｉｇ抗体（ＷＯ９４／１３８０４；Ｐ．Ｈｏｌｌｉｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０ ６４４４－６４４８，１９９３）も、本明細書で企図されている抗体の１つの特定の形態である。ＣＨ３ドメインに連結したｓｃＦｖを含むミニボディも本明細書に含まれる（Ｓ．Ｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．，５６，３０５５－３０６１，１９９６）。例えば、Ｗａｒｄ，Ｅ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３４１，５４４－５４６（１９８９）；Ｂｉｒｄ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４２，４２３－４２６，１９８８；Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ ＵＳＡ，８５，５８７９－５８８３，１９８８）；ＰＣＴ／ＵＳ９２／０９９６５；ＷＯ９４／１３８０４；Ｐ．Ｈｏｌｌｉｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０ ６４４４－６４４８，１９９３；Ｙ．Ｒｅｉｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ，１４，１２３９－１２４５，１９９６；Ｓ．Ｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．，５６，３０５５－３０６１，１９９６を参照。

【００３６】

「抗原結合フラグメント」という用語は、本明細書で使用する場合、目的抗原に、詳細には１つ以上のＦｚｄ受容体またはＬＲＰ５もしくはＬＲＰ６受容体に結合する、免疫グロブリン重鎖及び／もしくは軽鎖、またはＶＨＨもしくはｓｄＡｂの少なくとも１つのＣＤＲを含む、ポリペプチドフラグメントを指す。この点において、本明細書で説明されている抗体の抗原結合フラグメントは、１つ以上のＦｚｄ受容体またはＬＲＰ５及び／もしくはＬＲＰ６に結合する抗体由来の、本明細書に記載のＶＨ及びＶＬ配列の１、２、３、４、５、または６つ全てのＣＤＲを含むことができる。特定の実施形態において、抗原結合フラグメントは、３つ全てのＶＨ ＣＤＲまたは３つ全てのＶＬ ＣＤＲを含むことができる。同様に、その抗原結合フラグメントは、ＶＨＨまたはｓｄＡｂの３つ全てのＣＤＲを含むことができる。Ｆｚｄ特異的抗体の抗原結合フラグメントは、Ｆｚｄ受容体に結合することができる。ＬＲＰ５／６特異的抗体の抗原結合フラグメントは、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６受容体に結合することができる。本明細書で使用する場合、当該用語は、単離フラグメントを包含するだけではなく、本明細書で開示されている抗体の抗原結合フラグメントを含むポリペプチド、例えば、本明細書で開示されている抗体の抗原結合フラグメントを含む融合タンパク質、例えば、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合するＶＨＨまたはｓｄＡｂと、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合するＶＨＨまたはｓｄＡｂとを含む、融合タンパク質も包含する。

【００３７】

「抗原」という用語は、選択的結合剤（例えば、抗体）が結合することができ、さらに、動物内で使用してその抗原のエピトープに結合可能な抗体を産生することができる、分子または分子の一部分を指す。ある特定の実施形態において、結合剤（例えば、Ｗｎｔサロゲート分子またはその結合領域）は、タンパク質及び／または巨大分子の複合混合物内の標的抗原を優先的に認識する場合、抗原と特異的に結合するとされる。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子またはその結合領域（例えば、抗体またはその抗原結合フラグメント）は、平衡解離定数が≦１０$^{-7}$または≦１０$^{-8}$Ｍの場合、抗原と特異的に結合するとされる。いくつかの実施形態において、平衡解離定数は≦１０$^{-9}$Ｍまた

は≦１０－１０Ｍとすることができる。

【００３８】

ある特定の実施形態において、本明細書で説明されている抗体及びその抗原結合フラグメントは重鎖及び軽鎖のＣＤＲセットを含み、これらはそれぞれ、重鎖及び軽鎖のフレームワーク領域（ＦＲ）セットの間に存在する。ＦＲセットは、ＣＤＲを支持し、ＣＤＲの相互の空間関係を定義する。本明細書で使用する場合、「ＣＤＲセット」という用語は、重鎖または軽鎖のＶ領域の３つの超可変領域を指す。これらの領域は、重鎖または軽鎖のＮ末端側から進めて、それぞれ「ＣＤＲ１」、「ＣＤＲ２」、及び「ＣＤＲ３」として示される。そのため、抗原結合部位は、重鎖及び軽鎖の各Ｖ領域からのＣＤＲセットを含む、６つのＣＤＲを含む。単一のＣＤＲ（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、またはＣＤＲ３）を含むポリペプチドは、本明細書では「分子認識単位」と呼ばれる。複数の抗原－抗体複合体の結晶学的解析により、ＣＤＲのアミノ酸残基が結合抗原と広範な接触を形成し、最も広範な抗原接触が重鎖ＣＤＲ３による接触であることが実証されている。したがって、分子認識単位は、主に抗原結合部位の特異性を担当する。

【００３９】

本明細書で使用する場合、「ＦＲセット」という用語は、重鎖または軽鎖のＶ領域のＣＤＲセットのＣＤＲをフレーム化する、４つの隣接するアミノ酸配列を指す。一部のＦＲ残基が結合抗原に接触する場合もあるが、ＦＲは主として、Ｖ領域を抗原結合部位に、詳細にはＣＤＲに直接隣接するＦＲ残基に折り畳む役割を担う。ＦＲ内では、ある特定のアミノ残基及びある特定の構造的特徴が非常に高度に保存されている。この点において、全てのＶ領域配列は、およそ９０アミノ酸残基の内部ジスルフィドループを含む。Ｖ領域が結合部位に折り畳まれると、ＣＤＲは、抗原結合表面を形成する突出したループモチーフとして提示される。概して、詳細なＣＤＲアミノ酸配列に関係なく、折り畳まれた形状のＣＤＲループがある特定の「カノニカル」構造になるように影響を及ぼす、ＦＲの保存的構造領域が存在することが認識されている。さらに、ある特定のＦＲ残基は、抗体の重鎖及び軽鎖の相互作用を安定化する非共有結合的なドメイン間接触に関与することが知られている。

【００４０】

免疫グロブリンのＣＤＲ及び可変ドメインの構造及び位置は、Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ．４ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ．ＵＳ Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ．１９８７及びその最新情報（インターネット（ｉｍｍｕｎｏ．ｂｍｅ．ｎｗｕ．ｅｄｕ）で利用可能）を参照することによって決定することができる。代替的に、ＣＤＲは、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｉｍｇｔ．ｏｒｇで利用可能なＩＭＧＴ（登録商標）（国際ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓ情報システム（登録商標））を使用することによって決定することができる（例えば、Ｌｅｆｒａｎｃ，Ｍ．－Ｐ．ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，２７：２０９－２１２；Ｒｕｉｚ，Ｍ．ｅｔ ａｌ．（２０００）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，２８：２１９－２２１；Ｌｅｆｒａｎｃ，Ｍ．－Ｐ．（２００１）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，２９：２０７－２０９；Ｌｅｆｒａｎｃ，Ｍ．－Ｐ．（２００３）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，３１：３０７－３１０；Ｌｅｆｒａｎｃ，Ｍ．－Ｐ．ｅｔ ａｌ．（２００４）Ｉｎ Ｓｉｌｉｃｏ Ｂｉｏｌ．，５，０００６［Ｅｐｕｂ］，５：４５－６０（２００５）］；Ｌｅｆｒａｎｃ，Ｍ．－Ｐ．ｅｔ ａｌ．（２００５）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，３３：Ｄ５９３－５９７；Ｌｅｆｒａｎｃ，Ｍ．－Ｐ．ｅｔ ａｌ．（２００９）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，３７：Ｄ１００６－１０１２；Ｌｅｆｒａｎｃ，Ｍ．－Ｐ．ｅｔ ａｌ．（２０１５）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，４３：Ｄ４１３－４２２を参照）。

【００４１】

モノクローナル抗体」とは、エピトープの選択的結合に関与するアミノ酸（天然または非天然）から構成される、同質の抗体集団を指す。モノクローナル抗体は特異性が高く、

単一のエピトープに向けられる。「モノクローナル抗体」という用語は、インタクトなモノクローナル抗体及び全長モノクローナル抗体を包含するだけでなく、これらのフラグメント（例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ）、１本鎖（ｓｃＦｖ）、ＶＨＨまたはｓｄＡｂ、これらのバリアント、モノクローナル抗体の抗原結合フラグメントを含む融合タンパク質、ヒト化モノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体、ならびに必要とされる特異性及びエピトープへの結合能力を有する抗原結合フラグメント（エピトープ認識部位）を含む免疫グロブリン分子の他の任意の修飾構成も包含し、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子もこれに含まれる。抗体の供給源または抗体が作製される様式（例えば、ハイブリドーマ、ファージ選択、組換え発現、トランスジェニック動物など）については、限定的であるように意図されていない。当該用語は、全免疫グロブリンに加えて、「抗体」の定義において上記で説明されているフラグメントなども含む。

【００４２】

タンパク質分解酵素パパインは、ＩｇＧ分子を優先的に切断していくつかのフラグメントを産生し、そのうちの２つ（Ｆ（ａｂ）フラグメント）はそれぞれ、インタクトな抗原結合部位を含む共有結合的なヘテロ２量体を含む。酵素ペプシンは、ＩｇＧ分子を切断して、両方の抗原結合部位を含むＦ（ａｂ’）$_2$を含めたいくつかのフラグメントをもたらすことができる。本発明のある特定の実施形態に従って使用するＦｖフラグメントは、ＩｇＭ免疫グロブリン分子の、稀な場合にはＩｇＧまたはＩｇＡ免疫グロブリン分子の優先的タンパク質切断によって産生することができる。ただし、Ｆｖフラグメントは、当技術分野で公知の組換え技法を用いて誘導するのがより一般的である。Ｆｖフラグメントは、ネイティブ抗体分子の抗原認識及び結合能力の多くを保持する抗原結合部位を含む、非共有結合的V_H::V_Lヘテロ２量体を含む。Ｉｎｂａｒ ｅｔ ａｌ．（１９７２）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ６９：２６５９－２６６２；Ｈｏｃｈｍａｎ ｅｔ ａｌ．（１９７６）Ｂｉｏｃｈｅｍ １５：２７０６－２７１０；及びＥｈｒｌｉｃｈ ｅｔ ａｌ．（１９８０）Ｂｉｏｃｈｅｍ １９：４０９１－４０９６。

【００４３】

ある特定の実施形態において、１本鎖Ｆｖ抗体、すなわちｓｃＦＶ抗体が企図されている。例えば、カッパボディ（Ｋａｐｐａ ｂｏｄｙ）（Ｉｌｌ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔ．Ｅｎｇ．１０：９４９－５７（１９９７）；ミニボディ（Ｍａｒｔｉｎ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ １３：５３０５－９（１９９４）；ダイアボディ（Ｈｏｌｌｉｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ ９０：６４４４－８（１９９３）；またはヤヌシン（Ｊａｎｕｓｉｎ）（Ｔｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ １０：３６５５－５９（１９９１）及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ Ｓｕｐｐｌ．７：５１－５２（１９９２））は、所望の特異性を有する抗体の選択について本出願の教示に従い、標準的な分子生物学技法を用いて調製することができる。また他の実施形態において、本開示のリガンドを包含する二重特異的抗体またはキメラ抗体が作製され得る。例えば、キメラ抗体は、異なる抗体からのＣＤＲ及びフレームワーク領域を含むことができ、その一方で、１つの結合ドメインを介して１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合し、第２の結合ドメインを介して第２の分子と特異的に結合する二重特異的抗体を生成することができる。これらの抗体は、組換え分子生物学の技法を通じて産生することができ、または物理的に一緒に結合体化させることができる。

【００４４】

１本鎖抗体Ｆｖ（ｓｃＦｖ）ポリペプチドは、ペプチドコードリンカーによって結合したV_H－及びV_L－コード遺伝子を含む遺伝子融合から発現する、共有結合V_H::V_Lヘテロ２量体である。Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５（１６）：５８７９－５８８３。抗体Ｖ領域からの天然に凝集した（ただし、化学的には分離した）ポリペプチド軽鎖及び重鎖を、抗原結合部位の構造と実質的に同様の３次元構造に折り畳まれるｓｃＦｖ分子に変換するための、化学構造を識別する複数の方法が説明されている。例えば、Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．に対する米国特許第５，０９１，５１３号及び第５，１３２，４０５号、ならびにＬａｄｎｅｒ ｅｔ ａ

ｌ．に対する米国特許第４，９４６，７７８号を参照。
【００４５】
ある特定の実施形態において、本明細書で説明されている抗体は、ダイアボディの形態をとる。ダイアボディはポリペプチドの多量体であり、各ポリペプチドは、免疫グロブリン軽鎖の結合領域を含む第１のドメインと、免疫グロブリン重鎖の結合領域を含む第２のドメインとを含み、この２つのドメインは（例えば、ペプチドリンカーによって）結合しているが、互いに会合して抗原結合部位を形成することはできない。抗原結合部位は、多量体内のあるポリペプチドの第１のドメインと、多量体内の別のポリペプチドの第２のドメインとの会合によって形成される（ＷＯ９４／１３８０４）。
【００４６】
抗体のｄＡｂフラグメントは、ＶＨドメインからなる（Ｗａｒｄ，Ｅ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３４１，５４４－５４６（１９８９））。
【００４７】
二重特異的抗体を使用する場合、それは、様々な方法（Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ Ｇ．Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．４，４４６－４４９（１９９３））で製造することができる（例えば、化学的にまたはハイブリッドハイブリドーマから調製することができる）従来の二重特異的抗体であってもよく、または上述の任意の二重特異的抗体フラグメントであってもよい。ダイアボディ及びｓｃＦｖは、可変ドメインのみを用いてＦｃ領域なしで構築することができ、これにより、抗イディオタイプ反応の影響が潜在的に低減される。
【００４８】
二重特異的ダイアボディは、二重特異的全抗体と対比すると、容易に構築しＥ．ｃｏｌｉ内で発現させることができるため、特に有用でもあり得る。適切な結合特異性のダイアボディ（及び他の多くのポリペプチド（例えば、抗体フラグメント））は、ファージディスプレイ（ＷＯ９４／１３８０４）を用いてライブラリーから容易に選択することができる。ダイアボディの一方のアームが、例えば、抗原Ｘに向けられる特異性について定常性を保つようにする場合、他方のアームを変化させ、適切な特異性の抗体が選択されるようにライブラリーを作製することができる。二重特異的全抗体は、ノブズ・イントゥ・ホールズ（ｋｎｏｂｓ－ｉｎｔｏ－ｈｏｌｅｓ）操作によって作製することができる（Ｊ．Ｂ．Ｂ．Ｒｉｄｇｅｗａｙ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．，９，６１６－６２１，１９９６）。
【００４９】
ある特定の実施形態において、本明細書で説明されている抗体は、ＵｎｉＢｏｄｙ（登録商標）の形態で提供することができる。ＵｎｉＢｏｄｙ（登録商標）は、ヒンジ領域が除去されたＩｇＧ４抗体である（ＧｅｎＭａｂ Ｕｔｒｅｃｈｔ，Ｔｈｅ Ｎｅｔｈｅｒｌａｎｄｓを参照；また、例えばＵＳ２００９０２２６４２１も参照）。この独自の抗体技術は、現状の小型抗体形式よりも長い予測治療ウインドウを有する、より小型の安定した抗体形式を創出する。ＩｇＧ４抗体は不活性であると考えられ、したがって免疫システムと相互作用しない。完全ヒトＩｇＧ４抗体は、抗体のヒンジ領域を除去することによって修飾することができ、これにより、対応するインタクトなＩｇＧ４に対し異なる安定性特性を有する半分子フラグメントが得られる（ＧｅｎＭａｂ，Ｕｔｒｅｃｈｔ）。ＩｇＧ４分子を有することで、ＵｎｉＢｏｄｙ（登録商標）上には同族抗原（例えば、疾患標的）に結合することができるエリアが１つしか残らないため、ＵｎｉＢｏｄｙ（登録商標）は、標的細胞上の１つの部位のみに１価で結合する。
【００５０】
ある特定の実施形態において、本開示の抗体は、ＶＨＨまたはｓｄＡｂの形態をとることができる。元来、ＶＨＨまたはｓｄＡｂ技術は、ラクダ科（例えば、ラクダ及びリャマ）が、重鎖のみからなり軽鎖を欠いた完全に機能的な抗体を所持することが発見及び特定されてから開発された。このような重鎖のみの抗体は、単一の可変ドメイン（V_{HH}）と２つの定常ドメイン（$C_{H}2$、$C_{H}3$）とを含む。クローニングし単離した単一の可変ド

メインは、完全な抗原結合能力を有し、非常に安定している。これらの単一の可変ドメインが、その独特の構造的及び機能的特性によって「ＶＨＨまたはｓｄＡｂ」の基盤を形成する。ＶＨＨまたはｓｄＡｂは、単一の遺伝子によってコードされ、ほぼ全ての原核生物及び真核生物の宿主内で、例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ（例えば、米国特許第６，７６５，０８７号を参照）、カビ（例えば、ＡｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓまたはＴｒｉｃｈｏｄｅｒｍａ）、及び酵母（例えば、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ、Ｈａｎｓｅｎｕｌａ、またはＰｉｃｈｉａ）（例えば、米国特許第６，８３８，２５４号）内で効率的に産生される。産生プロセスはスケーラブルであり、数キログラムの量のＶＨＨまたはｓｄＡｂが産生されている。ＶＨＨまたはｓｄＡｂは、貯蔵寿命の長い、すぐに使用可能な溶液として製剤化することができる。ＶＨＨ法またはｓｄＡｂ法（例えば、ＷＯ０６／０７９３７２を参照）は、所望の標的に対するＶＨＨまたはｓｄＡｂを生成するための独自の方法であり、Ｂ細胞の自動化高スループット選択に基づいている。ＶＨＨまたはｓｄＡｂは、ラクダ科特有の重鎖のみの抗体の単一ドメイン抗原結合フラグメントである。ＶＨＨ抗体またはｓｄＡｂのサイズは、典型的にはおよそ１５ｋＤａと小さい。

【００５１】

ある特定の実施形態において、本明細書で開示されている抗体またはその抗原結合フラグメントは、ヒト化されている。これはキメラ分子を意味し、キメラ分子は、概して、組換え技法を用いて調製され、非ヒト種からの免疫グロブリンに由来する抗原結合部位を有し、分子における残りの免疫グロブリン構造は、ヒト免疫グロブリンの構造及び／または配列に基づいている。抗原結合部位は、定常ドメインと融合した完全な可変ドメインか、または可変ドメイン内の適切なフレームワーク領域にグラフトされたＣＤＲのみを含み得る。エピトープ結合部位は、野生型であっても、１つ以上のアミノ酸置換によって修飾されていてもよい。これは、ヒト個体における免疫原としての定常領域を除去するが、外的な可変領域に対する免疫応答の可能性は残存する（ＬｏＢｕｇｌｉｏ，Ａ．Ｆ．ｅｔ ａｌ．，（１９８９）Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ８６：４２２０－４２２４；Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ（１９８８）８６：１００２９－１００３３；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ（１９８８）３３２：３２３－３２７）。本明細書で開示されている抗Ｆｚｄ抗体をヒト化するための例示的な方法としては、米国特許第７，４６２，６９７号に記載の方法が挙げられる。

【００５２】

もう１つのアプローチは、ヒト由来定常領域の提供だけではなく可変領域の修飾にも着目して、できる限りヒトの形態に近づけて再整形するというものである。重鎖及び軽鎖の両方の可変領域は、３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含むことが知られている。ＣＤＲは問題のエピトープに応答して変化し、結合能力を決定し、４つのフレームワーク領域（ＦＲ）と隣接している。ＦＲは所与の種で比較的保存されており、ＣＤＲのためのスキャフォールディングを提供すると推定されている。非ヒト抗体が特定のエピトープに対し調製される場合、可変領域は、修飾を行うヒト抗体内に存在するＦＲ上に非ヒト抗体に由来するＣＤＲをグラフトすることにより、「再整形」または「ヒト化」することができる。様々な抗体に対するこのアプローチの適用は、以下文献によって報告されている：Ｓａｔｏ，Ｋ．，ｅｔ ａｌ．，（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５３：８５１－８５６．Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ，Ｌ．，ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２７；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ，Ｍ．，ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３９：１５３４－１５３６；Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈ，Ｃ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．，（１９９１）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ４：７７３－３７８３；Ｍａｅｄａ，Ｈ．，ｅｔ ａｌ．，（１９９１）Ｈｕｍａｎ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ ２：１２４－１３４；Ｇｏｒｍａｎ，Ｓ．Ｄ．，ｅｔ ａｌ．，（１９９１）Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ８８：４１８１－４１８５；Ｔｅｍｐｅｓｔ，Ｐ．Ｒ．，ｅｔ ａｌ．，（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：２６６－２７１；Ｃｏ，Ｍ．Ｓ．，ｅｔ ａｌ．，（１９９１）Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ８８：２８６９－２８７３；Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．，ｅｔ ａｌ．，（１９９２）Ｐｒｏｃ

Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ８９：４２８５－４２８９；及びＣｏ，Ｍ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，（１９９２）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １４８：１１４９－１１５４．　いくつかの実施形態において、ヒト化抗体は、全てのＣＤＲ配列を保存する（例えば、マウス抗体からの６つ全てのＣＤＲを含むヒト化マウス抗体）。他の実施形態において、ヒト化抗体は、元の抗体に対し改変されている１つ以上（１、２、３、４、５、６つ）のＣＤＲを有し、これは元の抗体からの１つ以上のＣＤＲに「由来する」１つ以上のＣＤＲとも称される。

【００５３】

ある特定の実施形態において、本開示の抗体はキメラ抗体であり得る。この点において、キメラ抗体は、異なる抗体の異種Ｆｃ部分と作用可能に結合した、または融合した、抗体の抗原結合フラグメントから構成されている。ある特定の実施形態において、異種Ｆｃドメインはヒト起源のものである。他の実施形態において、異種Ｆｃドメインは、患者抗体からの異なるＩｇクラスからのものであってもよく、異なるＩｇクラスにはＩｇＡ（サブクラスＩｇＡ１及びＩｇＡ２を含む）、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ（サブクラスＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４を含む）、ならびにＩｇＭが含まれる。さらなる実施形態において、異種Ｆｃドメインは、１つ以上の異なるＩｇクラスからのＣＨ２及びＣＨ３ドメインから構成されてもよい。ヒト化抗体について上記で述べられているように、キメラ抗体の抗原結合フラグメントは、本明細書で説明されている抗体のＣＤＲのうちの１つ以上のみ（例えば、本明細書で説明されている抗体の１、２、３、４、５、または６つのＣＤＲ）を含む場合もあれば、全体の可変ドメイン（ＶＬ、ＶＨ、または両方）を含む場合もある。

【００５４】

Ｗｎｔサロゲート

本開示は、ある特定の態様においては、１つ以上のＦｚｄ受容体と、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６の一方または両方とに結合する、Ｗｎｔサロゲート分子を提供する。Ｗｎｔサロゲート分子は、「Ｗｎｔサロゲート」または「Ｗｎｔミメティック」とも呼ばれることがある。特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、１つ以上のヒトＦｚｄ受容体と、ヒトＬＲＰ５及び／またはヒトＬＲＰ６の一方または両方とに結合する。

【００５５】

ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、Ｗｎｔサロゲート分子と接触した細胞内のＷｎｔシグナリング事象を調節することができるかまたは調節する。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、例えばカノニカルＷｎｔ／β－カテニン経路を介して、Ｗｎｔシグナリングを増加させる。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、ヒトＷｎｔシグナリング経路の生物学的活性を特異的に調節する。

【００５６】

本発明のＷｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄ受容体ならびにＬＲＰ５及びＬＲＰ６のうちの１つ以上との結合において、そしてＷｎｔシグナリングの活性化において生物学的に活性であり、すなわち、Ｗｎｔサロゲート分子はＷｎｔアゴニストである。「Ｗｎｔアゴニスト活性」という用語は、Ｗｎｔタンパク質におけるフリズルドタンパク質及び／またはＬＲＰ５もしくはＬＲＰ６に結合する効果または活性を模倣するアゴニストの能力を指す。本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子及びその他のＷｎｔアゴニストにおけるＷｎｔ活性を模倣する能力は、複数のアッセイで確認することができる。Ｗｎｔアゴニストは、典型的には、受容体の天然リガンドが開始する反応または活性と同様のまたは同じ反応または活性を開始する。詳細には、本明細書で開示されているＷｎｔアゴニストは、カノニカルＷｎｔ／β－カテニンシグナリング経路を強化するまたは増加させる。本明細書で使用する場合、「強化する」という用語は、Ｗｎｔアゴニスト（例えば、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子）不在下でのレベルに比べての、Ｗｎｔ／β－カテニンシグナリングのレベルの測定可能な増加を指す。特定の実施形態において、Ｗｎｔ／β－カテニンシグナリングのレベルの増加は、（例えば、同じ細胞タイプの）Ｗｎｔアゴニスト不在下でのＷｎｔ／β－カテニンシグナリングのレベルに比べて、少

なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも５０％、少なくとも２倍、少なくとも５倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍である。Ｗｎｔ／β－カテニンシグナリングを測定する方法は、当技術分野において公知であり、本明細書で説明されている方法がこれに含まれる。

【００５７】

特定の実施形態において、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子は二重特異的であり、すなわち、２つ以上の異なるエピトープ（例えば、１つ以上のＦｚｄ受容体ならびにＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６）と特異的に結合する。

【００５８】

特定の実施形態において、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子は多価性であり、例えば、各々が同じエピトープと特異的に結合する２つ以上の領域（例えば、１つ以上のＦｚｄ受容体内のエピトープに結合する２つ以上の領域、ならびに／またはＬＲＰ５及び／もしくはＬＲＰ６内のエピトープに結合する２つ以上の領域）を含む。特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄ受容体内のエピトープに結合する２つ以上の領域と、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６内のエピトープに結合する２つ以上の領域とを含む。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する領域数：ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合する領域数の比、約１：１、２：１、３：１、４：１、５：１、６：１、２：３、２：５、２：７、７：２、５：２、３：２、３：４、３：５、３：７、３：８、８：３、７：３、５：３、４：３、４：５、４：７、４：９、９：４、７：４、５：４、６：７、７：６、１：２、１：３、１：４、１：５、または１：６を含む。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は二重特異的かつ多価性である。

【００５９】

本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子は、様々な異なる構造形式または構成のいずれかを有することができる。Ｗｎｔサロゲート分子は、ポリペプチド及び／または非ポリペプチド結合部分（例えば、小分子）を含むことができる。特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、ポリペプチド領域及び非ポリペプチド結合部分の両方を含む。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、単一のポリペプチドを有する場合もあれば、２つ以上、３つ以上、または４つ以上のポリペプチドを有する場合もある。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子の１つ以上のポリペプチドは、抗体またはその抗原結合フラグメントである。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲートは２つの抗体またはその抗原結合フラグメントを含み、一方は１つ以上のＦｚｄに結合し、一方はＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合する。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲートは、例えば、互いに連結もしくは結合した、または互いに融合した、１つ、２つ、３つ、または４つのポリペプチドを含む。

【００６０】

Ｗｎｔサロゲート分子が単一のポリペプチドを含む場合、Ｗｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄ結合ドメインと１つ以上のＬＲＰ５／６結合ドメインとを含む融合タンパク質であり得る。この結合ドメインは、直接融合しても、リンカー（例えば、ポリペプチドリンカー（限定されるものではないが、本明細書で開示されている任意のものが含まれる））を介して接続してもよい。

【００６１】

Ｗｎｔサロゲート分子が２つ以上のポリペプチドを含む場合、ポリペプチドは、共有結合（例えば、ジスルフィド結合）及び／または非共有結合的相互作用を介して結合してもよい。例えば、ヒト免疫グロブリンＩｇＧの重鎖は、そのＣＨ３ドメインのレベルでは直接相互作用し、そのＣＨ２ドメインのレベルでは、ＤＥターンのアスパラギン（Ａｓｎ）Ｎ８４．４に付着した炭水化物を介して相互作用する。特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、抗体またはその抗原結合フラグメントに由来する１つ以上の領域、例えば、抗体重鎖もしくは抗体軽鎖またはそのフラグメントを含む。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲートポリペプチドは、１つ以上のジスルフィド結合を介して共に結

合した２つの重鎖領域（例えば、ヒンジ領域）を含む。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲートポリペプチドは、１つ以上のジスルフィド結合を介して共に結合した抗体軽鎖領域（例えば、C_L領域）及び抗体重鎖領域（例えば、C_H1領域）を含む。

【００６２】

Ｗｎｔサロゲートポリペプチドは、２つのポリペプチド間の結合を容易にするように操作されてもよい。例えば、ノブズ・イントゥ・ホールズアミノ酸修飾を２つの異なるポリペプチドに導入してそれらの結合を容易にすることができる。ノブズ・イントゥ・ホールズアミノ酸（ＡＡ）変化は、抗体操作において開発された合理的な設計戦略であり、二重特異的ＩｇＧ抗体の産生において重鎖のヘテロ２量体化に使用される。第１の抗体の重鎖のＣＨ３にノブを作成し、第２の抗体の重鎖のＣＨ３にホールを作成するために、ＡＡ変化が操作される。ノブは、ＡＡの「非常に大きい」ＩＭＧＴボリュームクラスに属するチロシン（Ｙ）によって代表され得、ホールは、「小さい」ＩＭＧＴボリュームクラスに属するトレオニン（Ｔ）によって代表され得る。ポリペプチドに修飾を導入してその結合を容易にするその他の方法は、当技術分野において公知かつ利用可能である。例えば、分子間ジスルフィド結合を形成するためのシステインのように、特定のアミノ酸を導入し架橋のために使用することができる。

【００６３】

Ｗｎｔサロゲート分子は、様々な異なる構造形式を有することができ、限定されるものではないが、図１に示されるものがこれに含まれる。

【００６４】

１つの実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂまたはその抗原結合フラグメントと融合したｓｃＦｖまたはその抗原結合フラグメントを含む。ある特定の実施形態において、ｓｃＦｖは、１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合し、ＶＨＨまたはｓｄＡｂは、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６と特異的に結合する。ある特定の実施形態において、ｓｃＦｖは、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６と特異的に結合し、ＶＨＨまたはｓｄＡｂは、１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合する。特定の実施形態において、ｓｃＦｖまたはその抗原結合フラグメントは、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂまたはその抗原結合フラグメントと直接融合し、他の実施形態においては、２つの結合領域はリンカー部分を介して融合している。特定の実施形態において、ＶＨＨまたはｓｄＡｂはｓｃＦｖのＮ末端と融合し、他の実施形態においては、ＶＨＨまたはｓｄＡｂはｓｃＦｖのＣ末端と融合している。特定の実施形態において、ｓｃＦｖは本明細書で説明されているか、または本明細書で説明されている任意のＣＤＲセットを含む。特定の実施形態において、ＶＨＨまたはｓｄＡｂは本明細書で説明されているか、または本明細書で開示されている任意のＣＤＲセットを含む。

【００６５】

様々な実施形態（限定されるものではないが、図１Ａに示されているものを含む）において、Ｗｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦａｂまたはその抗原結合フラグメントと、１つ以上のＶＨＨもしくはｓｄＡｂまたはその抗原結合フラグメント（あるいは代替的に、１つ以上のｓｃＦｖまたはその抗原結合フラグメント）とを含む。ある特定の実施形態において、Ｆａｂは、１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合し、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）は、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６と特異的に結合する。ある特定の実施形態において、Ｆａｂは、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６と特異的に結合し、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）は、１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合する。ある特定の実施形態において、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）はＦａｂのＮ末端と融合し、いくつかの実施形態においては、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦ）はＦａｂのＣ末端と融合している。特定の実施形態において、Ｆａｂは全ＩｇＧ形式で存在し、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）は、ＩｇＧ軽鎖のＮ末端及び／またはＣ末端と融合している。特定の実施形態において、Ｆａｂは全ＩｇＧ形式で存在し、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）は、ＩｇＧ重鎖のＮ末端及び／またはＣ末端と融合している。特定の実施形態において、２つ以上のＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（または

ｓｃＦｖ）は、これらの位置の任意の組合せにおいてＩｇＧと融合している。
【００６６】
Ｆａｂは、Ｆａｂ及びＦｃフラグメント両方を含む全ＩｇＧ形式に変換することができ、例えば、遺伝子操作を用いて、Ｆｃ領域と融合したＦａｂを含む融合ポリペプチドを生成することができる（すなわち、Ｆａｂは全ＩｇＧ形式で存在する）。全ＩｇＧ形式におけるＦｃ領域は、限定されるものではないが、野生型もしくは修飾ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、もしくはその他のアイソタイプ、例えば、野生型もしくは修飾ヒトＩｇＧ１、ヒトＩｇＧ２、ヒトＩｇＧ３、ヒトＩｇＧ４、ヒトＩｇＧ４Ｐｒｏ（ＩｇＧ４半分子の形成を防止するコアヒンジ領域の変異を含む）、ヒトＩｇＡ、ヒトＩｇＥ、ヒトＩｇＭ、またはＩｇＧ１　ＬＡＬＡＰＧと呼ばれる修飾ＩｇＧ１を含めた、様々な異なるＦｃのいずれかに由来することができる。Ｌ２３５Ａ、Ｐ３２９Ｇ（ＬＡＬＡ－ＰＧ）バリアントは、補体結合及び固定を除去することに加えて、Ｆｃ－γ依存性の抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を除去することがマウスＩｇＧ２ａ及びヒトＩｇＧ１の両方において示されている。このようなＬＡＬＡ－ＰＧ置換は、マウスと霊長類との間の「エフェクターレス」抗体フレームワークスキャフォールドにより生成された結果をより正確に翻訳することを可能にする。本明細書で開示されている任意のＩｇＧにおける特定の実施形態において、ＩｇＧは、以下のアミノ酸置換：Ｎ２９７Ｇ、Ｎ２９７Ａ、Ｎ２９７Ｅ、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、またはＰ２３６Ｇのうちの１つ以上を含む。
【００６７】
１つ以上のＦｚｄ受容体ならびにＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６の両方に対し２価性である、２価性かつ二重特異的なＷｎｔサロゲート分子の非限定的な例は、図１Ａに図示された上部の４つの構造として示されており、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂまたはｓｃＦｖは白色で図示され、ＦａｂまたはＩｇＧは黒色で図示されている。示されているように、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）は、両方の軽鎖のＮ末端、両方の重鎖のＮ末端、両方の軽鎖のＣ末端、または両方の重鎖のＣ末端と融合することができる。さらに、例えば、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）が、重鎖及び／もしくは軽鎖のＮ末端及びＣ末端両方、軽鎖及び重鎖のＮ末端、重鎖及び軽鎖のＣ末端、重鎖のＮ末端及び軽鎖のＣ末端、または重鎖のＣ末端及び軽鎖のＮ末端と融合し得ることも企図されている。他の関連する実施形態において、２つ以上のＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）は、任意選択でリンカー部分を介して、共に融合してもよく、これらの位置の１つ以上においてＦａｂまたはＩｇＧと融合してもよい。関連する実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子はヘテロＩｇＧ形式を有し、Ｆａｂは半抗体として存在し、１つ以上のＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）は、ＦｃのＮ末端、ＦａｂのＮ末端、ＦｃのＣ末端、またはＦａｂのＣ末端のうちの１つ以上と融合している。この形式における、二重特異的であるが各受容体に対し１価性であるバージョンは、図１Ａの下部に図示されている。ある特定の実施形態において、Ｆａｂまたはその抗原結合フラグメント（またはＩｇＧ）は、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）またはその抗原結合フラグメントと直接融合し、他の実施形態においては、結合領域はリンカー部分を介して融合している。特定の実施形態において、Ｆａｂは本明細書で説明されているか、または本明細書で説明されている任意のＣＤＲセットを含む。特定の実施形態において、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂまたはｓｃＦｖは本明細書で説明されているか、または本明細書で開示されている任意のＣＤＲセットを含む。
【００６８】
様々な実施形態（限定されるものではないが、図１Ｂに示されているものを含む）において、Ｗｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する１つ以上のＦａｂまたはその抗原結合フラグメントと、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合する１つ以上のＦａｂまたはその抗原結合フラグメントとを含む。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する２つのＦａｂもしくはその抗原結合フラグメント、ならびに／またはＬＲＰ５及び／もしくはＬＲＰ６に結合する２つのＦａｂもしくはその抗原結合フラグメントを含む。特定の実施形態において、Ｆａｂのうち

の１つ以上は全ＩｇＧ形式で存在し、ある特定の実施形態においては、両方のＦａｂは全ＩｇＧ形式で存在する。ある特定の実施形態において、全ＩｇＧ形式のＦａｂは、１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合し、他方のＦａｂは、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６と特異的に結合する。ある特定の実施形態において、Ｆａｂは、１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合し、全ＩｇＧ形式のＦａｂは、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６と特異的に結合する。ある特定の実施形態において、Ｆａｂは、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６と特異的に結合し、全ＩｇＧ形式のＦａｂは、１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合する。ある特定の実施形態において、Ｆａｂは、任意選択でリンカーを介して、ＩｇＧのＮ末端（例えば、重鎖または軽鎖のＮ末端）と融合している。ある特定の実施形態において、Ｆａｂは、ＩｇＧの重鎖のＮ末端と融合し、軽鎖とは融合しない。特定の実施形態において、２つの重鎖は、直接またはリンカーを介して、共に融合してもよい。このような二重特異的であり両方の受容体に対し２価性である例は、図１Ｂの上部に示されている。他の関連する実施形態において、２つ以上のＶＨＨまたはｓｄＡｂは、任意選択でリンカー部分を介して、共に融合してもよく、これらの位置の１つ以上においてＦａｂまたはＩｇＧと融合してもよい。関連する実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子はヘテロＩｇＧ形式を有し、一方のＦａｂは半抗体として存在し、他方のＦａｂは、ＦｃのＮ末端、ＦａｂのＮ末端、またはＦｃのＣ末端のうちの１つ以上と融合している。この形式における、二重特異的であるが各受容体に対し１価性であるバージョンは、図１Ｂの下部に図示されている。ある特定の実施形態において、Ｆａｂまたはその抗原結合フラグメントは、他方のＦａｂもしくはＩｇＧまたはその抗原結合フラグメントと直接融合し、他の実施形態においては、結合領域はリンカー部分を介して融合している。特定の実施形態において、２つのＦａｂの一方または両方は、本明細書で説明されているか、または本明細書で説明されている任意のＣＤＲセットを含む。

【００６９】

ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、ＰＣＴ出願公開第ＷＯ２０１７／１３６８２０号で説明されている形式、例えば、タンデム型Ｆａｂ（Ｆａｂｓ－ｉｎ－ｔａｎｄｅｍ）ＩｇＧ（ＦＩＴ－ＩＧ）形式を有する（Ｓｈｉｙｏｎｇ Ｇｏｎｇ，Ｆａｎｇ Ｒｅｎ，Ｄａｎｑｉｎｇ Ｗｕ，Ｘｕａｎ Ｗｕ ＆ Ｃｈｅｎｇｂｉｎ Ｗｕ（２０１７））。また、ＦＩＴ－ＩＧは、“Ｆａｂｓ－ｉｎ－ｔａｎｄｅｍ ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ ｉｓ ａ ｎｏｖｅｌ ａｎｄ ｖｅｒｓａｔｉｌｅ ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ｄｅｓｉｇｎ ｆｏｒ ｅｎｇａｇｉｎｇ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ｔａｒｇｅｔｓ”ｍＡｂｓ，９：７，１１１８－１１２８，ＤＯＩ：１０．１０８０／１９４２０８６２．２０１７．１３４５４０１に開示されている形式も含む。ある特定の実施形態において、ＦＩＴ－ＩＧは、２つの親モノクローナル抗体のＤＮＡ配列を２つまたは３つのコンストラクトに再編成し、哺乳類細胞でそれらを同時発現させることにより、２つの抗体の機能を１つの分子に集約する。ＦＩＴ－ＩＧ形式及びコンストラクトの例は、ＰＣＴ出願公開第ＷＯ２０１７／１３６８２０号の図１Ａ及び１Ｂならびに図２Ａ及び２Ｂに示されている。ある特定の実施形態において、ＦＩＴ－ＩＧは、Ｆｃ変異も、ｓｃＦｖエレメントも、リンカーまたはペプチドコネクターも必要としない。各アームのＦａｂドメインは「タンデムに」働いて、親抗体の生物学的機能を保持する４つの活性かつ独立した抗原結合部位を有する、４価性二重特異的抗体を形成する。特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲートは Ｆａｂ及びＩｇＧを含む。ある特定の実施形態において、Ｆａｂ結合物質ＬＣは、例えば、間に入る様々な長さのリンカーによって、ＩｇＧのＨＣと融合している。様々な実施形態において、Ｆａｂ結合物質ＨＣは、ＩｇＧのＬＣと融合していても融合していなくてもよい。この形式のバリエーションは、タンデム型Ｆａｂ ＩｇＧ（またはＦＩＴ－Ｉｇ）と呼ばれている。

【００７０】

特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は２つ以上のＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）を含み、これには、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する少なくとも１つのＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）と、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結

合する少なくとも１つのＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）とが含まれる。ある特定の実施形態において、結合領域の一方はＶＨＨまたはｓｄＡｂであり、他方はｓｃＦｖである。２つ以上のＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）を含むＷｎｔミメティック分子は、限定されるものではないが、図１Ｃに図示されたものを含めた様々な構成でフォーマットすることができる。ある特定の二重特異的２価性形式において、２つ以上のＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）は、任意選択で１つ以上のリンカーを介して、タンデムに融合しているか、またはＦｃの２つの異なる端部と融合している。リンカーが存在する場合、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）と他方のＶＨＨもしくはｓｄＡｂ（またはｓｃＦｖ）との間で、あるいはＶＨＨまたはｓｄＡｂとＦｃとの間で、リンカー及びその長さが同じであっても異なっていてもよい。例えば、ある特定の実施形態において、ＶＨＨまたはｓｄＡｂは、ＩｇＧ重鎖のＮ末端及び／またはＣ末端と融合している。特定の実施形態において、２つ以上のＶＨＨまたはｓｄＡｂは、これらの位置の任意の組合せにおいてＩｇＧと融合している。この形式の２価性二重特異的Ｗｎｔサロゲート分子の非限定的な例は、図１Ｃの上部の７つの構造として図示されており、第１のＶＨＨまたはｓｄＡｂは白色で図示され、ＦｃまたはＩｇＧは黒色で図示され、第２のＶＨＨまたはｓｄＡｂは薄い灰色で図示されている。様々な実施形態において、両方のＶＨＨもしくはｓｄＡｂは、ＦｃのＮ末端、ＦｃのＣ末端と融合していてもよく、または１つ以上のＶＨＨもしくはｓｄＡｂは、ＦｃのＮ末端もしくはＣ末端の一方もしくは両方と融合していてもよい。関連する実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子はヘテロＩｇＧ形式を有し、一方のＶＨＨまたはｓｄＡｂは半抗体として存在し、他方は、ＦｃのＮ末端またはＦｃのＣ末端と融合している。この形式における、二重特異的であるが各受容体に対し１価性であるバージョンは、図１Ｃの下部に図示されている。ある特定の実施形態において、ＶＨＨまたはｓｄＡｂは、他方のＶＨＨまたはｓｄＡｂと直接融合し、他の実施形態においては、結合領域はリンカー部分を介して融合している。特定の実施形態において、ＶＨＨまたはｓｄＡｂは本明細書で説明されているか、または本明細書で説明されている任意のＣＤＲセットを含む。様々な実施形態において、任意のこれらの形式は、１つ以上のＶＨＨまたはｓｄＡｂの代わりに１つ以上のｓｃＦｖを含むことができる。

【００７１】

ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子はダイアボディとしてフォーマットされる。図１Ｄに示されているように、Ｆｚｄ及びＬＲＰに対する結合物質は、ダイアボディ（またはＤＡＲＴ）構成で共に結合してもよい。また、ダイアボディは１本鎖構成であってもよい。ダイアボディがＦｃと融合している場合、これは２価性二重特異的形式を創出する。Ｆｃとの融合がなければ、これは１価性二重特異的形式となる。ある特定の実施形態において、ダイアボディは、小ペプチドリンカーによって接続した重鎖可変（ＶＨ）領域と軽鎖可変（ＶＬ）領域とからなる、非共有結合的２量体ｓｃＦｖフラグメントである。別のダイアボディの形態は、２つのｓｃＦｖフラグメントが共有結合的に互いに結合している１本鎖（Ｆｖ）２である。

【００７２】

論じられているように、Ｗｎｔサロゲート分子は、様々な実施形態において、本明細書で開示されている１つ以上の抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。したがって、特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲートは２つのポリペプチドを含み、各ポリペプチドは、ＬＲＰ５／６に結合するＮａｂまたはｓｃＦｖと、１つ以上のＷｎｔに結合するＮａｂまたはｓｃＦｖとを含み、任意選択で、結合ドメインの一方はｓｃＦｖであり他方はＮａｂである。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲートは３つのポリペプチドを含み、第１のポリペプチドは抗体重鎖を含み、第２のポリペプチドは抗体軽鎖を含み、抗体の重鎖及び軽鎖は、ＬＲＰ５／６または１つ以上のＦｚｄに結合し、第３のポリペプチドは、重鎖Ｆｃ領域と融合したＶＨＨまたはｓｄＡｂを含み、ＶＨＨまたはｓｄＡｂは、ＬＲＰ５／６または１つ以上のＦｚｄのいずれかに結合する。他の実施形態において、Ｗｎｔポリペプチドは、２つの重鎖ポリペプチド及び２つの軽鎖ポリペプチドを含めた４つのポリペプチドを含み、２つの重鎖及び２つの軽鎖は、ＬＲＰ５／６または１つ以上のＦ

ｚｄに結合し、さらに、重鎖及び／または軽鎖のうちの１つ以上と融合した１つ以上のＮａｂまたはｓｃＦｖを含み、ＮａｂまたはｓｃＦｖは、ＬＲＰ５／６または１つ以上のＦｚｄに結合する。別の例示的な実施形態において、Ｗｎｔサロゲートは、ＬＲＰ５／６または１つ以上のＦｚｄのいずれかに結合する２つの重鎖ポリペプチド及び２つの軽鎖ポリペプチドを含めた少なくとも４つのポリペプチドを含み、Ｗｎｔサロゲートはさらに、ＬＲＰ５／６または１つ以上のＦｚｄに結合するＦａｂを含む。例えば、Ｆａｂは、各々が２つの重鎖ポリペプチドのうちの１つと融合した２つのポリペプチドと、各々が２つの軽鎖ポリペプチドのうちの１つと融合した２つのポリペプチドを含むことができ、またはＦａｂは、２つの重鎖ポリペプチドのうちの１つと融合した２つのポリペプチドと、各々が重鎖ポリペプチドに融合した２つのポリペプチドのうちの１つに結合することで第２のＦａｂを形成する、２つのさらなるポリペプチドとを含むことができる。他の構成も、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲートの産生に使用することができる。

【００７３】

特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合するポリペプチドと融合または結合したＦｚｄ結合領域（例えば、抗Ｆｚｄ抗体）またはその抗原結合フラグメントを含む。特定の実施形態において、１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合するポリペプチドは、抗体またはその抗原結合フラグメントである。ある特定の実施形態において、これは、本明細書で開示されている、または２０１７年１２月１９日に出願された代理人整理番号ＳＲＺＮ－００４／００ＵＳ、「Ａｎｔｉ－Ｆｒｉｚｚｌｅｄ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｕｓｅ」という表題の米国仮特許出願第６２／６０７，８７７号（当該出願はその全体が参照により本明細書に援用される）で開示されている、抗体またはその抗原結合フラグメントである。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、表１Ａに示されている、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する例示的な抗体またはそのフラグメントのいずれかについて開示されている、３つの重鎖ＣＤＲ及び／または３つの軽鎖ＣＤＲを含む。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、表１Ａに示されている、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する例示的な抗体またはそのフラグメントのいずれかについて開示されている、３つの重鎖ＣＤＲ及び／または３つの軽鎖ＣＤＲを含み、これらのＣＤＲは、合わせて１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、または８つのアミノ酸修飾（例えば、置換、欠失、または付加）を含む。ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂであるか、またはＶＨＨもしくはｓｄＡｂから誘導されたものであり、そのため表１Ａは３つの重鎖ＣＤＲのみを含む。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、表１Ａに示されている３つのＣＤＲ　ＨＣ配列またはバリアントを含み、これらのＣＤＲは、合わせて１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、または８つのアミノ酸修飾を含む。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、表１Ｂまたは配列番号１～６５もしくは１２９～１３２に示されている１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する任意の例示的な抗体またはそのフラグメント（あるいはいずれかの抗原結合フラグメントまたはバリアント）の重鎖フラグメント及び／または軽鎖フラグメントを含む。ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインはＦａｂであるか、またはＦａｂから誘導されたものであり、そのため表１Ｂの重鎖はＶＨ及びＣＨ１配列を含むが、ＣＨ２またはＣＨ３配列を含まない。ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂであるか、またはＶＨＨもしくはｓｄＡｂから誘導されたものであり、そのため表１ＢはＶＨＨドメインを含む。ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合領域は、１つ以上のＦｚｄ受容体との結合においてこれらの抗体のいずれかと競合するポリペプチド（例えば、抗体またはその抗原結合フラグメント）である。

【表１Ａ－１】

表１Ａ：抗Ｆｚｄ抗体のクローンＩＤ及びＣＤＲ配列

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
001S-A01	Fzd1	YTFTSYGIS	391	GWISAYNGNTNYA	570	CARASAWTPYGAFDIW	752	SGSSSNIGSHTVS	1156	SNYQRPS	1256	CAAWDGSLFGHWVF	1265
001S-B01	Fzd1	GSISSGGYSWS	283	GSIYHSGSTYYN	547	CARPYYDILTGYSYFDYW	818	RSSRSLLDTDDGNTYLD	1142	TLSHRAS	1259	CMQSIQLPWTF	1295
001S-E01	Fzd1	GSISNYWS	282	GEIDRSGDTNYN	488	CARVRARRFLVSDRSAFDIW	945	SGNTLGSHYVS	1155	QDSKRPS	1246	CQVWDSSTVVF	1431
001S-F01	Fzd1	GSISGNNYYZG	281	GSIYFTGGTYYN	546	CARVMLITDAFDIW	942	RSSQSLLHSNGYNYLD	1138	LGSNRAS	1237	CMQGTHWPYTF	1289
001S-G01	Fzd1	GSISSSSYYWG	285	GYIYYSGSTYYN	589	CARATYGGDAFDIW	760	TRSSSNIGAGYDVH	1161	GNSIRPS	1220	CGTWDSSLSAWVF	1267
001S-H01	Fzd1	GSISSGGYYWS	284	GYIYYSGSTYYN	589	CARHAGFYGLADYFDYW	875	RSSQSLLHSNGYNYLD	1138	LGSKRAS	1236	CMQALQIPPTF	1280
001S-A02	Fzd1	GSISSGGYYWS	284	GYIYYSGSTYYN	589	CARGKGYSYGYGKDWFDPW	845	QASQDIGKYLN	1041	DASNLET	1185	CQQNDYLPLTF	1332
001S-E02	Fzd1	GSISGNNYYWG	280	GSIYFTGGTYYN	546	CARVMLITDAFD	942	RSSQSLLHSNGY	1138	LGSNRAS	1237	CMQGTHWPYTF	1289

【表１Ａ－２】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
						IW		NYLD					
001S-G02	Fzd1	GAISGTSYFWG	266	GSIYYTGNTYYN	548	CARIGIAVAAPVDHW	882	RASQSVGTYLT	1110	DASNRAT	1188	CMQATQFPLTF	1284
001S-H02	Fzd1	GSISSSSYYWG	285	GYIYYSGSTYYN	589	CARATYGGDAFDIW	760	TRSSSNIGAGYDVH	1161	GNSIRPS	1220	CGTWDSSLSAWVF	1267
001S-A03	Fzd1	GSISSGGYYWS	284	GYIYYSGSTYYN	589	CARVRDYYDSSGYYYDYFDYW	946	RASRSISSYFN	1128	AASSLQS	1175	CQQADTFPPTF	1314
001S-B03	Fzd1	ASFSGHYWT	158	GEIDHTGSTNYE	487	CARGGQGGYDWGHYHGLDVW	835	SGDKVGHKYAS	1154	EDSQRPS	1199	CQAWDSSTDVVF	1301
001S-H08	Fzd5	RAFTDNVMA	329	ATISGGGGSTFDD	466	CAAASSLTSTPYDLW	678						
001S-A09	Fzd5	RSFRTNALG	333	AAISWTGGSTYYA	422	CNTVTYTGGSYKNYW	1005						
001S-B09	Fzd5	SIDSINAMA	356	AALTSGGITYYHA	428	CNVITIVRGMGPRAYW	1006						
001S-C09	Fzd5	SIFSINAMG	357	ATIQSGGRTNYA	465	CNVITIVRGMGPRAYW	1006						

【表１Ａ－３】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
001S-C07	Fzd8	YTFTSYGIS	391	GWISAYNGNTNYA	570	CARDGTPFYSGSYYGSW	772	QGDSLRTYYAS	1052	GKNNRPS	1219	CNSRDNSGKHKVF	1300
001S-D07	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GRIIPILGIANYA	529	CARVPTSPYDILTGPFDYW	944	RSSQSLLHSNGFNYVD	1136	FGSYRAS	1206	CMQNLQTPWTF	1291
001S-E07	Fzd8	ASVSSNSAAWN	159	GRTYYRSKWYNDYA	542	CARWKNYFDPW	953	RASQGIRSDLA	1070	AASTLES	1177	CLQDYSYPRTF	1273
001S-H07	Fzd8	FTFSSYAMS	228	STISGGGGSTYYA	646	CAKDLVPWGSSAFNIW	704	RASQSVSSYLA	1121	GASSRAT	1213	CQQYGSSPPTF	1410
004S-E05	Fzd5	FTFSTYEMN	243	SGVSWNGSRTHYV	618	CARGQSEKWWSGLYGMDVW	856	RASQGISSALA	1076	AASALQS	1165	CQQTYSTPRTF	1394
004S-E03	Fzd5	GTFSTYAIS	298	GWINSGNGNTKYS	565	CWTGLLWFGESTDAFDIW	1031	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-G06	Fzd5	GTFTYRYLH	307	GGIIPIFGTGNYA	501	CASSMVRVPYYYGMDVW	964	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
001S-D09	Fzd8	GPFNLFAMG	272	AGISRTGGNTGYA	445	CASKTTINSGWSREYHYW	958						
001S-E	Fzd8	GPFNLF	272	AGISRT	445	CASKTT	958						

【表１Ａ－４】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
09		AMG		GGNTGYA		INSGWSREYHYW							
001S-F09	Fzd8	GFFSSFTMG	268	AAISRNGVYTRFA	409	CNALAPGVRGSW	987						
001S-G09	Fzd8	SLFRLNGMG	360	ATISTRGTTHYA	467	CTDEESW	1011						
001S-H09	Fzd8	GPFNLLAMG	273	AGISRTGGNTGYA	445	CASKTTINSGWSREYHYW	958						
001S-A10	Fzd8	SVVNFVVMG	364	AAITSGGSTNYA	425	CNRVGSREYSYW	1001						
001S-B10	Fzd8	RTSDLYTMG	352	AAIGYKVKWNGERTYYL	404	CNAVTYNGYTIW	994						
001S-G12	Fzd1	SIFSSNTIY	359	ALITTSGNTNYA	455	CNAGAPAWTYRMGTYYPQFGSW	986						
002S-A01	Fzd1	STFSTYAMG	362	AAISGSGENTYYA	408	CVKFGMNLGYSGYDYW	1028						
002S-B01	Fzd1	STFSNYAMG	361	AAISWGGGSTFYS	411	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
002S-C01	Fzd1	RMFSNYAMG	331	AAISSGGSGTYY	410	CAAGPIARWYRG	681						

【表１Ａ－５】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				S		DMDYW							
002S-D01	Fzd1	RTDGGYVMG	337	ATVTWRTGTTYYA	469	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
002S-E01	Fzd1	RTFSSAAMG	345	AAISWSGSTAYYA	421	CATLTPYGTVASY	974						
002S-F01	Fzd1	RTFSSYAMG	347	AAVNWSGGSTYYA	430	CAAVFLSRNYEIQEYYRYQ	689						
002S-G01	Fzd1	RTFSSYAMG	347	AAISWSGGSTYYA	418	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
002S-H01	Fzd1	RSFSTYPMG	336	TVISGSGGSTYYS	676	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
002S-A02	Fzd1	RRFTTYGMG	332	AAVTWRSGSTYYA	436	CYLEGPLDVYW	1032						
002S-B02	Fzd1	RTFNRHVMG	341	AAISWSGDSTYYA	415	CAKLGGSSWLREYDYW	724						
002S-C02	Fzd1	RTFRAYAMG	342	SAISWSGGSTYYA	603	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
002S-D	Fzd1	RTFSEY	343	AAISWS	417	CNADSL	984						

【表１Ａ－６】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
02		AMG		GGSTHYA		RGIDYW							
002S-E02	Fzd1	FTFREYAMT	199	SGISRDGGRTSYS	613	CAPRVLVTAPSGGMDYW	734						
002S-F02	Fzd1	GDFTNYAMA	267	AAVNWRGDGTYYS	429	CAAVFLSRNYEIQEYYRYQ	689						
002S-G02	Fzd1	RTFGTWAMG	340	AAISYNGFSTYYS	424	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
002S-H02	Fzd1	RTFSSYAMG	347	AAISWSGGSTYYA	418	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
002S-D03	Fzd1	RTFGSYAMG	339	AAISWSGGSTYYA	418	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
002S-E03	Fzd1	SIFSIYAMG	358	AVVATGGATNYA	481	CNMRGNWYREGRPAEFLSW	1000						
002S-F03	Fzd1	RTSSSYAMG	353	AAISWSGGSTYYA	418	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
002S-G03	Fzd1	RTFGSYAMG	339	AAISWSGGSTYY	418	CAAGPIARWYRG	681						

【表１Ａ－７】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				A		DMDYW							
002S-H03	Fzd1	QTFTAYAMG	327	AAISWSGSATHYA	420	CNAWVLVAGSRGTSADYW	996						
002S-A04	Fzd1	RTFSSYAMG	347	AAISWSGRSTYYA	419	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
002S-B04	Fzd1	RTFSSYAMG	347	AAISWSGGSTYYA	418	CAAGPNYSWFMPSSSRLIW	682						
002S-C04	Fzd1	RRFTTYGMG	332	AAVTWRAGSTYYA	435	CSADKLDYLDDQPFKTWDYW	1010						
002S-D04	Fzd1	GTSSTYAMG	309	AAINRSGGSTYYA	405	CAAVFLSRNYEIQEYYRYQ	689						
002S-E04	Fzd1	GTFSTYAMG	300	AAISWSGDSTYYL	416	CAAGPIARWYRGDMDYW	681						
004S-H04	Fzd5	GTFSSYAIS	295	GWISTYNGATNYA	577	CARGGAGRFGEGMDVW	826	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
001S-A04	Fzd5	YTFTSYGIS	391	GWISAYNGNTNY	570	CASSKEKATYYY	963	GLSSGSVSTNYY	1035	YTNTRSS	1263	CLLYLGRGIWVF	1271

【表１Ａ－８】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				A		GMDVW		PS					
001S-D03	Fzd5	GTFSSYAIS	295	GRIIPILGIANYA	529	CARLDPGYYYGMDVW	886	TGTSSDVGGYNSVS	1159	DVTKRPS	1196	CFSYAGSRF	1266
001S-F03	Fzd5	GTFSSYAIS	295	GGIIPIFGTANYA	499	CARVIFSTVTTTNDIW	939	TRSSGSIASNYVQ	1160	ENDKRPS	1202	CQSYDYDHRWVF	1430
004S-E04	Fzd5	YTFSGYYLH	374	GTVTPILGTANYA	549	CARVDGSGYYGIDYW	933	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-A06	Fzd5	GSFSNYAIS	278	GRIIPILGSANYA	530	CARTYLKAFDIW	930	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-F04	Fzd5	YTFTNNFMH	383	GRINPNSGGTNYA	537	CARDRFDNWFDPW	788	RASQGISSALA	1076	AASTLQS	1179	CQQSYNTPWTF	1351
001S-C03	Fzd5	GTFSSYAIS	295	GRIIPILGIANYA	529	CAREGRSRVYGGNSFDYW	808	RSSQSLLRRNGHNYVD	1139	MGSNRAP	1238	CMHGLHPPFTF	1279
003S-A01	Fzd1	YIFTDYYMH	368	GGIIPIFGTANYA	499	CARMSSDYYDSSGYYRRGMDVW	895	RASQGISNNLN	1072	GASTLQS	1215	CQQADSFPPTF	1312
003S-E01	Fzd1	YIFTDYYMH	368	GGIIPIFGTANYA	499	CARAWKGLWFGEGTFDYW	761	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-F	Fzd1	GTFSSY	295	GWINAG	558	CARLAF	885	RASQSI	1098	AASSLQ	1175	CQQSYS	1372

【表１Ａ－９】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
01		AIS		NGNTTYA		DIW		SSYLN		S		TPLTF	
003S-A02	Fzd1	YTFTGYYMH	379	GWINAGNGNTTYA	558	CAKDRGNYGDYLDYW	707	RASQGISNYLA	1074	EVSSVQG	1204	CQQSYSTPLAF	1370
003S-C02	Fzd1	FTFSNSDMN	214	ALISYDGSHTYYA	454	CTRGSRIGWFDPW	1015	RASQSIGRWLA	1084	AASRLQS	1171	CQQGFNFPLTF	1325
003S-E02	Fzd1	GTFSSYTIS	296	GGIIPISGKTDYA	505	CARARGGDSPLSL	749	RASQGISNNLN	1072	TASSLQS	1258	CLQDYSYPYTF	1274
003S-F02	Fzd1	GTFRSYAIN	292	GGIIPIFGTANYA	499	CARGGWRPDYYGSGSYYSFDYW	840	RASQSVSSDLA	1115	GASTRAT	1217	CQQYETWPVLTF	1405
003S-G02	Fzd1	FTFGTYWVT	196	SGITGSGGRTFYA	616	CARMKDWFGAFDIW	894	RASESVSSSSFA	1056	GASTRAT	1217	CQQYNNWPPNYTF	1420
003S-C03	Fzd1	FTFSRYAMS	220	SYISGDSGYTNYA	658	CARGLVIATNWFDPW	849	QANQDISNYLN	1038	AASSLQS	1175	CQQTYNPPRTF	1389
003S-D03	Fzd1	YTFTSYYMH	392	GWINTYNGNTNYP	567	CAESLTSTADW	691	RASQGISNNLN	1072	AASSLQR	1174	CQQSYSTPFTF	1368
003S-E03	Fzd1	YIFTDYYMH	368	GWVNPTTGNTGYA	586	CARNVEGATSFPEFDYW	898	RASQGISNNLN	1072	SASNLQS	1252	CQQSYSPPPYTF	1364

【表１Ａ－１０】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
003S-H03	Fzd1	GTFSSYAIS	295	GGIIPIFGTANYA	499	CAKDIGSSWYYYMDVW	701	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-A04	Fzd1	FTFGTYWVT	196	SGITGSGGRTFYA	616	CARMKDWFGAFDIW	894	RTSERSSISSFA	1148	GASTRAT	1217	CQQYNNWPRNYTF	1420
003S-C04	Fzd1	FAVSSSYMS	168	ASIWFDGSNQDYA	463	CAPNESGNVDYW	733	RASQGISNNLN	1072	KASSLEN	1225	CQQSYSTPHTF	1369
003S-D04	Fzd1	FTFSSYAMH	227	SAISGSGGSTYYA	600	CARDHGSSWYQNTDAFDIW	774	QASQDIGNYLN	1042	DVSNLER	1195	CQHLNSYPPGDTF	1304
003S-G04	Fzd1	FRFISHPIH	177	GRVIPILGVTNYA	545	CASSSDYGDYLKEPNYGMDVW	966	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-D05	Fzd2	FTFSNYAMT	216	SAIGTGGGTYYA	595	CATAYRRPGGLDVW	969	RSSQSLLHSDGKTYLY	1134	LGSNRAS	1237	CMQNTHWPLTR	1293
003S-E05	Fzd2	FTFSSYTMS	236	GRIKSKANGGTTDYA	535	CARGSSSWYDW	863	KSSQSLLHSDGKTYLY	1036	LGSNRAS	1237	CMQNTHWPLTR	1293
003S-A06	Fzd2	FTFADYGMH	188	SYISSGSYTIYYS	659	CARGTFDWLLSPSYDYW	865	RASQGISNNLN	1072	AASRLES	1170	CQQSYSTPLTF	1372
003S-C	Fzd2	FTFSNY	217	SAISNS	601	CTSSFL	1018	RASQDI	1065	AASSLQ	1175	CQQSYR	1353

【表１Ａ－１１】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
06		GMH		GGSTYYA		TGSQPSGYW		SSYLA		S		TPLTF	
003S-G06	Fzd2	FTFSDYGMH	207	SSTSGSGGNSKYS	642	CARHNPGYMGYYYGMDVW	877	RASQSVSSNLA	1116	DASNRAT	1188	CQHRTSWPLTF	1307
003S-H06	Fzd2	GTFSSYTIS	296	GLVDPEDGETIYA	520	CTILPAAAGTYYYYGMDVW	1012	RASQRVGNNLA	1083	DASIRAT	1184	CQQYKDWPTF	1415
003S-B07	Fzd2	FTFSDHYMS	205	SSITRTPSGGTTEYA	639	CARDGGYW	768	RASQSVGSYLA	1109	GSSNRAA	1221	CQQYGTSLLTF	1414
003S-D07	Fzd2	YTFTNNFMH	383	GIINPSGGSTSYA	513	CARATSLGRRYCSSTSCYPRDAFDIW	759	QASQGISNNLN	1049	LGSDRAS	1233	CQQSYSTPFTF	1368
003S-E07	Fzd2	YTFTNNFMH	383	GWINPNSGGTKYA	563	CARSVGEVGATMLGIGVWYWFDPW	926	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPFTF	1368
003S-A08	Fzd2	FTFSNYAMT	216	SAIGTGGGTYYA	595	CATAYRRPGGLDVW	969	RSSQSLLHSDGKTYLY	1134	LGFNRAS	1232	CMQNTHWPLTR	1293
003S-C08	Fzd2	LTVSTNFMS	324	AGIGWDSTNIGYA	440	CARDLVAARPSNWDYW	782	RASQGIRNDLG	1069	GASTLQR	1214	CQQSYSTPRVTF	1374

【表１Ａ－１２】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
003S-E08	Fzd2	FTFRNSAMH	201	STISGSGGSTYYS	647	CARGGGYSSSW	829	RSSRSLLHSDGKTYLY	1143	LGSNRAS	1237	CMQSSHWPKTF	1298
003S-G09	Fzd4	FTFDHNPMN	194	SAIGAGGGTYYA	593	CASPTVTRR	960	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-C10	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTTYA	558	CARHYYGSGSYPDW	880	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-D10	Fzd4	FNFGIYSMT	172	SYISGDSGYTNYA	658	CARVGPGGWFDPW	936	RASQGISSYLA	1076	AASNLLG	1167	CQQTYSTPWTF	1396
003S-E10	Fzd4	FTFSSYAMH	227	AGISASGGSTYYA	442	CARPSTTGTKAFD1W	901	RASQSIGSNLD	1085	AASTLET	1178	CQQSYSVPDTF	1380
003S-A11	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTTYA	558	CARHYYGSGSYPDW	880	RASQSISZYZN	1103	ZASSLQS	1264	CQQSYSTPLTF	1372
003S-G11	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GRIIPIFGTVNYA	528	CARGARLDYW	820	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-H11	Fzd4	YTFTGYYMH	379	GGIIPIFGTPHYA	502	CASTDPSSGLDYW	967	RASQSIGSNLD	1085	DASSLES	1189	CQQSFIMPLTF	1341
003S-C12	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GWINPNSGGTNYA	564	CARGGSSDVR	838	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-F	Fzd4	FTFSSY	227	SVISTS	652	CARGGS	838	RASQSI	1098	AASSLQ	1175	CQQSYS	1372

【表１Ａ－１３】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
12		AMH		GDTVLYT		SDVR		SSYLN		S		TPLTF	
004S-B01	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GIINPSGGSTSYA	513	CAKDGVVR	698	RAIQSISSYLN	1054	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-C01	Fzd4	FTFSNHYTS	213	STISSSGGRTFYA	650	CARASRIDGGWPIIDHL	754	RASQDIRDELA	1062	AASTLQS	1179	CQQADSFPLTF	1311
004S-D01	Fzd4	FTFTNYAMS	248	SAISGSGGSTYYA	600	CARATGFGTVVFDYW	757	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-E01	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTTYA	558	CARHYYGSGSYPDW	880	ZACLRIISYLN	1163	FASSLQS	1205	CQQSYSTPLTF	1372
004S-F01	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTTYA	558	CARDGVE	773	RASQGISNWLA	1073	DASSLQS	1190	CQQSHITPYTF	1344
004S-H01	Fzd4	FTFSNYAMH	215	ALMSPDGTIIYYA	456	CAKGIVGDYGAFD1W	717	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-B02	Fzd4	FTFSSYGMH	230	SSINNSSRTVFYA	630	CAKDHLAVADAHGR	700	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-E02	Fzd4	FTFSSYAMH	227	AVISYDGSNEYYA	474	CAGGEVYEL	692	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-F	Fzd4	FTFSTY	242	AVISSD	473	CAAPDV	685	RASQGI	1076	AASTLQ	1179	CQQANT	1322

【表１Ａ－１４】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
02		AMH		GNNKYYT		VVTADGYYW		SSALA		S		VPFTF	
004S-G02	Fzd4	FTFANYAMN	190	ALISYDGGTKYYA	453	CAKTLVTSHALHIW	728	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-H02	Fzd4	FTFANYAMH	189	ALISYDGGNKYYA	452	CAKTLVTSHALHIW	728	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
001S-E03	Fzd5	GSFSGYYWH	276	GEINHSGSTNYN	489	CARGRRLVRFTVTSAFDIW	858	TGSSSNIGAGFGVH	1158	SDRNRPS	1255	CQSYDSSLRASVF	1429
001S-B05	Fzd5	GTFSSYAIS	295	GGIIPILGIANYA	504	CARIPKPRGYSYGDNGSW	883	RSSQSLLHSNGNTYLD	1137	LGSDRTS	1234	CMQSLQTPYTF	1297
004S-A07	Fzd6	GNFKNYGIT	271	GRIIPALGTANYA	525	CARQYCSGGSCYPDAFDIR	908	RASQDIRSALA	1063	QASSLIS	1245	CQQSYSMPQTF	1361
004S-B07	Fzd6	FTFSSYSMN	233	GVISKDGDNKYYA	553	CASSRDGYNRLAFDIW	965	QASQDIRNYLN	1043	AASSLQS	1175	CQQSSRFWTF	1347
004S-A08	Fzd6	GTFSSYAIS	295	GRIIPILGIANYA	529	CARDGGDYGMDVW	767	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-B08	Fzd6	YTFTNNFMH	383	GRINPNSGGTNY	537	CASQNYYGSGSY	961	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372

【表１Ａ－１５】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				A		PGFDYW							
004S-D08	Fzd6	YTFTYRYLH	394	GGIIPIFGTANYA	499	CATHDSSGYYSFDYW	973	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-E08	Fzd6	FSVSSNYMN	187	SAIGTGGGTYYA	595	CTTRTYDSSGYYETQNYYMDVW	1024	RSSRSLLHSNGNTYLQ	1144	LGSNRAS	1237	CVQTTQSPLTF	1434
004S-G08	Fzd6	FTFSDYYMS	208	AAISYDESNKFYA	423	CARSAVAGAFDIW	916	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-A09	Fzd6	FTFRDYAMN	198	SGISWNSGSIGYA	615	CARRSGYSGSVYYYYGMDVW	913	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-B09	Fzd6	FTFSSFGMH	221	AGINWNGGSVVYA	441	CARGPSHQHTFDIW	854	RASQGISSALA	1076	AASSLQS	1175	CQQSYSHTAFTF	1357
004S-C09	Fzd6	YTFTNNFMH	383	GGFDPEDGETIYA	492	CARVGRGYSFDYW	937	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-E09	Fzd6	DTFSNYVIS	163	GRISAYNGYKSYA	538	CARSSGYVGWFDPW	924	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-F09	Fzd6	FTFSNYYTS	218	SYISGAGGSTEYA	657	CARLPRRSGKGSAFDIW	888	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372

【表１Ａ－１６】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
004S-H09	Fzd6	GTFSSYTIS	296	GWMNPNSGNTGYA	583	CARVGATSAGGMDVW	935	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-C10	Fzd6	YIFTDYYMH	368	GLVDPEDGETIYA	520	CAHSDFFSGLSFGDW	693	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-D10	Fzd6	FTFSNSDMN	214	SSISTSGGSTYYA	637	CARGSYW	864	RASQNINNYLA	1081	RASTLQS	1249	CQQYSSYPYTI	1425
004S-E10	Fzd6	TTLNKYAIS	365	GRITPVVGVTNYA	539	CALSSSWYGGFDYW	731	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-F10	Fzd6	GFTFSDHY	269	ALVGYDGSQQFYG	458	CNTGIPMLYW	1003	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-G10	Fzd6	FTFSDYYMS	208	SAISGSGFTYYA	599	CARVSRGFAFDYW	948	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-A11	Fzd6	GTFSSYAIS	295	GRIIPILGIANYA	529	CARESVNNYYYMDVW	813	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-C11	Fzd6	FTFSSYAMH	227	ALTSYDGSKKFYA	457	CAKTGRGYAFDIW	726	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-E11	Fzd6	FTFSSYNMN	232	GRIKSKANGGTTDYA	535	CAKAGQQLDW	696	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372

【表１Ａ－１７】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
004S-H11	Fzd6	FTFTSSAMQ	249	GGIIPIFGTANYA	499	CATVQTNYYDSSGRFSYRAHYFDYW	977	RASQSISRWLA	1094	AASSLQS	1175	CQQYVSYPLTF	1426
004S-A12	Fzd6	YTFTNNFMH	383	GRINPNSGGTNYA	537	CARGQGYSSGWYRGDAFDIW	855	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-D12	Fzd6	FAFDDYAMH	165	GFIRSKAYGGTTEYA	490	CAKDRGYSSGWYLDYW	708	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-H01	Fzd7	FNFSSYTMR	173	SVIYGGGNTNYA	653	CARGGSGGNLSYW	836	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-A02	Fzd7	GTFSSYAIS	295	GMIIPFLGITNYA	521	CTRPYDAFDIW	1016	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-C02	Fzd8	YTFASYGMH	373	GWINAGNGNTTYA	558	CARLSVWKWEQVTNWFDPW	890	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-E02	Fzd8	GTFTSYAIS	305	GWINAGNGNTKYS	557	CTTGLFPYYRYNWNNDAFDIW	1022	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-A	Fzd8	GTFSSY	295	GWMNPN	583	CAKWHI	729	RASQSI	1098	AASSLQ	1175	CQQSYS	1372

【表１Ａ－１８】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
03		AIS		SGNTGYA		GATGNWFDPW		SSYLN		S		TPLTF	
005S-H03	Fzd8	YTFTNNFMH	383	GGIFPIYGISTYA	494	CARDRPTSSWYAFDYW	792	RASQGISNNLN	1072	DASTLQT	1193	CQQSFSAPITF	1342
005S-F04	Fzd8	FSFSSTAMS	181	SYISSSGSITHYA	670	CARYGDYGDYW	954	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-H04	Fzd8	YTFTNNFMH	383	GWINAGNGNTTYA	558	CARVATGNAFDIW	932	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-B05	Fzd8	FTFSSYWMH	239	AGISGSGKTTFYA	444	CARGGLLFDYW	831	QASQDISNYLN	1046	KASSLES	1226	CQQSYSTPRTF	1373
005S-F05	Fzd8	FTFTSSAVQ	251	GWMNPNSGNTGYA	583	CARRTAVAGTIDYW	914	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-G05	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GWISPYNGNTNYA	573	CARGGWTNYGGNLDYW	841	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-H05	Fzd8	YTFTSYYMH	392	GRINPNSGGTNYA	537	CARVPDFWSGYLDYW	943	RASQGISRTLZ	1075	AASSLQS	1175	CQQTYSMPITF	1392
005S-D06	Fzd8	YTFTYRYLH	394	GGIIPIFGTANYA	499	CARDSYPYGMDVW	800	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-F	Fzd8	GTFSSY	295	GRVIPI	545	CAREYL	815	RASQSV	1108	GASSRA	1213	CQQYGS	1409

【表１Ａ－１９】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
06		AIS		LGVTNYA		GSFDIW		GSNLA		T		SPPFTF	
005S-A07	Fzd9	FTFTGSAVQ	247	GGILPIYGTTKYA	509	CARGARLYGFDYW	822	RASQSVSRNLA	1114	GASTRAT	1217	CQQRSNWPITF	1335
005S-B07	Fzd9	FTFTSSAVQ	251	GWMNPNSGNTGYA	583	CARGRGQQWLTGYYGMDVW	857	RASQGISSALA	1076	GASTLQS	1215	CLQDYNYPFTF	1272
005S-C07	Fzd9	FTFSSYSMN	233	SYIENDGSITTYA	654	CARAPYYYGSGSLFRLDYW	748	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-D07	Fzd9	GTFNSYAIA	291	GGIIPIFGTANYA	499	CARAGSGYYNFDYW	740	RASQSINRWLA	1090	AASSLQS	1175	CQQTYNIPITF	1388
005S-F07	Fzd9	FSFSSYGMH	182	AYINSRGSLMYYA	483	CAKTKLPIW	727	RASQSINRNYLG	1089	AASSRVT	1176	CQQYDSWPPTF	1402
005S-G07	Fzd9	GSFSGYAIN	274	GGIIPIFGTANYA	499	CATGYYYDYYFDYW	972	RASQGISNNLN	1072	AASSLQS	1175	CQHYYNLPLTF	1309
005S-H07	Fzd9	GTFTNNFMH	303	GLVDPEDGETIYA	520	CARTYRIVGATPRYYYYGMDVW	931	RASQTINNQLA	1125	KASNLET	1224	CQQANSFPVTF	1318
005S-B	Fzd9	YIFTDY	368	GWINPN	562	CARGPR	853	RASQSI	1098	AASSLQ	1175	CQQSYS	1372

【表１Ａ－２０】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
08		YMH		SGGTIYA		DSGYYPGGAFDIW		SSYLN		S		TPLTF	
005S-D08	Fzd9	FAFSSHWMH	166	SAIDGSGGSTYYA	592	CARDRQLGWAHWYFDLW	794	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-G08	Fzd9	YTFTGYYMH	379	GWINAGNGNTTYA	558	CARDRDYW	787	QTSQDINNNLN	1053	KASSLES	1226	CQQSYSSPPTF	1366
005S-C09	Fzd9	FTFSSYGMH	230	SAIGTGGGTYYA	595	CALLVGAARGISYYYYYGMDVW	730	QASQDISNYLN	1046	AASTLQS	1179	CLQHKSFPTF	1276
005S-D09	Fzd9	YTFTSYAMH	389	GWINAGNGNTTYA	558	CARDRPYSSGWYYPAFDIW	793	RASQSVSSNQLA	1117	GASTRAT	1217	CQQRYNWPPSITF	1339
005S-E09	Fzd9	FNLRRYNMN	175	SRISNSGSLVYYA	627	CARDADSSGYYRYDAFDIW	762	RASQSVSSNLA	1116	DASNRAT	1188	CQQRNNWLYTF	1334
005S-A10	Fzd9	YTFTDYYMH	376	GIINPSGGSTSYA	513	CARHVYGSGTYNNWFDPW	878	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-D10	Fzd9	YTFTSYYMH	392	GWMSPNSANTGYA	583	CARGGPIHYYYYYYMDVW	834	RASQGISNNLN	1072	AASTLQS	1179	CQQTNLFPYTF	1385

【表１Ａ－２１】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
005S-H10	Fzd9	GAFSTSSIS	265	GRIIPVLGTANYA	534	CAKGGWRSSFDPW	715	RASQSVSSNLA	1116	GASTRAT	1217	CQQYNSWPLTF	1421
005S-B11	Fzd9	YTFTSYDIN	390	GGFDPEDGETIYA	492	CAKAGDWGLYGMDVW	695	RASQSISRWLA	1094	AASSLQS	1175	CQQTNTFPFTF	1386
005S-C11	Fzd9	FTFTGSAVQ	247	GGILPIYGTTKYA	509	CARGARLYGFDYW	822	RASQSVSRKLA	1113	GASTRAT	1217	CQQRSNWPITF	1335
005S-D11	Fzd9	YTFTNNFMH	383	GWINPNSGDTKFA	561	CAREANYDILTGYIRPDAFDIW	806	RASQSLRSKLA	1106	GASTRAT	1217	CQQYANSPWTF	1401
005S-E11	Fzd9	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTKYS	557	CTTTEYSSSPDYYYGMDVW	1025	QASQDISNYLN	1046	GASTLQS	1215	CQQLSRYPSLF	1331
005S-G11	Fzd9	GTFTRNSIS	304	GGIIPIFGTANYA	499	CARSSDLRIFDYW	922	RASQSVSSNLA	1116	GASNRPT	1209	CQQYGSSPYTF	1413
005S-H11	Fzd10	YTFASYDIH	372	GWINAGNGNTTYA	558	CARDGIWDIFDYW	769	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-E12	Fzd10	YIFTDYYMH	368	GVIFPVYPTPDYA	551	CARGGSTGYYGMDVW	839	RASQSVGRWMA	1107	AASSLQS	1175	CQQANTFPFTF	1321
005S-F	Fzd10	GTFSSY	295	GRIVPI	541	CARDTC	801	RASQSI	1098	AASSLQ	1175	CQQSYS	1372

【表１Ａ－２２】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
12		AIS		VDVVKYA		SSTSGSPDYW		SSYLN		S		TPLTF	
006S-A01	Fzd10	FTFSSYSMN	233	SAIGTGGGTYYA	595	CAREGWFGESPFGMDVW	810	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
006S-F01	Fzd10	YTFTRYAVH	385	GWISTFNDNTNYA	576	CASPTGMTTNFDYW	959	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
006S-H01	Fzd10	YIFTDYYMH	368	GGIIPIFGTANYA	499	CAKGSYYYDSSGYYWDAFDIW	723	RASQGISNNLN	1072	AASNLET	1166	CQQTSSTPLTF	1387
006S-A02	Fzd10	YIFTDYYMH	368	GGIIPLFGTTDYA	507	CARDITGADGMDVW	775	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
006S-D02	Fzd10	GTFSSYAIS	295	GRIIPTVGTANYA	533	CARDVCSGGSCSPDVW	802	RASQGISNNLN	1072	DASSLES	1189	CQQTYNTPRTF	1390
006S-E02	Fzd10	FTFTSSATQ	250	GGIIPIFGTANYA	499	CARDGSSGWYSPNAFDIW	770	RASQGISNNLN	1072	AASSLQS	1175	CLQHNGYPITF	1277
006S-H02	Fzd10	FTFRMYGMH	200	SRISPDGRTTYA	628	CARSPRWYDAFDIW	920	RSSQSLLHSNGYNYLD	1138	RVSSRFS	1251	CMQGTHWPPTF	1288
006S-A03	Fzd10	YIFTDYYMH	368	GWINAGNGNTTYA	558	CARDPIMFGDQPGWFDPW	784	RASESVSSNLA	1055	GASSRAT	1213	CQQYNKSPSF	1419

【表１Ａ－２３】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
006S-B03	Fzd10	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTKYA	556	CAREGYDFWSGPYAFDIW	811	RASQTISRYLN	1126	EVSSLQG	1203	CQQSYSTPWTF	1378
006S-C03	Fzd10	GTFSSNVIS	293	GGIIPIFGTANYA	499	CARGGYYYGMDVW	843	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-B01	Fzd1	YIFTDYYMH	368	GGIIPIFGTANYA	499	CARMSSDYYDSSGYYRRGMDVW	895	RASQGISNNLN	1072	GASTLQS	1215	CQQADSFPPTF	1312
014S-D01	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTTYA	558	CARHYYGSGSYPDW	880	RASQSISSHZN	1096	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-E01	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTTYA	558	CARHYYGSGSYPDW	880	RASQSIZZYZN	1105	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-G01	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GWMNPNNGNTTYA	581	CARHYYGSGNYRDW	879	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPFTF	1368
014S-A02	Fzd4	FTFSSNAMH	223	SGISGSGGSTYYA	608	CAKPGIAAAGTNNWFDPW	725	RASQGISSALA	1076	GASTVES	1218	CQQSYSTPRTF	1373
014S-B02	Fzd4	FTFSSYAMH	227	SGISGSGSSTYYA	611	CARPSTTSFGMDVW	902	RASQSVSSNLA	1116	GASTRAT	1217	CQQYDTPLRTF	1403
014S-C02	Fzd5	YTFTSYYMH	392	GRINPNSGGTNY	537	CARVPDFWSGYL	943	RASQGISSALA	1076	AASSLQS	1175	CQQTYSMPITF	1392

【表１Ａ－２４】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				A		DYW							
014S-D02	Fzd5	GTFSTYAIS	299	GIINPSGGSTSYA	513	CARAKGSGWYVGSAFDIW	744	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-E02	Fzd5	FTFSDSYMS	206	GFIRSKAYGGTTEYA	490	CARATQELLLPYGMDVW	758	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-F02	Fzd5	YTFTSYYMH	392	GRINPNSGGTNYA	537	CARVPDFWSGYLDYW	943	RASQGVSTZLS	1079	AASSLQS	1175	CQQTYSMPITF	1392
014S-G02	Fzd6	YTFTSYYMN	392	GIISPSGGSTSYA	516	CARWGDYGDLYYFDYW	951	RASQGISSALA	1076	ATSTLQS	1183	CQQVNSYPPTF	1399
014S-H02	Fzd6	YIFTDYYMH	368	GRINPNSGGTNYA	537	CARARSSGWTDAFDIW	751	RASQSVSSWLA	1120	AASTLQT	1180	CQQSYSTPTF	1376
014S-A03	Fzd6	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTTYA	558	CARHYYGSGSYPDW	880	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-B03	Fzd6	FTFSSYNMN	232	GRIKSKANGGTTDYA	535	CARAGDSPDYW	739	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-E03	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GWISPYNGYTKYA	574	CARAMWSYGQQNAFDIW	745	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-G03	Fzd8	FTFTSSAVQ	251	GWMNPNSGNTGY	583	CARRTAVAGTID	914	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372

【表１Ａ－２５】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				A		YW							
014S-H03	Fzd8	YTFTSSAIH	387	GRINPNSGGTNYA	537	CARVKWELAIDYW	940	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-B04	Fzd8	YIFTDYYMH	368	GWMNPNSGNTGYA	583	CARGGSRYDFWSGHWYFDLW	837	RASQGISNYLA	1074	AASSLQS	1175	CQQSYSTPFTF	1368
014S-E04	Fzd8	YTFTGYYMH	379	GRINPNSGGTNYA	537	CARDVPKLVTRGVAYGMDVW	804	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-F04	Fzd8	YSFTTYGMN	371	GWINAGNGNTTYA	558	CARAAAGSYGGGYW	736	RASQGISNNLN	1072	EASSVAS	1197	CQQSYTSTPLNSF	1381
014S-G04	Fzd8	FTFSSYGMS	231	SAISGSGGSTYYA	600	CARDLTPFTQQQLVLGLL	780	RASQSVSGYLA	1112	GASTRAA	1216	CQQYNYWPPAF	1423
014S-H04	Fzd8	FTFTSSAVQ	251	GRIVPAIGFTQYA	540	CARSGYNRRGYFDYW	919	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-A05	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GGIIPIFGTANYA	499	CARVTLGASVDAFDIW	949	RASQGISNNLN	1072	DASSLES	1189	CLQHNSLPFTF	1278
014S-B05	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GWVSPNTGNTVYA	587	CTTDRRYSTYFDLW	1021	RASQSVSSNLA	1116	GVSNRAT	1223	CQQYNIWPRTF	1418

【表１Ａ－２６】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
014S-C05	Fzd8	YTFASYGMH	373	GWINAGNGNTTYA	558	CARLSVWKWEQVTNWFDPW	890	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-D05	Fzd8	GTFTSYAIS	305	GWINAGNGNTKYS	557	CTTGLFPYYRYNWNNDAFDIW	1022	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-F05	Fzd9	FTFTGSAVQ	247	GGILPIYGTTKYA	509	CARGARLYGCDYW	821	RASQZVSRZZA	1127	GASTRAT	1217	CQQRSNWPITF	1335
014S-G05	Fzd9	FTFSSSWMH	226	SAIGTGGGTYYA	595	CARKVKGYCSGGSCYGYW	884	RVSQGISSALA	1151	AASSLQS	1175	CQQTFSVPWTF	1384
014S-H05	Fzd9	FTFSNYAMT	216	STISGSGVSTFYA	648	CARHGRIAADIW	876	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-A06	Fzd9	FTFZZSZVQ	254	GGILPIYGTTKYA	509	CARGARLYGFDYW	822	RASQSVSRNLA	1114	GASTRAT	1217	CQQRSNWPITF	1335
014S-B06	Fzd9	FTFSSYSMN	233	SYIENDGSITTYA	654	CARAPYYYGSGSLFRLDYW	748	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-C06	Fzd10	FTFTGSAVQ	247	GGILPIYGTTKYA	509	CARGARLYGFDYW	822	RASQSVSRNLA	1114	GASTRAT	1217	CQQRSNWPITF	1335

【表１Ａ－２７】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
014S-D06	Fzd10	FTFSRYAMH	219	SGIGVGGGTYYA	605	CARDAYNWFDPR	763	RASQSISRYLN	1095	AASSLQS	1175	CQQRYSTPLTF	1340
014S-F06	Fzd10	YIFTDYYMH	368	GVIFPVYPTPDYA	551	CARGGSTGYYGMDVW	839	RASQSVGRWMA	1107	AASSLQS	1175	CQQANTFPFTF	1321
014S-G06	Fzd10	FTFSSYAMH	227	SAIGAGGGTYYA	593	CARDAYNWFDPW	764	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-H06	Fzd10	FTFSSYDMN	229	SAIGTGGGTYYA	595	CARDAYNWFDPW	764	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-A07	Fzd10	FTFSNAQMS	210	SAIGTGGGTYYA	595	CAREGSYYDWYFDLW	809	RASQNIGSRLA	1080	GASNRAS	1208	CQQYNHWPPLFTF	1417
017S-E08	Fzd8	IIFSPNDMG	313	ALISSGGSTSYA	450	CHFGVASVGLNYW	980						
017S-H08	Fzd8	RTFSSFVMG	346	AAVSASGGYTWYA	432	CNLAQRGETYW	998						
017S-A09	Fzd8	LAFNGYTMG	317	AAISWSDNTYYA	414	CAAGFPTVFVVDGEYDYW	680						
017S-B09	Fzd8	FTLDYYAIS	255	ADITSGGSTNYA	437	CNAVTYNGYTIW	994						
017S-C09	Fzd8	LTFSDYTVG	319	ASSTGGGVFENYA	464	CNAVTYNGYTIW	994						
018S-D	Fzd4	RIFSSY	330	PRIPSD	590	CEVHNF	979						

【表１Ａ－２８】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
06		AQA		STTFYA		GATYW							
018S-E06	Fzd4	RTFSNYVMG	344	AVISRSGGNTYYT	472	CNAVSTDWTTDYW	992						
018S-F06	Fzd4	RTFSTYGMG	349	AAISWSDNTYYA	414	CNSFPLRLHDW	1002						
018S-G06	Fzd5	LAIDDYYMV	318	SYISTSDGSTYYA	673	CNAVTYNGYSIW	993						
018S-H06	Fzd5	LAFNGYTMG	317	AQISWTGGSTDYA	460	CNADYGTWYGIGW	985						
018S-A07	Fzd5	LAFNGYTMG	317	AAISWMSNTYYA	412	CNMGLGYSEYRPLGYW	999						
018S-B07	Fzd5	SAFSNYAMG	355	AAITWSGARTYYA	426	CNAVWKFGTTHW	995						
018S-C07	Fzd7	LTIDDYYVV	323	SYISAGDGFTYYA	656	CNAVTYNGYTIW	994						
017S-F09	Fzd4	GSFSGYYWS	277	GEINHSGSTNYN	489	CARDLRFYSSSWRRVGMDVW	778	RSSRSLLHTSGYNYLD	1147	LGSNRAS	1237	CMQGTRWPTF	1290
017S-G09	Fzd4	YTITTYAIH	396	GWINADTGDTAY	555	CARGWTTISSLG	872	RSSRSLLHTNGY	1146	LGSNRAS	1237	CMQALQTPLTF	1281

【表１Ａ－２９】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				S		VW		NYLD					
017S-H09	Fzd5	NIFRIYAIA	326	AALTGQRTTNYA	427	CNTVTYNAGCYKKYW	1004						
017S-A10	Fzd5	LAFNGYTMG	317	ASITWNGRYTYYA	462	CNARLDAVYGHSRYDSW	988						
017S-B10	Fzd5	NFFSNYPLG	325	GAISRTGSGTFYA	484	CAAGVTGSWRYW	684						
017S-C10	Fzd8	RSFSNYRVA	335	AVSWSVGMTYYA	479	CNAVTYNGYTIW	994						
017S-D10	Fzd8	GTFGSYAVG	288	GLISRNAGNTLYA	518	CNAVNGRLNYW	991						
017S-E10	Fzd8	RTFSSYSLA	348	AAVSASGANTYYA	431	CAAPQSPNMYIRTDQLWWYKYW	687						
018S-D07	Fzd1	RSFSTYPMG	336	TVISGSGGSTYYA	675	CAAGPTLPFRYW	683						
018S-E07	Fzd1	RAFSNYAMG	328	AAINWSGDSAYYA	406	CNARLSFAGGMGYW	989						
018S-F07	Fzd1	IKSMFDMNFMG	314	AFITRGGTTRYG	438	CNAVSTDWTRDY	992						

【表１Ａ－３０】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
						W							
018S-G07	Fzd1	LTIDDYYMV	322	SYIGTSDGTTYYA	655	CNAVTYNGYTIW	994						
018S-H07	Fzd4	RVFSSYAQA	354	AGIASDSTTFYA	439	CKVHNFGATYW	983						
018S-A08	Fzd4	RIFSSYAQA	330	ASIPSDGTTFYA	461	CKVHNFEATYW	982						
018S-B08	Fzd4	LTFSTYGMG	321	AAINWSGRSTVYA	407	CNSFPLRLHDW	1002						
018S-C08	Fzd4	RTLSSYVVG	351	ALISLSGASTYYA	449	CNAVSTDWTTDYW	992						
018S-D08	Fzd5	IKSMFDMNFMG	314	AFITRGGTTRYG	438	CNAVSTDWTRDYW	992						
018S-E08	Fzd5	RTDGMQAMG	338	GAITWSLGSAFYA	486	CNVLAQNDGDYRTYG	1007						
018S-F08	Fzd5	RTFSSFVMG	346	AAVSASGGYTWYA	432	CNAVWKFGTTHW	995						
018S-G08	Fzd5	RTFSSFVMG	346	AAVSASGGYTWYA	432	CNAVCKFGTTHW	990						
018S-H	Fzd5	RTFSSF	346	AAVTAS	434	CNAVWK	995						

【表１Ａ－３１】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
08		VMG		GGYAWYA		FGTTHW							
018S-A09	Fzd8	ITFSFNSVG	316	AVFIAGYGAYYA	470	CNGVTYNGYTIW	997						
018S-B09	Fzd8	HDFSSTYGVG	310	ATISWGGTNIA	468	CAAQKPYYNGHFYADDKHYDHW	688						
018S-C09	Fzd8	ITFGFDSVG	315	AVFNAGYRAYYA	471	CNAVTYNGYTIW	994						
018S-D09	Fzd8	RTFSWYSMG	350	AAVSWSGVSTYYP	433	CNAVTYNGYTIW	994						
018S-E09	Fzd8	ITFSFNSVG	316	AVFIAGYGAYYA	470	CIGVTYNGYTIG	981						
018S-F09	Fzd8	RTDGMQAMG	338	GAITWSLGIAFYA	485	CNVLAQNDGDYRTYW	1008						
018S-G09	Fzd8	HDFSSTYGVG	311	AAISWRGTNIA	413	CAAQKPYYNGHFYADDKHYDHW	688						
021S-A01	Fzd8	DSVSSNSAAWN	160	GRAYYKSRWYYDYA	524	CVRDLRPSGDLNFDYW	1029	RASQSIGSSLH	1087	YASQSVS	1260	CHQSGRVPVTF	1268
021S-C01	Fzd1	GSISSGGYSWS	283	GSIYHSGSTYYN	547	CARFYYDILNGY	817	RSSRSLLDTDDG	1142	TLSHRAS	1259	CMQSIQLPWTF	1295

【表１Ａ－３２】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
						SYFDYW		NTYLD					
021S-D01	Fzd1	FTFSSYGMH	230	AVISYDGSNKYYA	475	CAKGSVFGLKAGGYADYW	721	RSSQSLVHSDGNTYLS	1140	KISNRFS	1230	CMQATQFPHTF	1283
021S-E02	Fzd8	YTFTSYGIS	391	GWISAYNGNTNYA	570	CARDGTPFYSGSYYGSW	772	QGDSLRTYYAS	1052	GKNNRPS	1219	CNSRDNSGKHKVF	1300
021S-G02	Fzd8	DSVSSNSGAWN	162	GRTYYRSKYYNGYA	544	PRLDYW	1034	RSSQSLLDSDDGNTYLD	1133	MLSSRAP	1240	CMQRLEFPYTF	1294
021S-A03	Fzd8	DSVSSNSAAWN	160	GRTYYRSKWYNDYA	542	CARSQATGERFDYW	921	RSSQNIFQSLN	1131	SASSLQS	1254	CQQSYNSPITF	1349
022S-H06	Fzd4	FTFSSYAMS	228	SVISTSGGTVLYT	652	CADGSGTSHR	690	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
022S-A11	Fzd10	YIFTDYYMH	368	GGIFPIFGTANYA	493	CAKGSYYYDNSGYYWDAFDIW	722	RASQGISNNIN	1071	AASNLET	1166	CQQTYSIPFTF	1391
OMP-18R5		GFTFSHYTLS	270	VISGDGSYTYYADSVKG	677	NFIKYVFAN	1033	SGDKLGKKYASorSGDNIGSFYVH	1152 or 1153	EKDNRPSG or DKSNRPSG	1200 or 1201	SSFAGNSLE or QSYANTLSL	1435 or 1436
027S-H02	Fzd5	FTFSSYAMS	228	SAISGSGGSTYY	600	CAKGLWGPLLNW	718	RASQSVSSNYLS	1118	GASSRAP	1212	CQQRTNWPPRVT	1337

【表１Ａ－３３】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				A								F	
027S-B03	Fzd8	DSVSSNSATWN	161	GRTYYRSKWYSDYA	543	CTRGNWNVGLANW	1014	SGTSSNIGAGYDVH	1157	GNNNRPS	1219	CSAWDDNLNGVVF	1432
027S-E01	Fzd5	RSFSIYNTA	334	AAISWSGGSTYYA	418	CNVITIVRGMGPRAYW	1006						
004S-D05	Fzd5	LTFSIYAMH	320	SAISGDGALTYYA	597	CARGVYPYSSKHKPSYYYYGMDVW	870	QASQDISNYLN	1046	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLFTF	1371
004S-D04	Fzd5	YDFTTYGIH	367	GGVIPAFGATDYS	511	CARGYYYGMDVW	874	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-B05	Fzd5	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTTYA	558	CASGLGYFDYW	957	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-G03	Fzd5	YTFTNNFMH	383	GGIIPIFGTPHYA	502	CARTLTTPPYYYGMDVW	929	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-F03	Fzd5	FTFSNSDMN	214	SAIGTGGDTYYA	594	CTRDLYGGYRDYW	1013	KSSQSLLHSDGYTYLY	1036	LGSNRAS	1237	CMQGLQTPWTF	1286
004S-C04	Fzd5	YIFTGYYMH	369	GRINPNSGGTNYA	537	CARGGEYSSGWTYYYYYGMDVW	827	RATQTISTYLN	1129	AASRLQS	1171	CQQYYSYPWTS	1427

【表１Ａ－３４】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
004S-B06	Fzd5	YTFTYRYLH	394	GMINPIGGSINYA	522	CARDVMDVW	803	RASQGISNNLN	1072	AASALQS	1165	CQHLNNFPLTF	1303
004S-F06	Fzd5	FSVGSNYMT	186	SSISSGNSYIYYA	634	CARGPKTMWEDRPDYW	851	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-A04	Fzd5	FTFSTYSMI	245	GFIRSKDYGGTTEYA	491	CARLTGGAVAGTHRDYW	892	RASQGISNNLN	1072	GASSLQS	1211	CQQSHSSPRTF	1346
004S-A05	Fzd5	FTFSSYVMS	237	SAIGTGGGTYYA	595	CARGSSGYYVAW	862	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-F05	Fzd5	FTFSNHYMS	212	AGVSIDANKKYYA	447	CARDQNDSWYRSDYW	785	RSSQSLLHSDGYTYLY	1135	LGSHRAS	1235	CMQGLQTPHTF	1285
003S-C01	Fzd1	GTFSSYAIS	295	GRINPNSGGTNYA	537	CARGSGYDFFDYGMDVW	861	RASQSISNNLN	1092	AASSLQS	1175	CQQSYNTPFTF	1350
003S-H01	Fzd1	DTFSNYVLS	164	GLVDPEDGETIYA	520	CAKASTPMVQGAPDYW	697	RASQSIGSNLD	1085	AASTLQS	1179	CQQNYATPRTF	1333
003S-H02	Fzd1	GTFNRYAIT	289	GGIIPIFGTANYA	499	CATTQGVYSSSWYGGGRAFDIW	976	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-H04	Fzd1	YTFTYRYLH	394	GRINPNSGGTNYA	537	CWGGSYYGDYW	1030	RASQGISNNLN	1072	AASSLQS	1175	CQQANSFPITF	1316

【表１Ａ－３５】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
003S-A05	Fzd2	FTFSSYAMH	227	SSISWNSGRVDYA	638	CARGSGIAASGSYW	860	TSSQSLLHSDGKTYLY	1162	LGSNRAS	1237	CMQGTHWPYTF	1289
003S-B05	Fzd2	FTFSNAWMS	211	STIAGSGGRTYYS	643	CAKDSIGRRGRGAPQPYYYYGMDVW	709	KSSQSLLHSDGKTYLY	1036	LGSNRAS	1237	CMQSLQSPLTF	1296
003S-F05	Fzd2	FSFSTYTMS	184	SRINGDGSSTRYA	624	CARATVGATGLNRFKAFDIW	743	KSSQSLLHSDGKTYLY	1036	LGSNRAS	1237	CMQNTHWPLTR	1293
003S-G05	Fzd2	STFTNAWMS	363	SAIGTGGGTYYA	595	CARDRVTLRGGYSYGTDAFDIW	796	RSSRSLLHSNGNTYLR	1145	LASRRAS	1231	CIQNTHWPLTR	1270
003S-H05	Fzd2	FTLSTYNMN	257	SRINYDGSATTYA	626	CARDRDIVVPAQRGEGGFDPW	786	KSSQSLLHSDGKTYLY	1036	MGSYRAS	1239	CMQGTHWPLTF	1287
003S-A07	Fzd2	FTFSSYAMS	228	SAISGSGGSTYYA	600	CAKGGRDGYKGYFDYW	714	KSSQSLLHSDGKTYLY	1036	LGSNRAS	1237	CMQNTHWPLTL	1292
003S-C07	Fzd2	FSFRSYSMS	178	SAIGTGGGTYYA	595	CTTTTVTTSW	1026	RTSQSVSSNLA	1150	DASNRAS	1187	CQQYGSSPYNF	1412
003S-F07	Fzd2	FSFSSYGMS	183	SHISSGGATIDY	619	CARDGGYW	768	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372

【表１Ａ－３６】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				A									
003S-G07	Fzd2	FTFSSYWMH	239	SYISGDSGYTNYA	658	CARDNGYCSGGSCYATYYGMDVR	783	RASQAISSYLA	1060	KASTLDT	1228	CQQADTFPFTF	1313
003S-B08	Fzd2	FTFSSZZMH	240	AVISYDGSNRZYA	476	CARSYYDSSGYPRKDAFDIW	927	KSSQSLLHSDGKTYLY	1036	LGSNRAS	1237	CMQTLKAPLTF	1299
003S-F08	Fzd2	ZSVSSNYMS	401	SRINSDGSTISYA	625	CARARLLGGYYTPDRMDVW	750	RSSQVLSSAYLA	1141	GASSRAT	1213	CQQYGSSPTF	1411
003S-H08	Fzd2	FTFNRHALS	197	ALISSNGDHKYYT	451	CARDLMVGRNKLDYW	777	QASQGISNNLN	1049	AASSLQS	1175	CQQSYSTPAFTF	1367
003S-A09	Fzd2	FTFSSSNMN	225	SGISGSGSSTYYA	611	CARGRVWSSRDYW	859	RSSQSLLHSDGYTYLY	1135	LGSNRAS	1237	CMQGTHWPLTF	1287
003S-B09	Fzd2	FNIRRZNMZ	174	SAIGTGGGTYYA	595	CARGDSGSYRDYW	823	RSSESLLHSDGKTYLY	1130	LGSNRAS	1237	CTQTVQFPITF	1433
003S-C09	Fzd2	FTFSSSAMH	224	SGISGSGTTTYYR	612	CARRLIAVAGAEFDPW	912	RASQGISNNLN	1072	SASNLQS	1252	CQQSYSTPWTF	1378
003S-F09	Fzd4	FTFSNSDMN	214	GRIKSKAYGGTT	536	CARQYYFDYW	909	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372

【表１Ａ－３７】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				EYA									
003S-H09	Fzd4	FTFSSFGMH	221	SVISSGGSPYYA	651	CATASGDFDYW	968	RASQSIGSNLN	1086	RASTLES	1248	CQQTYTTPRF	1398
003S-A10	Fzd4	FTFDDYAMH	191	AIVSYDGTYKYYS	448	CARQTRGGTTDGW	907	RASQGISNNLN	1072	YASSLQS	1262	CQQSHSPPGTF	1345
003S-B10	Fzd4	FTFSSHSTH	222	SAISASGDSTFYA	596	CARPIVGATAFDIW	900	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-G10	Fzd4	FTZSSYSMN	264	SYSSGNSGYTNYA	674	CARGVVGSGAFDIW	868	RASQSIVSYLN	1104	DASNLQS	1186	CQQGYSAPWTF	1329
003S-B11	Fzd4	FTFSDYYMS	208	SAIDGAGRTYYT	591	CARAIPGDYDYW	742	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-C11	Fzd4	FTFTSYAMH	252	GGIIPIFGIANYA	496	CARTGRGYYGMDVW	928	RASQSIGSNLD	1085	AASTLQS	1179	CQQSYSTPRTF	1373
003S-D11	Fzd4	FTFSSYSMS	234	SYISGDSGYTNYA	658	CARAGVATIAFDYW	741	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-F11	Fzd4	FTFDDYGMH	192	SAISGSGGSTYYA	600	CTTPNYYDSR	1023	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
003S-E12	Fzd4	GTFSSYAIS	295	GWINAGNGNTTYA	558	CARHYYGSGSYPDW	880	ZPZQTZZSHLN	1164	PASSLQS	1242	CQQSYSTPLTF	1372
004S-A	Fzd4	FTFSTY	244	SYISSS	671	CARGGL	830	RASQGI	1072	AASTLQ	1179	CQQGNN	1326

【表１Ａ－３８】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
01		GMH		SSAIYYA		DGPIDYR		SNNLN		S		FPFTF	
004S-G01	Fzd4	FTVSSHSMG	260	SLVSFDGSKEHYA	621	CARLGSTPDYW	887	RASQGISNNLN	1072	AASSLQS	1175	CQQYYTYPYTF	1428
004S-C02	Fzd4	FTFSSYGMH	230	AVISYDGSNKYYA	475	CASDPVTAATR	956	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-D02	Fzd4	FSFSSYGMS	183	SGISGSGRSTYYA	610	CAKDGYW	699	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-A03	Fzd4	FTFSSYAMH	227	SGINWNGGSTGYA	606	CARPAGSAQNWFDPW	899	RASQGISNNLN	1072	DASNLET	1185	CHQSYSIPRTF	1269
004S-B03	Fzd4	FSFSRYGMS	180	SGVGGSGGSTZYA	617	CARDGSW	771	RASQDVDTWLA	1066	DASTLET	1191	CQQGYNIPWTF	1328
004S-C03	Fzd4	YTFTSYAIS	388	GIINPSGGSTSYA	513	CARQIGWELMPDIW	906	QASQDISSYLN	1047	AASTLQS	1179	CQQAISFPLTF	1315
004S-C05	Fzd5	ZZZTDYYZQ	403	GGMNZNRGNTGYA	510	CANGSYAQHLW	732	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-G05	Fzd5	FTFSSYWMH	239	STISPSGLYIYQA	649	CAKDKVPYSYGPNFDYW	703	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-E	Fzd5	FFFSGY	169	ANIKQD	459	CARVFP	934	QASQDI	1046	KASSLE	1226	CQQANS	1319

【表１Ａ－３９】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
06		WMS		GSEKYYV		LHDYW		SNYLN		S		FPYTF	
004S-C06	Fzd5	FPFSTFSMN	176	AGISWNSGTIDYA	446	CARSGPAAMVYYYYGMDVW	918	RSSQNVSSYLA	1132	GASTRAT	1217	CQHRANWPQTF	1305
004S-E07	Fzd6	FTLSSHHMN	256	SAIGTGGGTYYA	595	CAAPDYW	686	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-F07	Fzd6	FSFSKKYMT	179	SSIDGNGDHVFYA	629	CARPYYYDSSGYDPMGDYW	904	QASQDITNYLN	1048	KASTLES	1229	CQQSYSAPYTF	1356
004S-C08	Fzd6	FTVSSNYMN	261	SAIGTGGGTYYA	595	CAQGTYW	735	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-F08	Fzd6	FTFDDYYMN	193	SAVSGNGGGTFYA	604	CARGGNYGSGDYW	833	RASQSISZWLA	1102	EASTLQS	1198	CQQTYTPPFTF	1397
004S-G09	Fzd6	GTLNNHTLS	308	GRIIPIFGTANYA	526	CARDRRGYGMDVW	795	RASQAISNSLA	1058	DASNLET	1185	CQQAYSFPWTF	1324
004S-B10	Fzd6	FTFSDYYMS	208	SGINWNSAKIGYV	607	CARIGAGGAFDIW	881	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-H10	Fzd6	FIFSDYYMS	170	AVITSGGTFKYYA	477	CARNGIAAAEDYW	896	RASQSISTYLS	1101	GASSLES	1210	CQQSYSPPFTF	1362
004S-B	Fzd6	FTFSSS	226	SGISWN	615	CARYSS	955	RASQSI	1098	AASSLQ	1175	CQQSYS	1372

【表１Ａ－４０】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
11		WMH		SGSIGYA		GGSLDYW		SSYLN		S		TPLTF	
004S-D11	Fzd6	YZFZZZYMH	400	GRINPNSGGTNYA	537	CARARSSGWTDAFDIW	751	RASQSVSSWLA	1120	AASTLQT	1180	CQQSYSTPTF	1376
004S-F11	Fzd6	FTFSSYAMS	228	SSISGGGRHTYYA	632	CARPYSSSRQGDYW	903	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-G11	Fzd6	YIFTDYYMH	368	GWINPNSGGTNYA	564	CARDRPGFDPW	790	RASQSVSSYLA	1121	GASSRAT	1213	CQQYAISYTF	1400
004S-B12	Fzd6	FTFSSYWIH	238	SYISGDSGYTNYA	658	CAKGIRWFDPW	716	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
004S-C12	Fzd6	YIFTDYYMH	368	GWMNPNSGNTGYA	583	CASSHYAPGMDVW	962	RASQGISSYLA	1076	RTSTLES	1250	CQQSYSTPWTF	1378
004S-F12	Fzd7	FTVGNNYMS	258	SSITTTSTLYA	640	CARGKEGRYSNYEAAW	844	RASQSISSYLN	1098	AASTLQT	1180	CQQSYSIPFTF	1358
005S-B01	Fzd7	FTFRSYGMH	202	SLISGSGDNTNYA	620	CARREPLYSSRRGAFDIW	910	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-C01	Fzd7	FTFSSYSMS	234	SAISGSGGSTYYA	600	CTRTIVGATPHYW	1017	RASQGISNNLN	1072	KASSLQS	1227	CQQSYSLPYTF	1360
005S-F	Fzd7	FTVSSN	262	SAISGS	598	CAKGAG	711	RASQSV	1119	GASSRA	1213	CQQRYK	1338

【表１Ａ－４１】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
01		YMS		GATTTYA		YGSGSWQAAW		SSSYLS		T		SYTF	
005S-B02	Fzd8	YSFTNYAMH	370	GRIIPIFGTAZYA	527	CARGTFLEWLLTNYGMDVW	866	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-D02	Fzd8	GTFSSYVIS	297	GWIGPHNGNTNYA	554	CATGWPRYYYGMDVW	971	RASQSVSSNLA	1116	NTSNRAT	1241	CQHYNNWPFTF	1308
005S-G02	Fzd8	YTFTSYYMH	392	GGIIPIFGTAZYA	500	CARLPYYDFWSGYYGGRTGFDYW	889	RASQSVSTNLA	1122	DASNRAT	1188	CQQRSNWPPQITF	1336
005S-H02	Fzd8	YTFTYRYLH	394	GWINAGNGNTTYA	558	CARASLYYDYVWGSYRHYYFDYW	753	QASQDISHYLN	1044	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-B03	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GIINPSGGRTTYA	512	CATSFGGGWIVVDTSLWYW	975	RASQSINSNLA	1091	GASSRAT	1213	CQQYGSSPYTF	1413
005S-C03	Fzd8	GSFSGYAIS	275	GGIIPIFGTANYA	499	CRVDAFDIW	1009	RASQSVSSSYLS	1119	DTSNRAT	1194	CQQYGSSPITF	1408
005S-E03	Fzd8	FTFTSSAVQ	251	GGIIPIFGTANYA	499	CARSSGWQNRFAFDIW	923	RTSQSISSYLN	1149	AASTSQS	1181	CQQSFSSWTF	1343

【表１Ａ－４２】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
005S-F03	Fzd8	YTFTYRYLH	394	GWINAGNGNTKYS	557	CATDLPVRKGFTYYDILTGSYGMDVW	970	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-B04	Fzd8	YTFTNNFMH	383	GGIIPIFGTANHA	498	CARGLRYFDWFQGIYYYYGMDVW	848	QASHDINIALN	1039	AASSLQS	1175	CQQSYSSPLTF	1365
005S-C04	Fzd8	YTFTSYYMH	392	GRINPNSGGTNYA	537	CARGGLLFDYW	831	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-D04	Fzd8	FTFSTYSMS	246	STIGTGGGTYYA	645	CARYGWLRFLDYW	938	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-G04	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GWMSPSSGNAGYA	585	CARNNFLRAFDIW	897	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-A05	Fzd8	FAFSSYAMS	167	SRIDTDGSTTVYA	622	CARAPSYSSGWYVRW	747	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-C05	Fzd8	YTFTYYAMH	395	GIINPSGGSTSYA	513	CARELLPMTTVTSPFIW	812	RASQGISNNLN	1072	RASSLQS	1247	CQQANSYPLTF	1320
005S-E05	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GGIIPIFGTANYA	499	CAIRAFDIW	694	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372

【表１Ａ－４３】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
005S-C06	Fzd8	ZTFSZYDMH	402	SSISSSSHYKYYA	635	CARVRSKAVAGTLPKRLFDIW	947	RASQSVSSSYLS	1119	AASRRAT	1172	CQQYSNWPFTF	1424
005S-E06	Fzd8	YTFTSYYMH	392	GWMNPNSGNTGYA	583	CARGNPTSGHIVVVPAATFSDYW	850	QASQDISNRLN	1045	SASRLQI	1253	CQQSYRTPRTF	1354
005S-G06	Fzd8	GTFSZZTIS	302	GWMNPDSGKTGYA	579	CARWAFPIPNAFDIW	950	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-H06	Fzd8	YTFTNNFMH	383	GGIFPIYGISTYA	494	CARDRPSSSWYAFDYW	791	RASQGISNNLN	1072	DASTLQT	1193	CQQSFSAPITF	1342
005S-A08	Fzd9	GTFSZYAIS	301	GGIIPIFGTANYA	499	CARGGLLRFGDGWGMGMDVW	832	RASQSISSKSLA	1097	GASTRAT	1217	CQQYGIAPTF	1407
005S-C08	Fzd9	YTFTDYHMH	375	GWINAGNGNTTYA	558	CARASSWYLHYYYGMDVW	755	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-E08	Fzd9	FIFSZYAMS	171	SSISAAGAYKYYA	631	CARRGYSSGWRDAFDIW	911	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-F08	Fzd9	YTFTSYYMH	392	GWINAGNGNTTYA	558	CAKDVNYW	710	QASQGISNYLN	1050	AASSLQS	1175	CQQTYSTPTTF	1395

【表１Ａ－４４】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
005S-H08	Fzd9	GTFSSYAIS	295	GRIIPILGTPNYA	531	CARDRLAFDYW	789	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-A09	Fzd9	FAFSSHWMH	166	SAISVSGGTTFYA	602	CARWGKRLRGSPYYFDYW	952	RASQSIGSNLD	1085	RASTLQS	1249	CQQSYSTPSF	1375
005S-F09	Fzd9	FTFSIYGMH	209	SGISWNSGNIGYA	614	CARGPLPTKIGGHYMDVW	852	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-B10	Fzd9	FTFSTXWMS	241	AVMYSGGTTYYA	478	CARLSYYYDSSGPKGDAFDIW	891	RASQGISNNLN	1072	AASSLQS	1175	CQQGNNFPLTF	1327
005S-C10	Fzd9	FSLSSYGMH	185	SSISSSSSYIYYA	636	CARSGMVKWLRSFDYW	917	RASQDIGSFLA	1061	AASSLQS	1175	CQKYNRAPFTF	1310
005S-E10	Fzd9	FTFTSSAMQ	249	GVINPGSGGTSYN	552	CARGYGDYVWGENYFDYW	873	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-F10	Fzd9	YTLSNYGIS	397	GWISAYNGDTKYA	568	CARFDYFGGMDVW	816	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-G10	Fzd9	YTFTRYAVH	385	GGIIPFFNTVNYA	495	CAADRSPYYYDSGYYPDAFDIW	679	RASQGISNNLN	1072	QASSLDS	1244	CQQSYNVPYTF	1352
005S-A	Fzd9	FTFSSY	229	SGISWN	615	CAKGSL	720	RASQSI	1092	DASTLK	1192	CQQSYN	1350

【表１Ａ－４５】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
11		DMN		SGYIGYA		LLGYYGMDVW		SNNLN		R		TPRTF	
005S-B12	Fzd10	FTZSSYDMH	263	SSISGLGGSTYZA	633	CAREAGTTGGWFDPW	805	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
005S-D12	Fzd10	FTFSDHYMD	204	STIGPAGDTYYP	644	CARASTSGDYSLW	756	RASQSVSTSYLA	1123	GASTRAT	1217	CQQVGASPWTF	1406
006S-B01	Fzd10	YTFTNYCTR	384	GLVCPSDGSTSYA	519	CARRTSASD1W	915	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
006S-C01	Fzd10	FTFTZSAVQ	253	GGFDPEDGETIYA	492	CTTDPLELPWYW	1020	RASQGISSALA	1076	SASNLQS	1252	CQQAISFPLTF	1315
006S-E01	Fzd10	YTFTGYYMH	379	GIINPSSGRTDYA	514	CARDLTYYYDSSGHSPLGAFD1W	781	RASQSVTSSLA	1124	GASTRAT	1217	CQQYNDWPPTF	1416
006S-G01	Fzd10	FTFSDFGMN	203	AGISGGGGSTDYA	443	CARDSDFWYYYGMDVW	797	KSSQSVLYSSNNKNYLA	1037	STNTRSS	1257	CQHRNFF	1306
006S-B02	Fzd10	VSFSGYAMH	366	AYINSGSSEMNYA	482	CAREEWELFGMDVW	807	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
006S-G02	Fzd10	YTVTSYAMH	399	GGIIPIFGTAKYA	497	CAKGGQWLYGMDVW	713	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372

【表１Ａ－４６】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
014S-A01	Fzd1	YTFTSYYMH	392	GWVSPSSGNTAYA	588	CARDEGAGYYYYMDYW	766	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-C01	Fzd2	FTFSNYAMT	216	SAIGTGGGTYYA	595	CATAYRRPGGLDVW	969	RSSQSLLHSDGKTYLY	1134	LGSNRAS	1237	CMQNTHWPLTR	1293
014S-F01	Fzd4	FTFSSYAMH	227	SVISTSGDTVLYT	652	CARGGSSDVR	838	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-H01	Fzd4	FTFSNYGMH	217	SYISSSSSTIYYA	672	CARAALGYCTGGVCPPVDYW	737	RASQGISNNLN	1072	AASRLQS	1171	CQQSYSPPLTF	1363
014S-C03	Fzd7	YTFTNNFMH	383	GIIZPGGGRTIYA	517	CAKGDYGALDYW	712	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-D03	Fzd7	FNFSSYTMR	173	SVIYGGGNTNYA	653	CARGGSGGNLSYW	836	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-F03	Fzd8	YTFTNNFMH	383	GGIIPLFGTANYA	506	CARLVVRGGYGMDVW	893	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-A04	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GWISSFNGNTKYA	575	CARADDYYDSSGYYYGFDYW	738	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-C	Fzd8	FTFSSY	235	SRINGD	623	CARGWA	871	RASQSI	1098	AASSLQ	1175	CQQSYS	1372

【表１Ａ－４７】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
04		TMN		GSNTNYA		GFDYW		SSYLN		S		TPLTF	
014S-D04	Fzd8	HTFSGYHIH	312	GWINAGNGNTTYA	558	CARDLSPMVRGVISGMDVW	779	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-E05	Fzd8	YTFTNNFMH	383	GIISPGGGRTIYA	515	CAKGDYGALDYW	712	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPLTF	1372
014S-E06	Fzd10	FTFGNYDMN	195	SSLSWNSGTIVYA	641	CARDSSSGWYASYYGMDVW	798	RASQSISRYLN	1095	AASSLQS	1175	CLQHHSYPFTF	1275
027S-C02	Fzd5	YTLTTWYMX	398	GWMNPNSGNTAYA	582	CARGALGMDVW	819	QASQDISNYLN	1046	AASSLHT	1173	CQESYSSPYTF	1302
027S-E03	Fzd8	YTFTGHYMH	378	GWMNPNSGNTGYA	583	CARGTGGFDYW	867	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYSTPYTF	1379
027S-F03	Fzd8	YTFTGHYIH	377	GWMNPISGNTGYA	580	CARSTPFDPW	925	RASHDIGTFLA	1057	AASTLQS	1179	CQQSYRTPYTF	1355
027S-G03	Fzd8	YTFTHSYIH	380	GWINAKSGGTFYA	559	CARGDYDFWSGYHEYYYGMDVW	824	QATQNIKKYLN	1051	KASTLES	1229	CQQSYSTPLTF	1372
027S-H	Fzd8	YTFTSY	392	GWINPN	564	CARAPL	746	RSSQSL	1138	LGSNRA	1237	CMQALQ	1282

【表１Ａ－４８】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
03		YMH		SGGTNYA		DGSGSYYVDW		LHSNGYNYLD		S		TPQTF	
027S-A04	Fzd8	YTFTNHFMH	382	GWISPNRGGTNYA	571	CARDCSGGSCYSHFDYW	765	RASQSISRSLA	1093	AASNLQS	1169	CQQAYSFPQTF	1323
027S-B04	Fzd8	FTVGSWYMS	259	SAIGTGGGTYYA	595	CAKDITPYGDYSILSHW	702	RASQAISNYLN	1059	AASSLQS	1175	CQQTFSPPLTF	1383
027S-C04	Fzd8	YTFTSHWMH	386	GGIIPIFGTTNYA	503	CARDSSSWYSYYYYYMDVW	799	RASQGINNYLA	1067	QASNLES	1243	CQQTYSSPLTF	1393
027S-D04	Fzd8	YTFTTYFMH	393	GWIYPNSGGTKYA	578	CTTDLRYDSSGPAAFDIW	1019	QASQDIDNYLN	1040	AASSLQS	1175	CQQSYSTPVTF	1377
027S-E04	Fzd8	FTFSDHYMS	205	SGISGSGGTTYYA	609	CATYGDFGYFDLW	978	RASQGIRNDLG	1069	AASTLQS	1179	CQQAYSFPWTF	1324
027S-C05	Fzd8	GSFSTSVFG	279	GRIIPLFGTTNYA	532	CVKDRAWGFDYW	1027	RASQGIRNDLA	1068	AASSLQR	1174	CQQSYSKPTF	1359
027S-D05	Fzd8	YTFTSYYMH	392	GWINPKSGGTNYA	560	CARGGFVFDYW	828	QASQDISNYLN	1046	ASSTLQT	1182	CQQSYSAPYTF	1356
027S-E05	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GMINPSGGSTTYA	523	CARQAGLHCSSTSCYLGN	905	RASQGITKSLA	1077	AASNLQL	1168	CQQYNTFPITF	1422

【表１Ａ－４９】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
						WFDPW							
027S-F05	Fzd8	GTFNRYGIS	290	GGIIPRLGATDYA	508	CAKGNWAFDIW	719	RASQSISTYLA	1100	GASTRAT	1217	CQQYGSSPTF	1411
027S-G05	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GWISPYNGNTKYA	572	CARGVWTTPMGGGGNWFDPW	869	RASQSISSYLN	1098	YASSLQN	1261	CQQSYSTPFTF	1368
027S-H05	Fzd8	GTFGNYGIN	286	GWINPNSGGTNYA	564	CARETTDYYYGMDVW	814	RASQSIGTYLN	1088	DASNLET	1185	CQQANSFPLTF	1317
027S-A06	Fzd8	GTFSSYAIN	294	GVIDPSTGGTNYA	550	CARVLPGDSSGWYRGYYYYYGMDVW	941	RASQGISNNLN	1072	KASSLES	1226	CQQANSFPITF	1316
027S-C06	Fzd8	GTFTSYPIS	306	GWINTYNGNTIYA	566	CARDLDSGFDLW	776	RASQGVGDYLA	1078	DASNLQS	1186	CQQHNAYPLTF	1330
027S-D06	Fzd8	GTFSSYAIS	295	GWISAYNGHTNYA	569	CARGGYSYGTVFDYW	842	RASQDISSWLA	1064	KASTLES	1229	CQQSYGAPLTF	1348
027S-E06	Fzd8	YTFTKDYMH	381	GGIIPIFGTANYA	499	CARGLPPAAGGGGYFQHW	847	RASQNVNDWLA	1082	SASNLQS	1252	CQQSYSTPFTF	1368
027S-F06	Fzd8	FTFSSYAMH	227	AVTWYDGSNKYY	480	CAKDLVPYCSGG	705	RASQSISSYLN	1098	GASNLQS	1207	CQQSYSTPLTF	1372

【表１Ａ－５０】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				A		SCPPSGW							
027S-G06	Fzd5	YTFTDYYMH	376	GWMSPNSGNAGFA	584	CARGKSGSFDYW	846	RASQSVNNTYVA	1111	GTSTRAT	1222	CQQYDTSPPTF	1404
027S-H06	Fzd5	YTFTGHYIH	377	GIINPSGGSTSYA	513	CARGFCSGGSCLWYGMDVW	825	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSYTTPFTF	1382
027S-A07	Fzd5	GTFGSYAIT	287	GGIIPIFGTANYA	499	CAKDNGWYFDLW	706	RASQSISTNVN	1099	AASSLQS	1175	CQQSYSTPYTF	1379
029S-B01	Fzd1	GTFSSYAIS	295	GRINPHNGNTNYA	1461	CARATRVSAAGTVHFQHW	1472	KSSQSVLHSSNNKNYLA	1498	STNTRSS	1257	CQQYYSTPFTF	1544
029S-D01	Fzd2	YTFTRYYIH	1452	GWMNPNSGNTGYA	583	CARVRFLEEMDVW	1494	RASQSLSSWLA	1512	DASTLQS	1520	CQQAISFPLTF	1315
029S-C02	Fzd2	GTFSSYGIS	1457	GIINPSGGSTSYA	513	CARGDIVATMGMKKVDYYYYMDVW	1478	RASQDISNNLN	1500	GASHLQT	1522	CQQANSFPVTF	1318
029S-F02	Fzd2	YTFTRYYLH	1453	GWMNPNSGNTGYA	583	CARGIGYW	1481	RASQGISNYLA	1074	AASRLQT	1515	CLQYNTYPWTF	1528
029S-H02	Fzd2	GTFSTYAIS	298	GDIIPIFGSANYA	1458	CARELGLGWFDP	1476	RSSQSLLHSNGY	1138	LGSSRAS	1525	CMQALQTPLTF	1281

【表１Ａ－５１】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
				A		W		NYLD					
030S-A02	Fzd7	YTFTDYYMH	1449	GWMNPNSGSTGYA	1467	CARGDINYGNFDYW	1477	RASQSISSYLN	1098	KASTLHN	1523	CQQAISFPLTF	1315
030S-B02	Fzd3	YTFTDYYMH	1449	GWMNPNSGNTGYA	583	CARQGGSYSMGLDPW	1488	RASQSITTYLN	1511	KTSSLQS	1524	CQQGDSFPYTF	1531
029S-E03	Fzd3	YTFTGYYMH	379	GWINPNSGNTGYA	1463	CARSYYGVIDAFDIW	1492	RASQSISSYLN	1098	AASSLQT	1516	CQQSFRLPLTF	1532
029S-G03	Fzd3	YTFTNYYMH	1451	GWMNPNSGNTGYA	583	CAREDDFWSGGGMDVW	1474	RASQSIISYLN	1509	AASSLQS	1175	CQQSWRFPYTF	1535
030S-E03	Fzd3	FTFSDYYMS	1438	SAISGSGHSTYYA	1468	CAREGLRGWSIFDIW	1475	KSSQSVLYSSNNKNYLA	1037	WASTRES	1526	CQQYYSTPPTF	1545
029S-D05	Fzd3	YTFTDHYFH	1447	GWANPSSGNTGTA	1462	CARSRLRWDWYFDLW	1491	RASQTISSYLN	1513	DASNLET	1185	CQQSYSIPLTF	1536
030S-H03	Fzd3	FSFSSHAMS	1437	SAIGTGGGTYYA	595	CANPKHYW	1470	RASQGVSTYLA	1505	AASSLQS	1175	CQQYYSSPQTF	1543
029S-B06	Fzd3	YTFSRHYIH	1446	GWMNPNSGNTGYA	583	CARGGHTGYSSGWYNHW	1479	RASQSVSSWLA	1120	AASSLQS	1175	CQQAFRFPPTF	1529
029S-E06	Fzd3	YWFTASYMH	1455	GWMKPDSGNTGYA	1465	CARRSSSWGWYFDLW	1489	RASQNINSWLA	1506	AASSLQS	1175	CQQYYSFPLTF	1542

【表１Ａ－５２】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
029S-H06	Fzd3	YTFAKYYIH	1444	GWMNPNSGNTGYA	583	CARHKRHTPYAFD1W	1487	RASQSISSYLN	1098	AASSLQS	1175	CQQSHSTPLTF	1533
029S-G07	Fzd3	YTFTDSYIH	1448	GWISAYNGNTNYA	570	CARGSGYFDLW	1486	RASQSISKWLA	1510	GASTLQS	1215	CQQAYSFPWTF	1324
029S-H08	Fzd3	YTFTGHYMH	378	GWMNPNSGNTGYA	583	CARVGDYDRFNWYFDLW	1493	RASRTVYNFLA	1514	DASNLRT	1519	CQQSYSTPPTF	1537
029S-F09	Fzd3	GTFSSYAIT	1456	GWISAYNGNTNYA	570	CARANRGLRKNYYYGMDVW	1471	RASQSIARYLN	1507	GASSLQS	1211	CQQSYNTPWTF	1351
030S-F04	Fzd3	YTFTSSYIH	1454	GIINPSGGAVYA	1459	CARWTTVVTGAAFD1W	1495	RASQGIRNDLN	1502	DASNLGT	1518	CQQSSRIPPTF	1534
029S-A10	Fzd3	YSFTGYYLH	1442	GWINPNSGGTNYA	564	CARDHGTMIAVAGTFDYYYYMDVW	1473	RASQGISKYLA	1503	AASSLQS	1175	CQQSYSTPWTF	1538
029S-B11	Fzd3	YTFNGYYMH	1445	GIVNPSGGGTNYA	1460	CARGGNYGRWLQPWYFDLW	1480	QASQDISNYLN	1046	GASALRS	1521	CQQTKSFPLTF	1540
029S-D11	Fzd3	HTFTSHYMH	1440	GWMNPNSANAGYA	1466	CARGLGYFDLW	1483	RASQDISRGLG	1501	AASTLYR	1517	CQQAYSFPWTF	1324

【表１Ａ－５３】

クローンID	初期結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
030S-H05	Fzd7	YSFTNYYMH	1443	GWMNPNSGNTGYA	583	CARSPDFWSGEGYFDLW	1490	RASQSIGNYLN	1508	AASSLQS	1175	CQQANSFPLTF	1530
030S-A06	Fzd7	YMFTGHDMH	1441	GRIIPILGIANYA	529	CARGTHGDYGLDYYYMDVW	1482	RASQAIGRRLA	1499	AASSLQS	1175	CQQYDTYWTF	1541
029S-C12	Fzd7	YTFTGYYMH	379	GWMNPNSGNTGYA	583	CARGMEYW	1484	RASQGISSYLA	1076	AASTLQS	1179	CLQYNTYPWTF	1528
030S-C06	Fzd7	YTFTGYYIH	1450	GWMDPNSGYTGYA	1464	CARGPADFWSGYKNDYFDFW	1485	RASQGISSWLA	1504	DASSLQS	1190	CQQSYSTPYSF	1539
4A12	Fzd5	GYTFTNYDIN	1439	WIYPRDGSTKYNEKFKG	1469	CVRSAWGFAY	1496	KASQDVGTAVA	1497	WASTRHT	1527	QQYSTYPLT	1546

【表１Ｂ－１】

表１Ｂ：抗Ｆｚｄ抗体クローンＩＤ、重鎖（ＨＣ）及び軽鎖（ＬＣ）配列番号、ならびに結合の特徴

クローンID	HC配列番号	LC配列番号	確認された結合
001S-B01	1	38	Fzd1、2、7、9
001S-E02	2	39	Fzd1、2、7
001S-G02	3	40	Fzd1、2、7
001S-H02	4	41	Fzd1、2、7
001S-A03	5	42	Fzd1、2、7、9
001S-B03	6	43	Fzd1、2、7
004S-G06	7	44	Fzd5,8
002S-B01	8		Fzd1
002S-C02	9		Fzd1
002S-E02	10		Fzd1
002S-G02	11		Fzd1
002S-F03	12		Fzd1
002S-A04	13		Fzd1
002S-B04	14		Fzd1
002S-D04	15		Fzd1
004S-H04	16	45	Fzd5
001S-A04	17	46	Fzd1、2、5、7、8
003S-E07	18	47	Fzd2
003S-D10	19	48	Fzd4
004S-B08	20	49	Fzd6
004S-D08	21	50	Fzd6
004S-C09	22	51	Fzd6
004S-F10	23	52	Fzd6
004S-A11	24	53	Fzd6
004S-A12	25	54	Fzd6
005S-B07	26	55	Fzd9
005S-D08	27	56	Fzd9
005S-E09	28	57	Fzd9
005S-H10	29	58	Fzd9
005S-B11	30	59	Fzd9
005S-D11	31	60	Fzd9
014S-G02	32	61	Fzd6
014S-B04	33	62	Fzd8
014S-B06	34	63	Fzd9
014S-G06	35	64	Fzd10
014S-A07	36	65	Fzd10
017S-B09	37		Fzd8
004S-D01	129	130	Fzd4
004S-E09	131	132	Fzd6
004S-F09			Fzd6
004S-H09			Fzd6
004S-B10			Fzd6

【表１Ｂ－２】

クローンID	HC配列番号	LC配列番号	確認された結合
004S-C10			Fzd6
004S-F10			Fzd6
004S-G10			Fzd6
004S-A11			Fzd6
004S-B11			n.b.
004S-D11			Fzd6
004S-E11			n.b.
004S-F11			Fzd6
004S-G11			Fzd6
004S-A12			Fzd6
004S-B12			Fzd6
004S-C12			n.b.
004S-D12			n.b.
004S-F12			n.b.
004S-F12			n.b.
004S-G12			n.b.
005S-B02			n.b.
005S-C02			n.b.
005S-D02			Fzd5,8
005S-E02			Fzd5,8
005S-H02			Fzd5,8
005S-A03			Fzd5,8
005S-C03			有意性なし
005S-E03			有意性なし
005S-F03			Fzd8
005S-B04			Fzd5,8
005S-F04			n.b.
005S-G04			Fzd5,8
005S-H04			n.b.
005S-E05			n.b.
005S-G05			Fzd5,8
005S-H05			Fzd5,8
005S-D06			Fzd8
005S-F06			n.b.
005S-G06			n.b.
005S-A07			Fzd9,10
005S-B07			Fzd9
005S-A08			Fzd9
005S-B08			Fzd9
005S-D08			Fzd9
005S-E08			Fzd9
005S-F08			n.b.
005S-C09			Fzd9
005S-D09			Fzd9
005S-E09			Fzd9

【表１Ｂ－３】

クローンID	HC配列番号	LC配列番号	確認された結合
005S-F09			Fzd9
005S-A10			Fzd9
005S-B10			Fzd9
005S-E10			Fzd9
005S-H10			Fzd9
005S-B11			Fzd9
005S-D11			Fzd9
005S-G11			n.b.
005S-H11			n.b.
005S-E12			Fzd10
006S-A01			Fzd10
006S-H01			n.b.
006S-A02			Fzd10
006S-D02			n.b.
006S-H02			Fzd10
006S-A03			n.b.
006S-B03			n.b.
006S-C03			n.b.
014S-A01			Fzd1、2、7
014S-B02			n.b.
014S-G02			Fzd6
014S-B03			n.b.
014S-C03			Fzd1、2、7
014S-A04			n.b.
014S-B04			Fzd8
014S-B05			Fzd5,8
014S-B06			Fzd9
014S-F06			有意性なし
014S-G06			Fzd10
014S-A07			Fzd10
017S-E08			Fzd8
017S-H08			n.b.
017S-A09			n.b.
017S-B09			Fzd8
018S-F06			Fzd4
018S-H06			n.b.
018S-B07			n.b.
017S-A10			n.b.
017S-B10			n.b.
017S-D10			n.b.
018S-H08			n.b.
018S-B09			Fzd5,8
021S-A01			n.b.
021S-E02			Fzd5,8
021S-G02			有意性なし

【表１Ｂ－４】

クローンID	HC配列番号	LC配列番号	確認された結合
021S-A03			n.b.
029S-B01			n.b.
029S-D01			Fzd1、2、7
029S-C02			Fzd1、2、7
029S-H02			Fzd1
030S-A02			Fzd7
029S-E06			Fzd2、6、3
030S-F04			Fzd3
030S-H05			Fzd7
030S-A06			Fzd1、2、7、5
029S-C12			Fzd7
030S-C06			Fzd1
001S-A01			Fzd1、2、7
001S-H01			Fzd1、2、7

【００７４】

ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、例えば、少なくとも約１×１０$^{-4}$Ｍ、少なくとも約１×１０$^{-5}$Ｍ、少なくとも約１×１０$^{-6}$Ｍ、少なくとも約１×１０$^{-7}$Ｍ、少なくとも約１×１０$^{-8}$Ｍ、少なくとも約１×１０$^{-9}$Ｍ、または少なくとも約１×１０$^{-10}$ＭのＫ$_{D}$の親和性でＦｚｄに結合する任意の結合ドメインから選択することができる。ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、高い親和性で、例えば、約１×１０$^{-7}$Ｍ未満、約１×１０$^{-8}$Ｍ未満、約１×１０$^{-9}$Ｍ未満、または約１×１０$^{-10}$Ｍ未満のＫ$_{D}$で１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する任意の結合ドメインから選択することができる。ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、Ｗｎｔサロゲート分子の文脈において、高い親和性で、例えば、約１×１０$^{-4}$Ｍ以下、約１×１０$^{-5}$Ｍ以下、約１×１０$^{-6}$Ｍ以下、約１×１０$^{-7}$Ｍ以下、約１×１０$^{-8}$Ｍ以下、約１×１０$^{-9}$Ｍ以下、または少なくとも約１×１０$^{-10}$ＭのＫ$_{D}$でＦｚｄに結合する任意の結合ドメインから選択することができる。

【００７５】

好適なＦｚｄ結合ドメインとしては、限定されるものではないが、新規に設計されたＦｚｄ結合タンパク質、抗体由来の結合タンパク質（例えば、ｓｃＦｖ、ＦｚｂなどＦ）、及び１つ以上のＦｚｄタンパク質と特異的に結合する抗体の他の部分；ＶＨＨまたは単一ドメイン抗体由来の結合ドメイン；ノッチンベースの操作されたスキャフォールド；ノリン及びノリン由来の操作された結合フラグメント、天然のＦｚｄ結合ドメイン、などが挙げられる。Ｆｚｄ結合ドメインは、所望される１つまたは複数のＦｚｄタンパク質への結合を強化して、例えば、組織選択性をもたらすように、親和性選択的であり得る。

【００７６】

いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、１つ、２つ、３つ、４つ、５つまたはそれ以上の異なるフリズルドタンパク質、例えば、ヒトフリズルドタンパク質Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ３、Ｆｚｄ４、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ６、Ｆｚｄ７、Ｆｚｄ８、Ｆｚｄ９、Ｆｚｄ１０のうちの１つ以上に結合する。いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、及びＦｚｄ７に結合する。いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８に結合する。他の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、１つ以上の目的フリズルドタンパク質に対し選択的であり、例えば、１つ以上の所望のフリズルドタンパク質に対し、他のフリズルドタンパク質との対比で少なくとも１０倍、２５倍、５０倍、１００倍、２００倍、またはそれ以上の特異性を有する。

【００７７】
ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、汎特異的フリズルド抗体ＯＭＰ－１８Ｒ５（バンチクツマブ（ｖａｎｔｉｃｔｕｍａｂ））の６つのＣＤＲ領域を含む。ある特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、汎特異的フリズルド抗体ＯＭＰ－１８Ｒ５（バンチクツマブ（ｖａｎｔｉｃｔｕｍａｂ））の６つのＣＤＲ領域を含むｓｃＦｖである。例えば、米国特許第８５０７４４２号を参照（参照により具体的に本明細書に援用される）。例えば、ＯＭＰ－１８Ｒ５のＣＤＲ配列は、ＧＦＴＦＳＨＹＴＬＳ（配列番号２７０）を含む重鎖ＣＤＲ１、ＶＩＳＧＤＧＳＹＴＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号６７７）を含む重鎖ＣＤＲ２、及びＮＦＩＫＹＶＦＡＮ（配列番号１０３３）を含む重鎖ＣＤＲ３と、（ｉｉ）ＳＧＤＫＬＧＫＫＹＡＳ（配列番号１１５２）またはＳＧＤＮＩＧＳＦＹＶＨ（配列番号１１５３）を含む軽鎖ＣＤＲ１、ＥＫＤＮＲＰＳＧ（配列番号１２００）またはＤＫＳＮＲＰＳＧ（配列番号１２０１）を含む軽鎖ＣＤＲ２、及びＳＳＦＡＧＮＳＬＥ（配列番号１４３５）またはＱＳＹＡＮＴＬＳＬ（配列番号１４３６）を含む軽鎖ＣＤＲ３と、を含む。特定の実施形態において、Ｆｚｄ結合ドメインは、限定されるものではないが、ｓｃＦｖ、ミニボディ、ＶＨＨまたは単一ドメイン抗体（ｓｄＡｂ）、及びこれらのＣＤＲ配列のいずれかを含む様々な抗体ミメティックを含めた抗体またはその誘導体である。ある特定の実施形態において、これらのＣＤＲ配列は、１つ以上のアミノ酸修飾を含む。

【００７８】
他の実施形態では、Ｆｚｄ結合ドメインは、複数のフリズルド特異的抗体のいずれかからの可変領域配列、またはそのＣＤＲを含み、このような抗体は当技術分野において公知であり、商業的に入手可能であり、または新規に生成することができる。任意のフリズルドポリペプチドは、免疫原として使用することができ、または抗体を開発するためのスクリーニングアッセイで使用することができる。フリズルド結合ドメインの非限定的な例としては、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄから入手可能な抗体、例えば、ヒトフリズルド４（ＣＤ３４４）に対し特異的なクローンＣＨ３Ａ４Ａ７；ヒトＦｚｄ９（ＣＤ３４９）に対し特異的なクローンＷ３Ｃ４Ｅ１１；Ａｂｃａｍから入手可能な抗体、例えば、Ｆｚｄ７に対し特異的なａｂ６４６３６；ヒトＦｚｄ４に対し特異的なａｂ８３０４２；ヒトＦｚｄ７に対し特異的なａｂ７７３７９；ヒトＦｚｄ８に対し特異的なａｂ７５２３５；ヒトＦｚｄ９に対し特異的なａｂ１０２９５６；などが挙げられる。その他の好適な抗体の例は、中でも米国特許出願第２０１４０１０５９１７号、米国特許出願第２０１３０２３０５２１号、米国特許出願第２００８０２６７９５５号、米国特許出願第２００８００３８２７２号、米国特許出願第２００３００４４４０９号などで説明されており、各々が参照により具体的に本明細書に援用される。

【００７９】
Ｗｎｔサロゲート分子のＦｚｄ結合領域は、Ｗｎｔタンパク質のフリズルド結合領域に対する構造的相同性によって選択される、操作されたタンパク質であり得る。このようなタンパク質は、相同性についての構造データベースをスクリーニングすることによって特定することができる。このようにして、最初のタンパク質（例えば、微生物のＢｈ１４７８タンパク質）が特定される。次いで、ネイティブなタンパク質は親和性を増加させるアミノ酸置換をもたらすように操作され、さらに、所望のフリズルドタンパク質への結合における親和性及び選択性を増加させるために親和性成熟によって選択されてもよい。フリズルド結合部分の非限定的な例としては、Ｆｚ２７及びＦｚ２７－Ｂ１２タンパク質が挙げられる。

【００８０】
特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄ受容体と特異的に結合するポリペプチドと融合したＬＲＰ５／６結合ドメイン（例えば、抗ＬＲＰ５／６抗体）またはその抗原結合フラグメントを含む。特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６と特異的に結合するポリペプチドは、抗体またはその抗原結合フラグメントである。ある特定の実施形態において、これは、２０１７年１２月１９日に出願された代理人整理番号

ＳＲＺＮ－００５／００ＵＳ、「Ａｎｔｉ－ＬＲ５／６ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｕｓｅ」という表題の米国仮特許出願第６２／６０７，８７９号で開示されている、抗体またはその抗原結合フラグメントであり、当該出願はその全体が参照により本明細書に援用される。特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合ドメインは、表２Ａに示されている、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合する例示的な抗体またはそのフラグメントのいずれかについて開示されている、３つの重鎖ＣＤＲ及び／または３つの軽鎖ＣＤＲを含む。特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合ドメインは、表２Ａに示されている、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する例示的な抗体またはそのフラグメントのいずれかについて開示されている、３つの重鎖ＣＤＲ及び／または３つの軽鎖ＣＤＲを含み、これらのＣＤＲは、合わせて１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、または８つのアミノ酸修飾（例えば、置換、欠失、または付加）を含む。ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合ドメインは、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂであるか、またはＶＨＨもしくはｓｄＡｂから誘導されたものであり、そのため表２Ａは３つの重鎖ＣＤＲのみを含む。ある特定の実施形態においてＬＲＰ５／６結合ドメインは、表２Ａに示されている３つの重鎖ＣＤＲまたはバリアントを含み、これらのＣＤＲは、合わせて１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、または８つのアミノ酸修飾を含む。特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合ドメインは、表２Ｂまたは配列番号６６～８８もしくは１３３に示されているＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合する任意の例示的な抗体またはそのフラグメント（あるいはいずれかの抗原結合フラグメントまたはバリアント）の重鎖フラグメント及び／または軽鎖フラグメントを含む。ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合ドメインはＦａｂであるか、またはＦａｂから誘導されたものであり、そのため表２ＢはＶＨ及びＣＨ１配列を含むが、ＣＨ２またはＣＨ３配列を含まない。ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合ドメインは、ＶＨＨもしくはｓｄＡｂであるか、またはＶＨＨもしくはｓｄＡｂから誘導されたものであり、そのため表２ＢはＶＨＨドメインを含む。ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合領域は、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６との結合においてこれらの抗体のうちの１つと競合するポリペプチド（例えば、抗体またはその抗原結合フラグメント）である。

【表２Ａ－１】

表２Ａ：抗ＬＲＰ５／６抗体のクローンＩＤ及びＣＤＲ配列。

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
001S-C08	LRP6e1e2	YTISNYYIH	1682	GMINPSGGSTTYA	1762	CAIVRGKKWYFDLW	1842	RASQYISNYLN	2098	AASSLQS	2110	CQQSYITPLTF	2160
001S-C10	LRP6e1e2	RTFGTYPNG	1632	AAISWGGRTAYA	1700	CYARTVIGGFGAFRAHW	2061						
001S-D10	LRP6e1e2	RTFSRYAMA	1642	AAIRWSGGGTYYA	1689	CAASMEAMNSLRVNKERYYQSW	1836						
001S-E10	LRP6e1e2	LTFSNAAMA	1614	AAISRSGANTAYS	1696	CTLVNEIKTWW	2039						
001S-F10	LRP6e1e2	RTFSSYAMA	1645	AAIKWSGTNTYYA	1684	CAASMEAMNSLRVNKERYYQSW	1834						
001S-G10	LRP6e1e2	RTFSRYVMG	1644	AAITWRGGSTYYA	1706	CATGPNSIY	1987						
001S-A11	LRP6e1e2	RTFGNYDMG	1630	AGIRWSGSTLYA	1709	CYARTVIGGFGAFRAHW	2062						
001S-B11	LRP6e1e2	RRFTTYGMG	1623	AAVTWRSGSTYYA	1708	CAAGSTVVAEFNYW	1828						
001S-C11	LRP6e1e2	SISSFNTMG	1659	AVITTGGDTSYS	1741	CNKVNAITKL	2025						
001S-E11	LRP6e1e2	RTLSRYSMG	1651	AAISRSGDRIYYS	1697	CTLVNEIKTWW	2040						
001S-F11	LRP6e1e2	RTFSSYAMS	1646	AVIGRSGGIKYYA	1736	CATRRPFNSYNTEQSYDSW	1989						
001S-G11	LRP6e1e2	SIFRLGTMY	1655	ASIGKSGSTNYA	1719	CKQHPNGYR	2005						

【表２Ａ－２】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
001S-H11	LRP6e1e2	RTLSSFAMG	1652	ATISRSGGNTYYA	1732	CNLREWNNSGAGYW	2026						
001S-A12	LRP6e1e2	IAFRYYDMG	1608	AAITWNGRSSDYA	1704	CAAVFTGRFYGRPPREKYDYW	1838						
001S-B12	LRP6e1e2	RLLSYYALA	1622	AAISRNGDKSHYS	1694	CTLVNEIKTWW	2038						
001S-C12	LRP6e1e2	RTFSNYAVG	1641	AAISRFGGSTYYV	1693	CAADRIENYLGRYYDPSEYEYW	1824						
001S-D12	LRP6e1e2	RTFSRYAMG	1643	GAISRSGNNTYYA	1744	CTLVNEIKTWW	2041						
001S-F12	LRP6e1e2	RTFRSYTMG	1637	AAISGSGGSTTYA	1690	CNADIKTTTYSPLRNYW	2009						
008S-B01	LRP5	TIFSINTMG	1664	ATMTSGGNTNYA	1734	CYRRQWASSWGARNYEYW	2064						
008S-C01	LRP5	NINSIETLG	1617	ANMRGGGYMKYA	1716	CHGRDYGSNAPQYW	2001						
008S-D01	LRP5	NINSIETLG	1617	ANMRGGGYMKYA	1716	CYVKLRDDDYYYR	2065						
008S-E01	LRP5	NINSIETLG	1617	ANMRGGGYMKYA	1716	CNAVTYNGYTIR	2023						
008S-G01	LRP5	NINSIETLG	1617	ANMRGGGYMKYA	1716	CYARTQRMGVVNSYW	2060						
008S-A02	LRP5	NINSIETLG	1617	ANMRGGGYMKYA	1716	CNAVTFGGNTIR	2021						
008S-C02	LRP5	NINSIETLG	1617	ANMRGGGYMKYA	1716	CNAVTYDGY	2022						

【表２Ａ－３】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
008S-D02	LRP5	NINSIETLG	1617	ANMRGGGYMKYA	1716	CAAQFRNDYGLRYQSTNNYW	1832						
008S-E02	LRP5	NINSIETLG	1617	ANMRGGGYMKYA	1716	CNANYRGNRYW	2019						
009S-C01	LRP6e3e4	GSFSGYYWT	1595	GEINHSGATNYN	1745	CVRYAWPEFDHW	2053	RASQRVSNYLN	2089	AASSLQG	2110	CQQSYSVPYTF	2178
009S-B02	LRP6e3e4	GSLSGYYWS	1596	GEINHSGSTNYN	1746	CVRYAWPEFDHW	2055	RASQSISNYLN	2090	AASSLQS	2110	CQQSYSLPLTF	2170
009S-C02	LRP6e3e4	GSFSDYYWS	1594	GEINHSGSTNYN	1746	CVRYAWPEFDHW	2054	RASQSISNYLN	2090	AASSLQS	2110	CQQSYSMPLTF	2171
009S-D02	LRP6e3e4	GTFSSYAIS	1603	GGIIPIFGTANYA	1749	CVYGRDFDYW	2056	SGSSSNVGNNYVS	2105	DNDKRPS	2122	CESWDSSLSSEVF	2139
010S-A02	LRP6e1e2	HTFSSYAMG	1607	AAISQSGYVRYYA	1691	CKIYGLNGQPLGSW	2003						
010S-B02	LRP6e1e2	RTFNSGTMG	1634	AAITWRGGITYYA	1705	CNADGYSWDGRSGRRLELW	2008						
010S-D02	LRP6e1e2	RTFSSYAVG	1647	AAISYSGGSTKYA	1702	CAASVYISRRDSDYGYW	1837						
010S-E02	LRP6e1e2	LSSGRPFSSYVMG	1612	AAISWSGGSTKYA	1701	CKLQVRPIGYSSAYSRNYW	2004						
010S-F02	LRP6e1e2	RSFNSYVIG	1625	AAIRWSGDNTYYA	1688	CAASMEAMNSLRVNKERYYQSW	1835						
009S-E02	LRP6e1e2	RRFTTYGMG	1623	AAVTWRSGSTYYA	1708	CAAGSTVVAEFNYW	1829						
009S-F02	LRP6e1e2	RTFSYYAMG	1649	AAISRSGGIYYA	1698	CNTVRPLWAW	2029						

【表２Ａ－４】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
009S-G02	LRP6e1e2	SIFSIYAMG	1658	AVITSGGKTVYA	1740	CYADSRSSWYDEYLEHW	2058						
009S-H02	LRP6e1e2	SIVRSLPMA	1660	ATINDAQRYYA	1727	CNTSPYMHDVW	2027						
009S-A03	LRP6e1e2	RTFSVYGVG	1648	AAVSASGGYTWYA	1707	CKAAPRWGGATAYW	2002						
010S-G02	LRP6e1e2	SIVRSLPMA	1660	ATINDAQRYYA	1727	CNTSPYMHDVW	2028						
010S-A03	LRP6e1e2	RTFRRYAMG	1636	ATISASGGNTAYA	1731	CNAPAWLYDDDYW	2020						
009S-B03	LRP6e1e2	RTFSNYAVG	1641	AAISRFGGSTYYV	1693	CAADRIENYLGRYYDPSEYEYW	1825						
010S-B03	LRP6e1e2	RTFSNYAVG	1641	AAISRFGGSTYYA	1692	CHAKQLRNGQMYTYW	1999						
010S-D03	LRP6e1e2	ISSVYGMG	1609	AAIQWSADNTFYA	1686	CAARTSGGLFHYRRSDHWDTW	1833						
009S-C03	LRP6e1e2	LPFSRYAMA	1610	AGMSGEGRNTKYR	1713	CSSRGYW	2034						
009S-D03	LRP6e1e2	SIFSDGAMG	1656	AVISGGRTGYA	1737	CNTYPFPIYKKGYPFW	2030						
009S-E03	LRP6e1e2	RRFTTYGMG	1623	AAVTWRSGSTYYA	1708	CAAGSTVVAEFNYW	1830						
009S-F03	LRP6e1e2	RTFSSYAMS	1646	AVIGRSGGIKYYA	1736	CATRRPFNSYNTEQSYDSW	1990						
010S-E03	LRP6e1e2	RSVSIYPMG	1628	AAINWSGDSTKYA	1685	CNAVVVGLSRRIDNIW	2024						

【表２Ａ－５】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
010S-F03	LRP6e1e2	RTFSRYVMG	1644	AAITWRGGSTYYA	1706	CATGPNSIY	1988						
009S-G03	LRP6e1e2	RSVSSYNMG	1629	AAISRRGGIIEYG	1695	CHAVENILGRFVDYW	2000						
009S-H03	LRP6e1e2	SIFSINTMG	1657	AVITSGGKTVYA	1740	CYADSRSSWYDEYLEHW	2057						
009S-A04	LRP6e1e2	RTLSAYDMG	1650	GGIRWSGGTTLYP	1753	CYARTVIGGFGAFRAHW	2063						
009S-B04	LRP6e3e4	SIFMINTMA	1654	ATIRPVVSETTYA	1728	CNAKRPWGTRDEYW	2018						
010S-G03	LRP6e3e4	RSFNSYTTT	1624	AAIRGSSGSTFYA	1687	CNAASTVTAWPYYGPDYW	2006						
009S-C04	LRP6e3e4	FRFSISTMG	1553	AYITGGGRTMDG	1743	CNAFVRSDFDRYYDYW	2011						
009S-D04	LRP6e3e4	TIVSIYRIN	1665	AGITSSGRTIYA	1712	CNAASTVTAWPYYGPDYW	2007						
010S-H03	LRP6e3e4	RIFSIYDMG	1621	SGIRWSGGTSYA	1789	CSSRGYW	2035						
009S-E04	LRP6e3e4	RIFAIYDIA	1618	AMIRPVVTEIDYA	1715	CNAKRPWGSRDEYW	2012						
010S-A04	LRP6e3e4	SLFSFNAVG	1662	ASISSGGRTNYA	1722	CSKGGVYGGTYVPDSW	2032						
009S-F04	LRP6e3e4	RSLSSFAMG	1627	ARISRGDGYTDEA	1718	CAAVQAVIGGTLTTAYDYW	1839						
010S-B04	LRP6e3e4	RVLSYYAMA	1653	AGITRGGATTYYS	1711	CAACGPNWSTRNREYDYW	1827						

【表２Ａ－６】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
009S-G04	LRP6e3e4	GTFSRYHMG	1601	SAITWSGGRTYYA	1788	CALTWAPTPTNRRSDYAYW	1872						
009S-H04	LRP6e3e4	RIFAIYDMA	1619	ATIRPVVSETTYA	1728	CNAKRPWGTRDEYW	2017						
010S-C04	LRP6e3e4	SLFSFNAMG	1661	ASISSGSRTNYA	1723	CSKGGVYGGTYVPDSW	2033						
010S-D04	LRP6e3e4	RIFAIYDIA	1618	ATIRPVVTQIDYA	1730	CNAKRPWGSRDEYW	2015						
010S-E04	LRP6e3e4	RTFGSDVMG	1631	ALTGWGDGSTTYYE	1714	CAAARRSGTYDIGQYLRESAYYFW	1820						
010S-F04	LRP6e3e4	RTFSRYAMG	1643	AAITRSGSNTYYA	1703	CAADPRGVTLPRATAYEYW	1823						
009S-A05	LRP6e3e4	RTFSDYSMG	1639	AGISWIADNRYYA	1710	CTACRSRYLYGSSLNGPYDYW	2036						
010S-G04	LRP6e3e4	VIFALYDIA	1666	ATIRPVVTETDYA	1729	CNAKRPWGSRDEYW	2014						
010S-H04	LRP6e3e4	RSFSDFFMG	1626	ATISWSGSSANYE	1733	CAAAYSYSQYGSSYSYW	1821						
010S-A05	LRP6e3e4	LSFSSYAMG	1611	AAISRSGVSTYYA	1699	CAAKFGVLATTESRHDYW	1831						
010S-C05	LRP6e3e4	RTFNIDDMG	1633	ASIRWSGQSPYYA	1720	CNAETYSGNTIW	2010						
010S-D05	LRP6e3e4	RTFSDYSMA	1638	AGISWIADNRYYA	1710	CAGDRSRYLYGDSLRGPYGYW	1841						
010S-E05	LRP6e3e4	SVFTTFAKG	1663	ASITASSDRTFYA	1725	CAAYSTFNTDVASMKPDYW	1840						

【表２Ａ－７】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
010S-F05	LRP6e3e4	RIFSIYDIA	1620	ATIRPVVTETDYA	1729	CNAKRPWGSRDEYW	2013						
013S-G04	LRP6e3e4	RIFAIYDIA	1618	ATIRPVVSETTYA	1728	CNAKRPWGTRDEYW	2016						
013S-H04	LRP6e3e4	RTFSMYDMG	1640	ASIRWSSGNTWYA	1721	CYANIYYTRRAPEEYW	2059						
013S-A05	LRP6e3e4	RTFNTYAMG	1635	ASVSWRYDRTYYT	1726	CAADTNWRAGPRVGIDEYAYW	1826						
013S-B05	LRP6e3e4	FAFSTTAMS	1549	STINPGGLSKSYA	1806	CTKGGIQ	2037						
013S-C05	LRP6e3e4	NIFPIDDMS	1616	ATVTSGGRINYA	1735	CNVDRTLYGKYKEYW	2031						
013S-D05	LRP6e3e4	RIFSIYDMG	1621	SGIRWSGGTSYA	1789	CGSRGYW	1998						
013S-E05	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTADYA	1748	CARDWELYGMDVW	1907	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
013S-F05	LRP6e3e4	GTFSSYAIS	1603	GIINPSGGSTSYA	1761	CARAGYYDSSGYYAFDIW	1882	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
013S-G05	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGVIPIFGTADYA	1755	CASDIVVDDAFDTW	1969	RASQDISNYLN	2079	AASTLQS	2113	CQQGNSFPYTF	2152
010S-G06	LRP6e3e4	FSFETYGMS	1555	SGISGSGGRTHYA	1792	CARDLDYW	1897	QASQDISNYLN	2077	AASSLQS	2110	CQQSYRIHWTF	2163
009S-B05	LRP6e3e4	FTFDAYAMH	1560	STLSGDANAYYA	1811	CARGGSGWSNYYGMDVW	1931	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-C05	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GRIIPVLKITNYA	1768	CAVVDDAFDIW	1996						

【表２Ａ－８】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
009S-D05	LRP6e3e4	FTLRNHWLS	1591	SAISGSGGSTYYA	1786	CATRTGYSYGFNFWAFDIW	1991	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-E05	LRP6e3e4	YTFTNNFMH	1676	GHVDPGDGETIYA	1756	CARDWGIAAAGDYYYYGMDVW	1908	RASQGINSYLA	2081	DAKGLHP	2114	CQQSYSAPLSF	2166
009S-F05	LRP6e3e4	FTFDDYGMS	1561	SAIGTGGGTYYA	1781	CARLGSYGSPYYYYGMDVW	1959	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-G05	LRP6e3e4	FTFSDYYMS	1568	SGVSWNGSRTHYA	1799	CAKDSGLV	1852	QASQDISNYLN	2077	AASTLQR	2112	CQQSYSAPLTF	2167
009S-C06	LRP6e3e4	YTFASYDIH	1671	GWMNPNSGNTGYA	1776	CARATGSGWYTDLGYW	1883	RASRNINRYLN	2099	AASSLLS	2109	CQQSYNVPFTF	2162
009S-D06	LRP6e3e4	FTFSSHSTH	1573	STISDTNSGTYYA	1807	CAKAQATGWSGYYTFDYW	1843	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-E06	LRP6e3e4	FTFTDYGLH	1587	AVISYGGSNKYYA	1739	CASGYSYGLYYYGMDVW	1973	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-F06	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CATEAALDAFDIW	1985	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-G06	LRP6e3e4	YIFTDYYMH	1669	GWINPNSGGTNYA	1774	CARDFLGSTGDYW	1892	RASQNIGLYLN	2088	DASSLQR	2121	CQQSYSTPYTF	2176
009S-H06	LRP6e3e4	FTFSSSAMH	1574	SAIGTGGSTYYA	1783	CAKGGDYFYYYGMDVW	1856	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-A07	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CATAYGSSSLNIDYW	1980	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-B07	LRP6e3e4	YTFTGYYMH	1675	GWINPNSGGTNYA	1774	CVKDGGSFPLAYAFDIW	2049	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-D07	LRP6e3e4	FPFRYYGMS	1551	ARIGWNGGSIYYA	1717	CARDYSDRSGIDYW	1910	RSSQSLLHSNGYNY	2102	LGSNRAS	2131	CMQATQFPLTF	2146

【表２Ａ－９】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
								LD					
009S-F07	LRP6e3e4	GTFSSYAIS	1603	GIINPSGGSTSYA	1761	CARAAGNFWSGYYTFDYW	1876	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-G07	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CARGSYGMDVW	1947	RASQGISNYLA	2083	DASNLET	2115	CLQDFSFPWTF	2140
009S-H07	LRP6e3e4	YTFTGYYMH	1675	GWMNPNSGNTGYA	1776	CASSVVPAGPAGVYAFDIW	1975	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-A08	LRP6e3e4	GTFSSHAIN	1602	GWISANNGNTDYA	1775	CARDQDYGDYGWYYYGMDVW	1902	RASQGISNYLA	2083	GSSTLQS	2127	CQQTYSIPPTF	2181
011S-C01	LRP6e3e4	LTFTSHGMS	1615	SYVSDSGSSVYYA	1818	CARHPGSFGGYSYAWYYYYGMDVW	1956	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-C08	LRP6e3e4	FSFNTFGIH	1556	AVISYDGSNKYYA	1738	CAKSIAAAGTGYYGMDVW	1868	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-D08	LRP6e3e4	YTFTSYDIN	1679	GGIIPIFGTANYA	1749	CARGPYYFDYW	1939	RASQGISNNLN	2082	DASSLES	2120	CLQHNSYPFTF	2143
011S-F01	LRP6e3e4	FSFSDYYMS	1558	SGISESGGRTYYA	1790	CASAADFDYW	1966	RASQDISNYLN	2079	AASSLQS	2110	CLQDYSYPRTF	2141
009S-E08	LRP6e3e4	YGFTGYYIH	1668	GWMNPNSGNTGYA	1776	CARGYGDYDLW	1951	QASQDISNYLN	2077	DASSLES	2120	CQQSYRYPTF	2165
009S-F08	LRP6e3e4	DTFANYGFS	1547	GXVNAGNGNTTYA	1777	CAKGWLDFDYW	1866	QASQDISNYLN	2077	DASSLES	2120	CQQSYSTSITF	2177
009S-G08	LRP6e3e4	FTFSDFAMT	1566	SYISGDSGYTNYA	1813	CARLGSYPGPYYYYMDVW	1961	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-H08	LRP6e3e4	YTFTDYFMN	1673	GIINPSGDSTRFA	1758	CARDDGLGGMDVW	1888	QASQDISNYLA	2076	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-A	LRP6e3	YTFTYRY	1681	GRIIPILG	1767	CTTDLWDYW	2047	QASQGIT	2078	AASSLQ	2110	CLQDYTDP	2142

【表２Ａ－１０】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
09	e4	LH		STNYA				NYLN		S		FTF	
011S-F02	LRP6e3e4	FTFSTYGMH	1584	SSISVSSGTTHYA	1804	CARGGSGSYYYAFDIW	1929	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-G02	LRP6e3e4	YTFTSYAMN	1678	GGIIPIFGTANYA	1749	CARDASGGGSTGWYYFDSW	1886	RASQGISSYLA	2087	AASSLQS	2110	CQQAYSFPWTF	2150
011S-A03	LRP6e3e4	FTFSSYWMH	1580	STISGSGGRTYYA	1808	CATSPYGVFTLDYW	1993	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-C03	LRP6e3e4	YTFSVRYLH	1672	GGIIPIFGTANYA	1749	CASTVTTDAFDIW	1977	QASQDISNYLN	2077	DASSLES	2120	CQQSYSFPPFTF	2168
011S-D03	LRP6e3e4	FSFDDYGMS	1554	SVISSGGTIYYA	1812	CARHLSSGYLSYYGMDVW	1954	RASQSISSYLA	2093	AASTLQS	2113	CQQSYSTPLTF	2174
011S-F03	LRP6e3e4	FTFSSYAMS	1577	SAISGSGGSTYYA	1786	CAKGGRDGYKGYFDYW	1859	KSSQSVLYTTTNRNHIA	2073	WASSRKS	2135	CQQYYSTPYTF	2189
011S-C04	LRP6e1e2	GTFNSNAIS	1598	GWMNPNSGNTGYA	1776	CARDYYGSGSYNYGMDVW	1912	GASQSVPRNSLA	2066	GASQRAT	2124	CQQYHNWPPEYTF	2184
011S-D04	LRP6e1e2	YTFTSYDIN	1679	GIINPSGGSTSYA	1761	CAREAYYYYYGMDVW	1915	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-H04	LRP6e1e2	YTFTDYYMH	1669	GRIIPILGRANYA	1765	CARGGYSTLDYW	1932	QASQDISNYLN	2077	AASTLQS	2113	CQQSFSTPRTF	2156
008S-F02	LRP5	YTFTNYCMH	1677	GIINPSDGSTSHA	1757	CAKDMVHLIVALAIDYW	1851	RSSQSLLHSDGYTYLY	2101	TLSYRAS	2134	CMQALEALFTF	2144
010S-C06	LRP6e1e2	FTFNSYSMD	1563	SSISPRGGSTYYA	1802	CAPYYYDKSAKPLRSYFDHW	1875	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-E	LRP6e3	LTVSSNY	1615	SGISWNSG	1796	CARGSDCSGGSC	1944	RASQSIS	2094	AASSLQ	2110	CQQSYSTP	2174

【表２Ａ－１１】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
06	e4	MS		SIGYA		YYSFDYW		SYLN		S		LTF	
010S-F06	LRP6e3 e4	FTFSSSW MH	1575	SAIGTGGG TYYA	1781	CAREVAVKDYYY YYMDVW	1921	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
010S-H06	LRP6e3 e4	YTFTSYD IN	1679	GRIIPILG RTNYA	1766	CAREERGATGRA FDIW	1918	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
010S-A07	LRP6e3 e4	FTFSSYA MH	1576	ASISSTSG SKYYA	1724	CAKTYYDFWSGY YTFDYW	1870	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
010S-B07	LRP6e3 e4	FTFSDYY MS	1568	SMISYNGG RAFYA	1800	CARGNPYYFDYW	1937	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
010S-C07	LRP6e3 e4	FTFSKTD MH	1569	STITTDSR GTYYA	1810	CAKGGDYYYYYY GMDVW	1858	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
010S-D07	LRP6e3 e4	YTFTYRY LH	1681	GGIIPIFG TANYA	1749	CANGLEDAYAFD IW	1873	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
009S-D05	LRP6e3 e4	FTLRNHW LS	1591	SAISGSGG STYYA	1786	CATRTGYSYGFN FWAFDIW	1992	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
009S-E05	LRP6e3 e4	YTFTNNF MH	1676	GHVDPGDG ETIYA	1756	CARDWGIAAAGD YYYYGMDVW	1909	RASQGIN SYLA	2081	DAKGLH P	2114	CQQSYSAP LSF	2166
010S-E07	LRP6e3 e4	YTFTYRY LH	1681	GGIIPIFG TANYA	1749	CAKDDFSLYGMD VW	1845	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
009S-F05	LRP6e3 e4	FTFDDYG MS	1561	SAIGTGGG TYYA	1781	CARLGSYGSPYY YYGMDVW	1960	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
010S-F07	LRP6e3 e4	YTFTYRY LH	1681	GGIIPIFG TANYA	1749	CARLDYGETEGN GDW	1958	RASQSVY SNLA	2097	DTSNRA T	2123	CQQYNNWP PITF	2185
010S-G07	LRP6e3 e4	FTFSSYA MH	1576	STISGSGG STYYA	1809	CARAGYGRYYYG MDVW	1880	RVSQGIS SYLN	2103	AASSLQ S	2110	CQQTYTIP FTF	2182
009S-G	LRP6e3	FTFSDYY	1568	SGVSWNGS	1799	CAKDSGLV	1853	QASQDIS	2077	AASTLQ	2112	CQQSYSAP	2167

【表２Ａ－１２】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
05	e4	MS		RTHYA				NYLN		R		LTF	
010S-H07	LRP6e3 e4	YTFTYRY LH	1681	GGIIPIFG TANYA	1749	CARDDSMGAFDI W	1890	QASQDIS NYLN	2077	GTSNLQ S	2128	CQQSYSTP YTF	2176
010S-A08	LRP6e3 e4	HTFLTYD IN	1606	GRITPRLG IANYA	1770	CASYFGVMDVW	1979	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
009S-A07	LRP6e3 e4	YTFTYRY LH	1681	GGIIPIFG TANYA	1749	CATAYGSSSLNI DYW	1981	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
009S-B07	LRP6e3 e4	YTFTGYY MH	1675	GWINPNSG GTNYA	1774	CVKDGGSFPLAY AFDIW	2050	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
009S-B06	LRP6e3 e4	YTFTYRY LH	1681	GGIIPIFG TANYA	1749	CAPALTDAGSFD YW	1874	RVSQSIS SYLN	2103	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
010S-B08	LRP6e3 e4	YTFTYRY LH	1681	GGIIPVFG TADYA	1751	CARDREQQILDY W	1904	RASQGIS NNLN	2082	DASNLE T	2115	CQQSYTSR LTF	2179
010S-C08	LRP6e3 e4	FTFSTFG MH	1582	STITSSGG STYYA	1809	CARAGIAAAPGS RNYYGMDVW	1878	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
009S-C06	LRP6e3 e4	YTFASYD IH	1671	GWMNPNSG NTGYA	1776	CARATGSGWYTD LGYW	1884	RASRNIN RYLN	2099	AASSLL S	2109	CQQSYNWP FTF	2162
009S-D06	LRP6e3 e4	FTFSSHS TH	1573	STISDTNS GTYYA	1807	CAKAQATGWSGY YTFDYW	1844	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
010S-D08	LRP6e3 e4	FTFSSSW MH	1575	SAIGTGGG TYYA	1781	CAKEDYDSSGYY YYYFQHW	1855	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
009S-E06	LRP6e3 e4	FTFTDYG LH	1587	AVISYGGS NKYYA	1739	CASGYSYGLYYY GMDVW	1974	RASQSIS SYLN	2094	AASSLQ S	2110	CQQSYSTP LTF	2174
010S-E08	LRP6e3 e4	YSFTRTD MH	1670	GYISAYTG HTSYA	1778	CARDLGGTADYW	1898	RASQSIS SYLN	2094	ZASSLQ S	2137	CQQSYSTP LTF	2174
010S-F	LRP6e3	LTFDDHA	1613	SYISSSGR	1815	CVRGDSGWGILY	2052	RASQSIS	2094	AASSLQ	2110	CQQSYSTP	2174

【表２Ａ－１３】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
08	e4	MH		TIFYA		YVMDVW		SYLN		S		LTF	
009S-F06	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CATEAALDAFDIW	1986	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-G08	LRP6e3e4	YIFTDYYMH	1669	GGFDPEDGETIYA	1747	CARGGGPNEHDYYFDYW	1927	RASQSVRSSDLA	2096	GSSSRAT	2126	CQQYGRSPRYSF	2183
010S-H08	LRP6e3e4	FTFZNAWMS	1590	SGISGSGGSTYYA	1793	CARGRGKKNYYYGMDVW	1942	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-A09	LRP6e3e4	FTFSTYYMS	1586	SGISWNGGKTHYV	1794	CARGGDFDYW	1925	QASQDIANYLN	2075	AASSLQS	2110	CQQSYSTPYTF	2176
010S-B09	LRP6e3e4	GTFSSYAIS	1603	GWINPNSGDTNYA	1773	CARGEQWLVWGFDPW	1924	RASQSISRYLN	2092	KASSLES	2130	CQQSYDSPWTF	2159
009S-G06	LRP6e3e4	YIFTDYYMH	1669	GWINPNSGGTNYA	1774	CARDFLGSTGDYW	1893	RASQNIGLYLN	2088	DASSLQR	2121	CQQSYSTPYTF	2176
010S-C09	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CARDEVEGGMDVW	1891	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-H06	LRP6e3e4	FTFSSSAMH	1574	SAIGTGGSTYYA	1783	CAKGGDYFYYYYGMDVW	1857	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-D09	LRP6e3e4	GTFSSYTIS	1603	GGIVPAYRRANYA	1754	CAKGGYELDYW	1865	QASQDINYLN	2077	AASSLQS	2110	CQQIHSYPLTF	2155
010S-E09	LRP6e3e4	GDLSIYTIN	1593	GWINAGNGNTTYA	1772	CARGGDSSGYYYYAFDIW	1926	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-A07	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CATAYGSSSLNIDYW	1982	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-B07	LRP6e3e4	YTFTGYYMH	1675	GWINPNSGGTNYA	1774	CVKDGGSFPLAYAFDIW	2051	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-D	LRP6e3	YTFTSYD	1679	GGIIPIFG	1749	CARGPYYFDYW	1940	RASQGIS	2082	DASSLE	2120	CLQHNSYP	2143

【表２Ａ－１４】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
08	e4	IN		TANYA				NNLN		S		FTF	
010S-F09	LRP6e3 e4	FTFDEYAMH	1562	STISGSGGSTYYA	1809	CASAKNDFWSGYFAFDYW	1968	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-G09	LRP6e3 e4	GTFNTHTIT	1599	GWMNPNSGNTGYA	1776	CARGNLDFDYW	1936	QASQDISNYLN	2077	DASNLET	2115	CQQSYSTPLTF	2174
010S-H09	LRP6e3 e4	FTFSDHYMS	1567	SAISSGSDRTYYA	1787	CARYSGYDFDYW	1965	RASQGISNYLN	2084	AASTLQS	2113	CQQGYGTPPMF	2153
010S-A10	LRP6e3 e4	FSFSSYSMN	1559	SYISSSSSTIYYA	1816	CARGSGYYGPGYYGMDVW	1946	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-D07	LRP6e3 e4	FPFRYYGMS	1551	ARIGWNGGSIVYA	1717	CARDYSDRSGIDYW	1911	RSSQSLLHSNGYNYLD	2102	LGSNRAS	2131	CMQATQFPLTF	2146
010S-B10	LRP6e3 e4	FAFKDYYMT	1548	SAIGAGGTYYA	1779	CARESALYSSSWYYYYYGMDVW	1920	RASQSISSYLN	2094	GTSSLHT	2129	CQQANSFPFTF	2148
010S-C10	LRP6e3 e4	FTFSSYAMS	1577	SAISGSGGSTYYA	1786	CAKGGRDGYKGYFDYW	1860	KSSQSILSSSSNRDSLA	2072	WASSRKS	2135	CQQYYNIPYSF	2187
009S-E07	LRP6e3 e4	YTFTGYYIH	1674	ZHVDPEDGETIYA	1819	CARGPAAIGILGWFDPW	1938	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-D10	LRP6e3 e4	YIFTDYYMH	1669	GWMNPNSGNTGYA	1776	CARTLSGYSSSSWYVFDYW	1964	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-E10	LRP6e3 e4	FTFSSYSMN	1579	SGISWNSGTTGYS	1797	CARDHSSGWRHYFDYW	1895	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-F10	LRP6e3 e4	FTFSNSDMN	1570	SYISGNSGYTNYA	1814	CASGSYYSDFDYW	1971	RASQSISNYLN	2090	AASTLES	2111	CQQANSFPPTF	2148
010S-G	LRP6e3	GTFSSYA	1603	GRINPNGG	1769	CAREGGYYFDYW	1919	RASQGIS	2083	AASSLQ	2110	CQQSYSTP	2175

【表２Ａ－１５】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
10	e4	IS		GTIYA				NYLA		S		WTF	
009S-F07	LRP6e3e4	GTFSSYAIS	1603	GIINPSGGSTSYA	1761	CARAAGNFWSGYYTFDYW	1877	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-G07	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CARGSYGMDVW	1948	RASQGISNYLA	2083	DASNLET	2115	CLQDFSFPWTF	2140
010S-H10	LRP6e3e4	YTFTSYYMH	1680	GWINPNSGGTNYA	1774	CAREAAEIPVGAFD1W	1914	KSSHSLLYSSDNKNYLA	2071	WSSTRES	2136	CQQYYSTPQTF	2188
010S-A11	LRP6e3e4	FTFSNSDMN	1570	SYISGNSGYTNYA	1814	CASGSYYSDFDYW	1972	RASQSIZNYLN	2095	ZASTLES	2138	CQQANSFPPTF	2148
010S-B11	LRP6e3e4	FTFRNYAIH	1564	SAIGTGGDTYYA	1780	CARDGGIRDFDYW	1894	QASQDISNYLN	2077	AASTLQS	2113	CQQSYSTPLTF	2174
010S-C11	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CAADDLGLELHYW	1822	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-H07	LRP6e3e4	YTFTGYYMH	1675	GWMNPNSGNTGYA	1776	CASSVVPAGPAGVYAFDIW	1976	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-A08	LRP6e3e4	GTFSSHAIN	1602	GWISANNGNTDYA	1775	CARDQDYGDYGWYYYGMDVW	1903	RASQGISNYLA	2083	GSSTLQS	2127	CQQTYSIPPTF	2181
010S-D11	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPVFGTANYA	1752	CATDEYSSSYAFDIW	1983	RASQSVSSNLA	2097	GASTRAT	2125	CQQFDRSPLTF	2151
010S-E11	LRP6e3e4	FTFSAHGMH	1565	SGISESGGSTYYA	1791	CARGRGYSYGYYAFDIW	1943	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-F11	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CARDSDWGVVDPW	1905	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-G11	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GRIIPVLKITNYA	1768	CAVVDDAFDIW	1997	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174

【表２Ａ－１６】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
010S-H11	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CAKDGTDGRFDPW	1846	RASQDISSYLA	2080	SASTLQS	2133	CQQSNSFPYTF	2157
009S-B08	LRP6e3e4	FTFTSSAVQ	1589	GWINAGNGNTTYA	1772	CARRGGDVTVPAAYYAMDVW	1963	RASQSISSYLN	2094	ZASSLQS	2137	CQQSYSTPLTF	2174
010S-A12	LRP6e3e4	VTFSRYPIS	1667	GGIIPIFGTANYA	1749	CAKDSGNYGYYGMDVW	1854	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-B12	LRP6e3e4	FTFSSYDMH	1578	SGITSNGGATYYA	1798	CARGTTGKGYYYYGMDVW	1949	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-C12	LRP6e3e4	FTFSNYWIH	1571	SAIGTGGGTYYA	1781	CTTAGYKAARRSVYPRIFNFDYW	2044	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-D12	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GRIIPIFGTANYA	1763	CAREEGVGGMDVW	1917	RPSQSIGSWLA	2100	DASNLQS	2116	CQQSSSTPYTF	2158
010S-E12	LRP6e3e4	FTFSSYAMH	1576	SAIGAGGGTYYA	1779	CARGVSSGYYYYYGMDVW	1950	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
010S-F12	LRP6e3e4	FTVSSNYMS	1592	SAIGTGGGTYYA	1781	CARAGTNWGGWYFDLW	1879	RASQGISRDLA	2085	AASTLQS	2113	CQQSYSPPFTF	2172
010S-G12	LRP6e3e4	FALSGYYMS	1550	SSISSSSTYIRYA	1803	CATVTGYSSAGAFDIW	1995	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-A01	LRP6e3e4	FTFSTHAFH	1583	SAIRGSGERTYYA	1784	CARDLRNWGSPYWYFDLW	1901	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-B01	LRP6e3e4	GTFSHYTIS	1600	GWINAGNGNTKYS	1771	CAKGGSLDMDVW	1864	RASQGISNYLA	2083	AASSLHS	2108	CQQSYRTPLTF	2164
011S-C01	LRP6e3e4	LTFTSHGMS	1615	SYVSDSGSSVYYA	1818	CARHPGSFGGYSYAWYYYYGMDVW	1957	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-D01	LRP6e3e4	GTISDYTVS	1605	GIINPSGGSTSYA	1761	CARGYYDFDYW	1953	RASQGISNYLA	2083	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174

【表２Ａ－１７】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
009S-C08	LRP6e3e4	FSFNTFGIH	1556	AVISYDGSNKYYA	1738	CAKSIAAAGTGYYGMDVW	1869	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-E01	LRP6e3e4	FPFZYYSMN	1552	SAISGRDGRTYYA	1785	CAKDLGIQLPDYYFDYW	1847	RASQGISSALA	2086	AASTLQS	2113	CQQSYSSPPTF	2173
009S-D08	LRP6e3e4	YTFTSYDIN	1679	GGIIPIFGTANYA	1749	CARGPYYFDYW	1941	RASQGISNNLN	2082	DASSLES	2120	CLQHNSYPFTF	2143
011S-F01	LRP6e3e4	FSFSDYYMS	1558	SGISESGGRTYYA	1790	CASAADFDYW	1967	RASQDISNYLN	2079	AASSLQS	2110	CLQDYSYPRTF	2141
009S-E08	LRP6e3e4	YGFTGYYIH	1668	GWMNPNSGNTGYA	1776	CARGYGDYDLW	1952	QASQDISNYLN	2077	DASSLES	2120	CQQSYRYPTF	2165
009S-F08	LRP6e3e4	DTFANYGFS	1547	GXVNAGNGNTTYA	1777	CAKGWLDFDYW	1867	QASQDISNYLN	2077	DASSLES	2120	CQQSYSTSITF	2177
011S-G01	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPLFGTANYA	1750	CTTDDYGDQYGMDVW	2046	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-H01	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CTTDDYGDLTHLDYW	2045	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-A02	LRP6e3e4	GTFSSYAIS	1603	GWMNPNSGNTGYA	1776	CARDKGYAFDIW	1896	RSSQSLLHSNGYNYLD	2102	AASSLQS	2110	CMQALQTPITF	2145
011S-B02	LRP6e3e4	YSFTRTDMH	1670	GYISAYTGHTSYA	1778	CARDLGGTADYW	1899	RZSQSZSZYLN	2104	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-C02	LRP6e3e4	FTFSTYSMN	1585	SGISWNSGRIGYA	1795	CARDVGAFDIW	1906	QASQDISNYLN	2077	AASILQS	2107	CQQSYSIPFTF	2169
009S-G08	LRP6e3e4	FTFSDFAMT	1566	SYISGDSGYTNYA	1813	CARLGSYPGPYYYYMDVW	1962	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-D	LRP6e3	FTFSSYA	1577	SSISGSGG	1801	CARGGNTYYYYYY	1928	RASQSIS	2094	AASSLQ	2110	CQQSYSTP	2174

【表２Ａ－１８】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
02	e4	MS		VTYYA		GMDVW		SYLN		S		LTF	
009S-H08	LRP6e3 e4	YTFTDYFMN	1673	GIINPSGDSTRFA	1758	CARDDGLGGMDVW	1889	QASQDISNYLA	2076	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-E02	LRP6e3 e4	YTFTYRYLH	1681	GGIIPIFGTANYA	1749	CATDYGDYYYGMDVW	1984	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-A09	LRP6e3 e4	YTFTYRYLH	1681	GRIIPILGSTNYA	1767	CTTDLWDYW	2048	QASQGITNYLN	2078	AASSLQS	2110	CLQDYTDPFTF	2142
011S-F02	LRP6e3 e4	FTFSTYGMH	1584	SSISVSSGTTHYA	1805	CARGGSGSYYYAFD1W	1930	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-G02	LRP6e3 e4	YTFTSYAMN	1678	GGIIPIFGTANYA	1749	CARDASGGSTGWYYFDSW	1887	RASQGISSYLA	2087	AASSLQS	2110	CQQAYSFPWTF	2150
011S-H02	LRP6e3 e4	YTFTNMFMH	1676	GIINPSGGSTSYA	1761	CARGLYKRYSYGYGMDVW	1935	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
009S-B09	LRP6e3 e4	FSFNTYAMN	1557	AVTSYDGGKKNYA	1742	CARDAGGDYDYW	1885	QASQDISNYLN	2077	AASSLQS	2110	CQQSYNTPRTF	2161
009S-C09	LRP6e3 e4	GTFHTYGLS	1597	GGIIPIFGTANYA	1749	CARGSGWSGLDYW	1945	QASQDISNYLN	2077	DASNLET	2115	CQQSYTTPFTF	2180
011S-A03	LRP6e3 e4	FTFSSYWMH	1580	STISGSGGRTYYA	1808	CATSPYGVFTLDYW	1994	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-B03	LRP6e3 e4	GTFSZYAIS	1604	GIINPSGGSTNYA	1760	CARAGYWSGYGYYGMDVW	1881	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-C03	LRP6e3 e4	YTFSYRYLH	1672	GGIIPIFGTANYA	1749	CASTVTTDAFDIW	1978	QASQDISNYLN	2077	DASSLES	2120	CQQSYSFPPFTF	2168
011S-D03	LRP6e3 e4	FSFDDYGMS	1554	SVISSGGTIYYA	1812	CARHLSSGYLSYYGMDVW	1955	RASQSISSYLA	2093	AASTLQS	2113	CQQSYSTPLTF	2174
009S-F	LRP6e3	YSFTRTD	1670	GYISAYTG	1778	CARDLGGTADYW	1900	RASQSIS	2094	AASSLQ	2110	CQQSYSTP	2174

【表２Ａ－１９】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
09	e4	MH		HTSYA				SYLN		S		LTF	
011S-E03	LRP6e3e4	FTFSSYAMS	1577	SAISGSGGSTYYA	1786	CAKGGRDGYKGYFDYW	1861	KSSHSLLSTSTNRNQLA	2070	WASSRKS	2135	CQQYNNWPYTF	2186
009S-G09	LRP6e3e4	FTFSRHSMN	1572	SYSSGNSGYTNYA	1817	CARGDLEFDYW	1923	RASQGISNYLA	2083	SASSLQS	2132	CQQGYNTPRTF	2154
011S-F03	LRP6e3e4	FTFSSYAMS	1577	SAISGSGGSTYYA	1786	CAKGGRDGYKGYFDYW	1862	KSSQSVLYTTTNRNHIA	2074	WASSRKS	2135	CQQYYSTPYTF	2189
009S-H09	LRP6e3e4	FTFSSYAMS	1577	SAISGSGGSTYYA	1786	CAKGGRDGYKGYFDYW	1863	KSSHSLLSTSTNRNHLA	2069	WASSRKS	2135	CQQYYNIPYSF	2187
011S-G03	LRP6e3e4	YTFTYRYLH	1681	GRIIPIHGIANYA	1764	CAREYSYGYFRYW	1922	RASQGISSYLA	2087	DASNLET	2115	CQQANSLFTF	2149
009S-A10	LRP6e3e4	FTFTSSAMQ	1588	GIINPSGGSTIYA	1759	CASGDTYDLYSLDVW	1970	RASQSISRWLA	2091	AASSLQS	2110	CQQAYSFPWTF	2150
009S-B10	LRP6e3e4	YIFTDYYMH	1669	GWINAGNGNTTYA	1772	CAKVASGWSWPFDIW	1871	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-B04	LRP6e1e2	YTFTSYDIN	1679	GIINPSGGSTSYA	1761	CTREHSYYYYGMDVW	2042	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-C04	LRP6e1e2	GTFNSNAIS	1598	GWMNPNSGNTGYA	1776	CARDYYGSGSYNYGMDVW	1913	GASQSVPRNSLA	2066	GASQRAT	2124	CQQYHNWPPEYTF	2184
011S-D04	LRP6e1e2	YTFTSYDIN	1679	GIINPSGGSTSYA	1761	CAREAYYYYYGMDVW	1916	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-E04	LRP6e1e2	FTFSSZZMH	1581	SAIGTGGGTZYA	1782	CAKDLGRAAAGSMDVW	1850	WASQSVRGNYVA	2106	DASNRAA	2117	CQHRSNWPLTF	2147

【表２Ａ－２０】

クローンID	確認された結合	CDRH1	CDRH1配列番号	CDRH2	CDRH2配列番号	CDRH3	CDRH3配列番号	CDRL1	CDRL1配列番号	CDRL2	CDRL2配列番号	CDRL3	CDRL3配列番号
011S-F04	LRP6e1e2	YIFTDYYMH	1669	GRIIPILGRANYA	1765	CARGGYSTLDYW	1933	HGSQDISNYLN	2067	DASNRQS	2119	CQQSFSTPRTF	2156
011S-H04	LRP6e1e2	YIFTDYYMH	1669	GRIIPILGRANYA	1765	CARGGYSTLDYW	1934	QASQDISNYLN	2077	AASTLQS	2113	CQQSFSTPRTF	2156
011S-A05	LRP6e1e2	FTFSSYAMH	1576	SAIGTGGGTYYA	1781	CAKDLGRAAAGSMDVW	1848	WASQSVRGNYVA	2106	DASNRAG	2118	CQHRSNWPLTF	2147
011S-B05	LRP6e1e2	YZFTDYYMH	1683	GWMNPNSGNTGYA	1776	CTRVAWGLDYW	2043	RASQSISSYLN	2094	AASSLQS	2110	CQQSYSTPLTF	2174
011S-C05	LRP6e1e2	FTFSSYAMH	1576	SAIGTGGGTYYA	1781	CAKDLGRAAAGSMDVW	1849	WASQSVRGNYVA	2106	DASNRAA	2117	CQHRSNWPLTF	2147
1115.3	LRP6e1e2	GFSFSTS		NLNGGS		ELAGYGTPFAY		KASQSISYNLH		YTSQSIS		QQSNSWPLT	
421.1	LRP6e1e2	GYTFTTY		FPGNVNT		EELQYYFDY		SANSSVRFMF		RTSNLAS		QQVHSYPWT	
YW211.31.57	LRP6e3e4	GFTFTSY		SPYSGS		RARPPIRLHPRGSVMDY		RASQDVSTAVA		SASFLYS		QQSYTTPPT	

【表２Ｂ】

表２Ｂ．抗ＬＲＰ５／６抗体クローンＩＤ、重鎖（ＨＣ）配列番号、及び結合の特徴。

クローンID	HC配列番号	確認された結合
001S-F11	66	LRP6e1e2
009S-G02	67	LRP6e1e2
009S-A03	68	LRP6e1e2
009S-D03	69	LRP6e1e2
009S-F03	70	LRP6e1e2
009S-H03	71	LRP6e1e2
009S-A04	72	LRP6e1e2
009S-B04	73	LRP6e3e4
009S-D04	74	LRP6e3e4
009S-E04	75	LRP6e3e4
009S-F04	76	LRP6e3e4
009S-G04	77	LRP6e3e4
009S-H04	78	LRP6e3e4
009S-A05	79	LRP6e3e4
013S-G04	80	LRP6e3e4
013S-H04	81	LRP6e3e4
013S-C05	82	LRP6e3e4
013S-D05	83	LRP6e3e4
013S-G04	84	LRP6e3e4
013S-H04	85	LRP6e3e4
013S-A05	86	LRP6e3e4
013S-C05	87	LRP6e3e4
013S-D05	88	LRP6e3e4
008S-D01	133	LRP5

【００８１】

ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合ドメインは、Ｗｎｔサロゲート分子の文脈において、約１×１０$^{-4}$Ｍ以下、約１×１０$^{-5}$Ｍ以下、約１×１０$^{-6}$Ｍ以下、約１×１０$^{-7}$Ｍ以下、約１×１０$^{-8}$Ｍ以下、約１×１０$^{-9}$Ｍ以下、または約１×１０$^{-10}$Ｍ以下のK_DでＬＲＰ５またはＬＲＰ６に結合する任意の結合ドメインから選択することができる。ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合ドメインは、Ｗｎｔサロゲート分子の文脈において、約１×１０$^{-4}$Ｍ以上、約１×１０$^{-5}$Ｍ以上、約１×１０$^{-6}$Ｍ以上、約１×１０$^{-7}$Ｍ以上、約１×１０$^{-8}$Ｍ以上、約１×１０$^{-9}$Ｍ以上、または約１×１０$^{-10}$Ｍ以上のK_DでＬＲＰ５またはＬＲＰ６に結合する任意の結合ドメインから選択することができる。ある特定の実施形態において、ＬＲＰ５／６結合ドメインは、高い親和性で、例えば、約１×１０$^{-7}$Ｍ未満、約１×１０$^{-8}$Ｍ未満、約１×１０$^{-9}$Ｍ未満、または約１×１０$^{-10}$Ｍ未満のK_DでＬＲＰ５またはＬＲＰ６に結合する任意の結合ドメインから選択することができる。

【００８２】

その他の好適なＬＲＰ５／６結合ドメインとしては、限定されるものではないが、新規設計されたＬＲＰ５／６結合タンパク質、抗体由来結合タンパク質（例えば、ｓｃＦｖ、Ｆａｂなど）、及び１つ以上のＦｚｄタンパク質と特異的に結合する抗体の他の部分；ＶＨＨまたはｓｄＡｂ由来の結合ドメイン；ノッチンベースの操作されたスキャフォールド；天然ＬＲＰ５／６（限定されるものではないが、ＤＫＫ１、ＤＫＫ２、ＤＫＫ３、ＤＫＫ４、スクレロスチンを含む）；Ｗｉｓｅ；上記のいずれかを含む融合タンパク質；上記のいずれかの誘導体；上記のいずれかのバリアント；ならびに上記のいずれかの生物学的活性フラグメントなどが挙げられる。ＬＲＰ５／６結合ドメインは、結合を強化するよう

に親和性選択的であり得る。
【００８３】
Ｄｉｃｋｋｏｐｆ（ＤＫＫ）遺伝子ファミリー（Ｋｒｕｐｎｉｋ ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｇｅｎｅ ２３８（２）：３０１－１３を参照）のメンバーとしては、ＤＫＫ－１、ＤＫＫ－２、ＤＫＫ－３、及びＤＫＫ－４、ならびにＤＫＫ－３関連タンパク質Ｓｏｇｇｙ（Ｓｇｙ）が挙げられる。ｈＤＫＫ１～４は、１０個のシステイン残基の位置がファミリーメンバー間で高度に保存されている、２つの異なるシステインリッチドメインを含む。ヒトＤｋｋ遺伝子及びタンパク質の例示的な配列は公的に入手可能であり、例えば、Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＮＭ＿０１４４１９（ｓｏｇｇｙ－１）；ＮＭ＿０１４４２０（ＤＫＫ４）；ＡＦ１７７３９４（ＤＫＫ－１）；ＡＦ１７７３９５（ＤＫＫ－２）；ＮＭ＿０１５８８１（ＤＫＫ３）；及びＮＭ＿０１４４２１（ＤＫＫ２）がある。本発明のいくつかの実施形態において、Ｌｒｐ６結合部分はＤＫＫ１ペプチドであり、限定されるものではないが、ヒトＤＫＫ１のＣ末端側ドメインがこれに含まれる。Ｃ末端側ドメインは、配列：ＫＭＹＨＴＫＧＱＥＧＳＶＣＬＲＳＳＤＣＡＳＧＬＣＣＡＲＨＦＷＳＫＩＣＫＰＶＬＫＥＧＱＶＣＴＫＨＲＲＫＧＳＨＧＬＥＩＦＱＲＣＹＣＧＥＧＬＳＣＲＩＱＫＤＨＨＱＡＳＮＳＳＲＬＨＴＣＱＲＨ（配列番号２１９０）（Ｇｅｎｂａｎｋアクセッション番号ＮＰ＿０３６３７４を参照）またはその生物学的活性フラグメントを含むことができる。
【００８４】
ＤＫＫタンパク質のＬＲＰ５／６との結合については、例えば、Ｂｒｏｔｔ ａｎｄ Ｓｏｋｏｌ Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．２２（１７），６１００－６１１０（２００２）；及びＬｉ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７７（８），５９７７－５９８１（２００２）で論じられており、各文献は参照により本明細書に明確に援用される。ヒトＤＫＫ２の対応領域（Ｇｅｎｂａｎｋ参照ＮＰ＿０５５２３６）は、配列：ＫＭＳＨＩＫＧＨＥＧＤＰＣＬＲＳＳＤＣＩＥＧＦＣＣＡＲＨＦＷＴＫＩＣＫＰＶＬＨＱＧＥＶＣＴＫＱＲＫＫＧＳＨＧＬＥＩＦＱＲＣＤＣＡＫＧＬＳＣＫＶＷＫＤＡＴＹＳＳＫＡＲＬＨＶＣＱＫ（配列番号２１９１）またはその生物学的活性フラグメントを含むことができる。
【００８５】
ＬＲＰ５またはＬＲＰ６と特異的に結合する抗体は当技術分野において公知であり、市販されており、または新規に生成することができる。ＬＲＰ５、ＬＲＰ６、またはそのフラグメントは、免疫原として使用することができ、または抗体を開発するためのスクリーニングアッセイで使用することができる。公知の抗体の例としては、以下に限定されないが、Ｇｏｎｇ ｅｔ ａｌ．（２０１０）ＰＬｏＳ Ｏｎｅ．５（９）：ｅ１２６８２；Ｅｔｔｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．（２０１０）Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳ Ａ．１０７（３５）：１５４７３－８に記載の抗体；及び、例えば、Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ抗体クローン１Ａ１２（ヒト起源の合成ＬＲＰ５／６に対し生成したものであり、マウス及びヒト起源のＬＲＰ６及びＬＲＰ５の全長フラグメント及びタンパク質分解フラグメントの両方に結合する）；モノクローナル抗体２Ｂ１１；ＬＲＰ５に特異的なＣｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ抗体（Ｄ８０Ｆ２）、カタログ番号５７３１；などから商業的に入手可能なものが挙げられる。
【００８６】
ある特定の実施形態において、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子は、２つ以上の結合領域を含む１つ以上のポリペプチドを含む。例えば、２つ以上の結合領域が、２つ以上のＦｚｄ結合領域または２つ以上のＬＲＰ５／６結合領域であってもよく、または１つ以上のＦｚｄ結合領域及び１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域を含んでもよい。結合領域は、直接連結しても隣接してもよく、またはリンカー（例えば、ポリペプチドリンカーもしくは非ペプチドリンカーなど）によって分離されてもよい。リンカーの長さ、すなわち結合ドメイン間の間隔は、シグナル強度を調節するために使用することができ、またＷｎｔサロゲート分子の所望される使用に応じて選択することができる。結合ドメイン間の強制的距離は様々であり得るが、ある特定の実施形態では、約１００オングストロー

ム未満、約９０オングストローム未満、約８０オングストローム未満、約７０オングストローム未満、約６０オングストローム未満、約５０オングストローム未満とすることができる。いくつかの実施形態において、リンカーはリジッドリンカーであり、他の実施形態において、リンカーはフレキシブルリンカーである。ある特定の実施形態において、リンカーがペプチドリンカーである場合、リンカーは、長さが約１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０アミノ酸またはそれ以上であり得、結合ドメイン間の距離を強化するのに十分な長さ及びアミノ酸組成である。いくつかの実施形態において、リンカーは、１つ以上のグリシン及び／またはセリン残基を含むか、またはそれらからなる。

【００８７】

特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、配列番号８９～１２８もしくは１３４～１５７のいずれかに開示されているポリペプチド配列に対し少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％の同一性を有する、または配列番号８９～１２８もしくは１３４～１５７のいずれかに開示されているポリペプチド配列の抗原結合フラグメントに対し少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、もしくは少なくとも９９％の同一性を有する、ポリペプチド配列を含む。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、配列番号８９～１２８もしくは１３４～１５７のいずれかに記載のポリペプチド配列またはその抗原結合フラグメントを含むか、またはそれからなる。特定の実施形態において、抗原結合フラグメントは、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合し、さらにＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６にも結合する。

【００８８】

Ｗｎｔサロゲート分子は、例えば、Ｆｃドメインを介し、連鎖、コイルドコイル、ポリペプチドジッパー、ビオチン／アビジンまたはストレプトアビジン多量体化などにより、多量体化することができる。また、Ｗｎｔサロゲート分子は、当技術分野で公知のようにＰＥＧ、Ｆｃなどのような部分に連結させてｉｎ　ｖｉｖｏで安定性を強化することもできる。

【００８９】

ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄタンパク質及びＬＲＰ５／６に結合することにより、詳細には、細胞表面上、例えば、ヒト細胞の表面上のこれらのタンパク質に結合することにより、カノニカルＷｎｔシグナリングを直接活性化する。Ｗｎｔサロゲート分子によるＷｎｔシグナリングの直接活性化は、ネイティブＷｎｔタンパク質が存在する場合のみ活性を強化するＷｎｔシグナリング増強とは対照的である。

【００９０】

Ｗｎｔサロゲート分子は、例えば、フリズルドタンパク質に結合するＷｎｔタンパク質の効果または活性を模倣することにより、Ｗｎｔシグナリングを活性化することができる。本発明のＷｎｔサロゲート分子がＷｎｔの活性を模倣する能力は、複数のアッセイで確認することができる。Ｗｎｔサロゲート分子は、典型的には、受容体の天然リガンドが開始する反応または活性と同様のまたは同じ反応または活性を開始する。詳細には、本発明のＷｎｔサロゲート分子は、カノニカルＷｎｔ／β－カテニンシグナリング経路を強化する。本明細書で使用する場合、「強化する」という用語は、本発明のＷｎｔサロゲート分子の不在下でのレベルと比べての、Ｗｎｔ／β－カテニンシグナリングのレベルの測定可能な増加を指す。

【００９１】

Ｗｎｔ／β－カテニンシグナリングのレベルを測定するための様々な方法が当技術分野において公知である。このような方法としては、以下に限定されないが、Ｗｎｔ／β－カテニン標的遺伝子発現、ＴＣＦレポーター遺伝子発現、β－カテニン安定化、ＬＲＰリン酸化、アキシンの細胞質から細胞膜への転座及びＬＲＰへの結合を測定するアッセイが挙げられる。カノニカルＷｎｔ／β－カテニンシグナリング経路は、最終的には、転写因子

ＴＣＦ７、ＴＣＦ７Ｌ１、ＴＣＦ７Ｌ２（別名ＴＣＦ４）、及びＬＥＦを介して遺伝子発現の変化をもたらす。Ｗｎｔ活性化への転写応答は、複数の細胞及び組織で特性が明らかにされている。そのため、当技術分野で周知の方法による全般的な転写プロファイリングは、Ｗｎｔ／β－カテニンシグナリングの活性化または阻害の評価に使用することができる。

【００９２】

Ｗｎｔ応答性遺伝子発現の変化は、概して、ＴＣＦ及びＬＥＦ転写因子によって媒介される。ＴＣＦレポーターアッセイは、ＴＣＦ／ＬＥＦ制御遺伝子の転写の変化を評価して、Ｗｎｔ／β－カテニンシグナリングのレベルを決定する。ＴＣＦレポーターアッセイは、最初にＫｏｒｉｎｅｋ，Ｖ．ｅｔ　ａｌ．，１９９７によって説明された。ＴＯＰ／ＦＯＰの別名でも知られているこの方法は、最適なＴＣＦモチーフＣＣＴＴＴＧＡＴＣの３つのコピーまたは変異モチーフＣＣＴＴＴＧＧＣＣの３つのコピーを、ルシフェラーゼ発現を推進する最小限のｃ－Ｆｏｓプロモーターの上流に使用して（それぞれｐＴＯＰＦｌ＿ＡＳＨ及びｐＦＯＰＦｌ＿ＡＳＨ）、内在性ｐ－カテニン／ＴＣＦ４のトランス活性化活性を決定することを伴う。この２つのレポーター活性（ＴＯＰ／ＦＯＰ）の比率が高いほどβ－カテニン／ＴＣＦ４活性が高いことを示し、この２つのレポーター活性が低いほどβ－カテニン／ＴＣＦ４活性が低いことを示す。

【００９３】

Ｗｎｔシグナルに応答する様々な他のレポーター導入遺伝子がインタクトな状態で動物内に存在し、そのため、内在性Ｗｎｔシグナリングを有効に反映する。このようなレポーターは、ＬａｃＺまたはＧＦＰの発現を推進する多量体化されたＴＣＦ結合部位に基づいており、当技術分野で公知の方法により容易に検出可能である。このようなレポーター遺伝子としては、ＴＯＰ－ＧＡＬ、ＢＡＴ－ＧＡＬ、ｉｎｓ－ＴＯＰＥＧＦＰ、ｉｎｓ－ＴＯＰＧＡＬ、ＬＥＦ－ＥＧＦＰ、アキシン２－ＬａｃＺ、アキシン２－ｄ２ＥＧＦＰ、Ｌｇｒ５ｔｍ１（ｃｒｅ／ＥＲＴ２）、ＴＯＰｄＧＦＰが挙げられる。

【００９４】

脱リン酸化β－カテニンの膜への動員、β－カテニンの安定化及びリン酸化状態、ならびにβ－カテニンの核への転座（Ｋｌａｐｈｏｌｚ－Ｂｒｏｗｎ　Ｚ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．２（９）ｅ９４５，２００７）、は、いくつかの場合にはＴＣＦ転写因子及びＴＮＩＫとの複合体形成により媒介され、Ｗｎｔシグナリング経路における重要なステップである。安定化は、「破壊」複合体を阻害するディシブルドファミリータンパク質により媒介され、その結果、細胞内β－カテニンの分解が低減され、その後にβ－カテニンの核への転座が行われる。そのため、細胞内でのβ－カテニンのレベル及び位置の測定は、Ｗｎｔ／β－カテニンシグナリングのレベルを良好に反映するものである。このようなアッセイの非限定的な一例は、「ＢｉｏＩｍａｇｅ　β－Ｃａｔｅｎｉｎ　Ｒｅｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ　Ａｓｓａｙ」（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）であり、これは、高感度緑色蛍光タンパク質（ＥＧＦＰ）のＣ末端に融合したヒトβ－カテニンを安定的に発現する組換えＵ２０Ｓ細胞を提供する。イメージング及び解析は、ＥＧＦＰ－β－カテニンのレベル及び分布の可視化を可能にする蛍光顕微鏡またはＨＣＳプラットフォームを用いて実施される。

【００９５】

破壊複合体を阻害するもう１つの方法は、アキシンをＷｎｔ共受容体ＬＲＰの細胞質側末端に動員することによるアキシン除去による方法である。アキシンは、リン酸化形態のＬＲＰテールと優先的に結合することが示されている。そのため、アキシン転座の可視化（例えば、ＧＦＰ－アキシン融合タンパク質を用いて）は、Ｗｎｔ／β－カテニンシグナリングのレベルを評価するためのもう１つの方法である。

【００９６】

ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、上記のアッセイで、例えば、ＴＯＰＦｌａｓｈアッセイで測定した場合に、カノニカルＷｎｔシグナリング（例えば、β－カテニンシグナリング）を、中性物質または陰性対照により誘発されるβ－カテニン

シグナリングと比べて少なくとも３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、１００％、１１０％、１５０％、２００％、２５０％、３００％、４００％、または５００％強化するまたは増加させる。このようなアッセイでは陰性対照が含まれ得る。特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、上記のアッセイ、例えば、ＴＯＰＦｌａｓｈアッセイ、または本明細書で言及されている他のアッセイのいずれかで測定したときに、β－カテニンシグナリングを、Ｗｎｔサロゲート分子の不在下での活性と比べて２倍、５倍、１０倍、１００倍、１０００倍、１００００倍、またはそれ以上強化することができる。

【００９７】

「Ｗｎｔ遺伝子産物」または「Ｗｎｔポリペプチド」は、本明細書で使用される場合、ネイティブ配列Ｗｎｔポリペプチド、Ｗｎｔポリペプチドバリアント、Ｗｎｔポリペプチド断片、及びキメラＷｎｔポリペプチドを包含する。特定の実施形態において、Ｗｎｔポリペプチドは、ネイティブヒト全長成熟Ｗｎｔタンパク質である。

【００９８】

例えば、本出願における目的ヒトネイティブ配列Ｗｎｔタンパク質としては、以下のものが挙げられる：Ｗｎｔ－１（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００５４３０）；Ｗｎｔ－２（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００３３９１）；Ｗｎｔ－２Ｂ（Ｗｎｔ－１３）（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００４１８５（アイソフォーム１）、ＮＭ＿０２４４９４．２（アイソフォーム２））、Ｗｎｔ－３（ＲｅｆＳｅｑ．：ＮＭ＿０３０７５３）、Ｗｎｔ３ａ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿０３３１３１）、Ｗｎｔ－４（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿０３０７６１）、Ｗｎｔ－５Ａ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００３３９２）、Ｗｎｔ－５Ｂ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿０３２６４２）、Ｗｎｔ－６（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００６５２２）、Ｗｎｔ－７Ａ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００４６２５）、Ｗｎｔ－７Ｂ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿０５８２３８）、Ｗｎｔ－８Ａ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿０５８２４４）、Ｗｎｔ－８Ｂ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００３３９３）、Ｗｎｔ－９Ａ（Ｗｎｔ－１４）（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００３３９５）、Ｗｎｔ－９Ｂ（Ｗｎｔ－１５）（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００３３９６）、Ｗｎｔ－１０Ａ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿０２５２１６）、Ｗｎｔ－１０Ｂ（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００３３９４）、Ｗｎｔ－１１（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿００４６２６）、Ｗｎｔ－１６（ＧｅｎＢａｎｋアクセッションＮｏ．ＮＭ＿０１６０８７））。各メンバーは、当該ファミリーに対し様々な程度の配列同一性を有するが、全てが、小さい（すなわち、３９～４６ｋＤ）、アシル化され、パルミトイル化され、スペーシングが高度に保存された２３～２４個のシステイン保存残基を含む、分泌糖タンパク質をコードする（ＭｃＭａｈｏｎ，Ａ Ｐ ｅｔ ａｌ．，Ｔｒｅｎｄｓ Ｇｅｎｅｔ．１９９２；８：２３６－２４２；Ｍｉｌｌｅｒ，ＪＲ．Ｇｅｎｏｍｅ Ｂｉｏｌ．２００２；３（１）：３００１．１－３００１．１５）。目的Ｗｎｔポリペプチドの他のネイティブ配列としては、飼育動物及び家畜、ならびに動物園、実験用、またはペット用動物を含めた任意の哺乳類、例えば、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウサギ、ラット、マウス、カエル、ゼブラフィッシュ、ショウジョウバエ、虫などからの上記のオルソログが挙げられる。

【００９９】

「Ｗｎｔ経路シグナリング」または「Ｗｎｔシグナリング」は、生物学的活性Ｗｎｔが、細胞の活性を調節するために細胞に対しその効果を発揮する機構を指すように本明細書で使用されている。Ｗｎｔタンパク質は、フリズルド（Ｆｚｄ）ファミリータンパク質からのタンパク質、ＲＯＲファミリータンパク質からのタンパク質、ＬＲＰファミリータンパク質からのタンパク質ＬＲＰ５、ＬＲＰ６、タンパク質ＦＲＬ１／ｃｒｙｐｔｏ、及びタンパク質Ｄｅｒａｉｌｅｄ／Ｒｙｋを含めたＷｎｔ受容体に結合することにより、細胞

活性を調節する。Ｗｎｔ受容体（１つまたは複数）は、ひとたびＷｎｔ結合により活性化されると、１つ以上の細胞内シグナリングカスケードを活性化する。このようなシグナリングカスケードは、カノニカルＷｎｔシグナリング経路；Ｗｎｔ／平面内細胞極性（Ｗｎｔ／ＰＣＰ）経路；Ｗｎｔ－カルシウム（Ｗｎｔ／Ｃａ$^{2+}$）経路（Ｇｉｌｅｓ，ＲＨ ｅｔ ａｌ．（２００３） Ｂｉｏｃｈｉｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ａｃｔａ １６５３，１－２４；Ｐｅｉｆｅｒ，Ｍ．ｅｔ ａｌ．（１９９４） Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ １２０：３６９－３８０；Ｐａｐｋｏｆｆ，Ｊ．ｅｔ ａｌ（１９９６） Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．１６：２１２８－２１３４；Ｖｅｅｍａｎ，Ｍ．Ｔ．ｅｔ ａｌ．（２００３） Ｄｅｖ．Ｃｅｌｌ ５：３６７－３７７）；及び当技術分野で周知されているような他のＷｎｔシグナリング経路を含む。

【０１００】

例えば、カノニカルＷｎｔシグナリング経路が活性化された結果、細胞内タンパク質β－カテニンのリン酸化が阻害され、β－カテニンのサイトゾル中での蓄積とその後の核への転座とにつながり、核においてβ－カテニンは転写因子（例えば、ＴＣＦ／ＬＥＦ）と相互作用して、標的遺伝子を活性化する。Ｗｎｔ／ＰＣＰ経路の活性化により、ＲｈｏＡ、ｃ－Ｊｕｎ Ｎ末端キナーゼ（ＪＮＫ）、及びネモ様キナーゼ（ＮＬＫ）シグナリングカスケードが活性化されて、組織極性及び細胞運動のような生物学的プロセスをコントロールする。例えば、Ｗｎｔ－４、Ｗｎｔ－５Ａ、またはＷｎｔ－１１の結合によるＷｎｔ／Ｃａ$^{2+}$の活性化は、カルシウムイオンの細胞内放出を誘発し、それによりタンパク質キナーゼＣ（ＰＫＣ）、カルシウム－カルモジュリン依存性キナーゼＩＩ（ＣａｍＫＩＩ）、またはカルシニューリン（ＣａＣＮ）のようなカルシウム感受性酵素が活性化される。上記のシグナリング経路の活性をアッセイすることにより、抗体またはその抗原結合フラグメント（例えば、Ｗｎｔサロゲート分子）の生物学的活性を容易に決定することができる。

【０１０１】

ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子の機能的特性は、当業者に知られている様々な方法を用いて評価することができ、このような方法としては、例えば、親和性／結合アッセイ（例えば、表面プラズモン共鳴法、競合阻害アッセイ）、細胞傷害性アッセイ、細胞生存能アッセイ、ｉｎ ｖｉｔｒｏまたはｉｎ ｖｉｖｏモデル（限定されるものではないが、本明細書で説明されている任意のものを含む）を用いたＷｎｔ、癌細胞、及び／または腫瘍成長阻害に応答した細胞の増殖または分化アッセイが挙げられる。本明細書に記載のＷｎｔサロゲート分子は、Ｆｚｄ受容体内在化に及ぼす効果、ｉｎ ｖｉｔｒｏ及びｉｎ ｖｉｖｏの有効性などについても試験され得る。このようなアッセイは、当業者に知られている十分に確立したプロトコル（例えば、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌ．Ａｓｓｏｃ．Ｉｎｃ．＆ Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，ＮＹ，ＮＹ）；Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（編集：Ｊｏｈｎ Ｅ．Ｃｏｌｉｇａｎ，Ａｄａ Ｍ．Ｋｒｕｉｓｂｅｅｋ，Ｄａｖｉｄ Ｈ．Ｍａｒｇｕｌｉｅｓ，Ｅｔｈａｎ Ｍ．Ｓｈｅｖａｃｈ，Ｗａｒｒｅｎ Ｓｔｒｏｂｅｒ ２００１ Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，ＮＹ，ＮＹを参照）、または市販のキットを用いて実施することができる。

【０１０２】

ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子のＦｚｄ結合領域（例えば、抗Ｆｚｄ抗体の抗原結合フラグメント）は、本明細書で説明されている抗Ｆｚｄ抗体のＣＤＲのうちの１つ以上を含む。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子のＬＲＰ５／６結合領域（例えば、抗ＬＲＰ５／６抗体の抗原結合フラグメント）は、本明細書で説明されている抗ＬＲＰ５／６抗体のＣＤＲのうちの１つ以上を含む。この点において、場合により、所望の特異的結合を保持しながら抗体のＶＨＣＤＲ３のみの移行を実施できることが示されている（Ｂａｒｂａｓ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ（１９９５）９２：２５２９－２５３３）。また、ＭｃＬａｎｅ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ（１９９５）９２：５２１

４－５２１８，Ｂａｒｂａｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．（１９９４）１１６：２１６１－２１６２も参照。

【０１０３】

また、本明細書では、Ｆｚｄ受容体に対し特異的な抗体または抗原結合ドメインを得るための方法であって、本明細書で示されるＶＨドメインまたは当該ＶＨドメインのアミノ酸配列バリアントであるＶＨドメインのアミノ酸配列における１つ以上のアミノ酸の付加、欠失、置換、または挿入によって提供することと、任意選択で、このようにして提供されたＶＨドメインを１つ以上のＶＬドメインと組み合わせることと、ＶＨドメインまたはＶＨ／ＶＬ組合せ（１つまたは複数）を試験して、１つ以上のＦｚｄ受容体に対し特異的な、及び任意選択で１つ以上の所望の特性を有する、抗体抗原結合ドメインの特異的結合メンバーを特定することとを含む、方法が開示されている。ＶＬドメインは、実質的に本明細書で示されているアミノ酸配列を有することができる。本明細書で開示されているＶＬドメインの１つ以上の配列バリアントが１つ以上のＶＨドメインと組み合わされる、類似の方法が用いられてもよい。

【０１０４】

特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は水溶性である。「水溶性」とは、界面活性剤の不在下で水性緩衝液に可溶であり、ポリペプチドの生物学的有効用量をもたらす濃度で通常可溶である組成物を意味する。水溶性である組成物は、実質的に均質な組成物を形成し、その比活性は、精製の元となる出発材料の少なくとも約５％、通例的には出発材料の少なくとも約１０％、２０％、または３０％、より通例的には出発材料の約４０％、５０％、または６０％であり、約５０％、約９０％、またはそれ以上の場合もある。本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子は、典型的には、少なくとも２５μＭ以上の濃度、例えば、少なくとも２５μＭ、４０μＭ、または５０μＭ、通例的には少なくとも６０μＭ、７０μＭ、８０μＭ、または９０μＭ、時として１００μＭ、１２０μＭ、または１５０μＭもの濃度の、実質的に均質な水溶液を形成する。言い換えれば、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子は、典型的には、約０．１ｍｇ／ｍｌ、約０．５ｍｇ／ｍｌ、約１ｍｇ／ｍｌまたはそれ以上の濃度の、実質的に均質な水溶液を形成する。

【０１０５】

抗体またはその抗原結合フラグメントに「特異的に結合する」または「優先的に結合する」（本明細書では交換可能に使用される）抗原またはエピトープは、当技術分野で十分に理解されている用語であり、このような特異的または優先的な結合を決定する方法も当技術分野で周知されている。ある分子（例えば、Ｗｎｔサロゲート分子）が、代替的な細胞または物質よりも高頻度に、迅速に、長い持続期間で、及び／または高い親和性で、特定の細胞または物質と反応または会合する場合、その分子は「特異的な結合」または「優先的な結合」を示すものとされる。分子またはその結合領域（例えば、Ｗｎｔサロゲート分子またはその結合領域）が、標的抗原（例えば、Ｆｚｄ受容体）と「特異的に結合する」または「優先的に結合する」のは、その抗体が、他の物質に対するよりも大きな親和性、アビディティーで、より容易に、かつ／またはより長い持続期間で結合する場合である。例えば、Ｆｚｄ１受容体と特異的または優先的に結合するＷｎｔサロゲート分子またはその結合領域は、他のＦｚｄ受容体または非Ｆｚｄタンパク質に対するよりも大きな親和性、アビディティーで、より容易に、かつ／またはより長い持続期間で、Ｆｚｄ１受容体に結合する抗体である。また、この定義を読み取ることにより、例えば、第１の標的と特異的または優先的に結合するＷｎｔサロゲート分子またはその結合領域は、第２の標的と特異的または優先的に結合する場合もあれば結合しない場合もあることも理解される。そのため、「特異的な結合」または「優先的な結合」は、必ずしも排他的結合を必要とするわけではない（ただし、これを含むことはできる）。概して、ただし必ずではないが、結合に対する言及は優先的な結合を意味する。

【０１０６】

いくつかの実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子の１つ以上のＦｚｄ結合領域のい

ずれかは、１つ、２つ、３つ、４つ、５つまたはそれ以上の異なるフリズルドタンパク質、例えば、ヒトフリズルドタンパク質Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ３、Ｆｚｄ４、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ６、Ｆｚｄ７、Ｆｚｄ８、Ｆｚｄ９、Ｆｚｄ１０のうちの１つ以上に結合する。いくつかの実施形態において、任意のＦｚｄ結合領域は、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８に結合する。様々な実施形態において、任意のＦｚｄ結合領域は、（ｉ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ９；（ｉｉ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、及びＦｚｄ７；（ｉｉｉ）Ｆｚｄ５及びＦｚｄ８；（ｉｖ）Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８；（ｖ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ４、Ｆｚｄ５、及びＦｚｄ８；（ｖｉ）Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８；（ｖｉｉ）Ｆｚｄ４及びＦｚｄ９；（ｖｉｉｉ）Ｆｚｄ９及びＦｚｄ１０；（ｉｘ）Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ８、及びＦｚｄ１０；（ｘ）Ｆｚｄ４、Ｆｚｄ５、及びＦｚｄ８；Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８に結合する。いくつかの実施形態において、Ｆｚｄ結合領域は、１つ以上の目的Ｆｚｄタンパク質に対し選択的であり、例えば、１つ以上の所望のＦｚｄタンパク質に対し、他のＦｚｄタンパク質との対比で少なくとも１０倍、２５倍、５０倍、１００倍、２００倍、またはそれ以上の特異性を有する。いくつかの実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子の１つ以上のＦｚｄ結合領域のいずれかは単一特異的であり、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ３、Ｆｚｄ４、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ６、Ｆｚｄ７、Ｆｚｄ８、Ｆｚｄ９、またはＦｚｄ１０のうちの１つのみと特異的に結合する。

【０１０７】

いくつかの実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子の１つ以上のＬＲＰ５／６結合領域のいずれかは、ＬＲＰ５／６の一方または両方に結合する。便宜上、「ＬＲＰ５／６」という用語は、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６のいずれかまたは両方を総称して指すために使用される。

【０１０８】

免疫学的結合とは、概して、免疫グロブリン分子とその免疫グロブリン分子が特異的である抗原との間に生じるタイプの非共有結合的な相互作用を指し、例えば、限定ではなく例示として、静電気的、イオン的、親水的及び／または疎水的な引力または反発、立体的な力、水素結合、ファンデルワールス力、及びその他の相互作用が挙げられる。免疫学的結合相互作用の強度または親和性は、相互作用の解離定数（K_d）の観点で表現することができ、K_dが小さいほど親和性が大きいことを表す。選択されたポリペプチドの免疫学的結合特性は、当技術分野で周知の方法を用いて定量化することができる。１つのこのような方法は、抗原結合部位／抗原複合体の形成及び解離の速度を測定することを伴い、このような速度は、複合体パートナーの濃度、相互作用の親和性、及び両方向の速度に等しく影響を及ぼす幾何的パラメーターに依存する。したがって、「オン速度定数」（K_{on}）及び「オフ速度定数」（K_{off}）の両方は、濃度の計算ならびに会合及び解離の実際の速度によって決定することができる。K_{off}／K_{on}の比は、親和性に関係しない全てのパラメーターの解除を可能にし、したがって解離定数K_dに等しい。全般的には、Ｄａｖｉｅｓ ｅｔ ａｌ．（１９９０）Ａｎｎｕａｌ Ｒｅｖ Ｂｉｏｃｈｅｍ．５９：４３９－４７３を参照。

【０１０９】

ある特定の実施形態において、本明細書で説明されているＷｎｔサロゲート分子またはその結合領域は、１つ以上のＦｚｄ受容体またはＬＲＰ５もしくはＬＲＰ６受容体に対し、約１０，０００未満、約１０００未満、約１００未満、約１０未満、約１未満、または約０．１ｎＭの親和性を有し、いくつかの実施形態においては、抗体はさらに高い親和性を有し得る。

【０１１０】

免疫グロブリンの定常領域は、可変領域よりも少ない配列多様性を示し、複数の天然タンパク質に結合して重要な生化学的事象を誘発する役目を果たしている。ヒトにおいては、５つの異なる抗体クラスが存在し、これにはＩｇＡ（サブクラスＩｇＡ１及びＩｇＡ２を含む）、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ（サブクラスＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩ

ｇＧ４を含む）、ならびにＩｇＭが含まれる。これらの抗体クラスを区別する特徴は定常領域であるが、Ｖ領域内によりわずかな相違が存在することがある。

【０１１１】

抗体のＦｃ領域は、複数のＦｃ受容体及びリガンドと相互作用し、エフェクター機能と呼ばれる多数の重要な機能的能力を付与する。ＩｇＧの場合、Ｆｃ領域はＩｇドメインＣＨ２及びＣＨ３を含み、Ｎ末端側ヒンジはＣＨ２につながっている。ＩｇＧクラスにおけるＦｃ受容体の重要なファミリーは、Ｆｃガンマ受容体（ＦｃγＲ）である。これらの受容体は、抗体と免疫システムの細胞アームとの間の情報交換を媒介する（Ｒａｇｈａｖａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｃｅｌｌ Ｄｅｖ Ｂｉｏｌ １２：１８１－２２０；Ｒａｖｅｔｃｈ ｅｔ ａｌ．，２００１，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ １９：２７５－２９０）。ヒトにおいては、このタンパク質ファミリーは、ＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）（アイソフォームＦｃγＲＩａ、ＦｃγＲＩｂ、及びＦｃγＲＩｃを含む）；ＦｃγＲＩＩ（ＣＤ３２）（アイソフォームＦｃγＲＩＩａ（アロタイプＨ１３１及びＲ１３１を含む）、ＦｃγＲＩＩｂ（ＦｃγＲＩＩｂ－１及びＦｃγＲＩＩｂ－２を含む）、ならびにＦｃγＲＩＩｃを含む）；ならびにＦｃγＲＩＩＩ（ＣＤ１６）（アイソフォームＦｃγＲＩＩＩａ（アロタイプＶ１５８及びＦ１５８を含む）ならびにＦｃγＲＩＩＩｂ（アロタイプＦｃγＲＩＩＩｂ－ＮＡ１及びＦｃγＲＩＩＩｂ－ＮＡ２を含む）を含む（Ｊｅｆｆｅｒｉｓ ｅｔ ａｌ．，２００２，Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｌｅｔｔ ８２：５７－６５）。これらの受容体は、典型的には、Ｆｃとの結合を媒介する細胞外ドメインと、膜貫通領域と、細胞内の何らかのシグナリング事象を媒介し得る細胞内ドメインを有する。これらの受容体は、単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好酸球、マスト細胞、血小板、Ｂ細胞、大顆粒リンパ球、ランゲルハンス細胞、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、及びＴ細胞を含めた様々な免疫細胞内で発現する。Ｆｃ／ＦｃγＲ複合体の形成は、これらのエフェクター細胞を結合抗原部位に動員し、典型的には、細胞内のシグナリング事象及び後に続く重要な免疫応答、例えば、炎症メディエーターの放出、Ｂ細胞活性化、エンドサイトーシス、食作用、及び細胞傷害性攻撃をもたらす。

【０１１２】

細胞傷害性及び食作用性エフェクター機能を媒介する能力は、抗体が標的細胞を破壊する有力な機構である。ＦｃγＲを発現する非特異的細胞傷害性細胞が、標的細胞上の結合抗体を認識し、続いて標的細胞の溶解を引き起こす細胞媒介性反応は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ＡＤＣＣ）と呼ばれる（Ｒａｇｈａｖａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｃｅｌｌ Ｄｅｖ Ｂｉｏｌ １２：１８１－２２０；Ｇｈｅｔｉｅ ｅｔ ａｌ．，２０００，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ １８：７３９－７６６；Ｒａｖｅｔｃｈ ｅｔ ａｌ．，２００１，Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ １９：２７５－２９０）。ＦｃγＲを発現する非特異的細胞傷害性細胞が、標的細胞上の結合抗体を認識し、続いて標的細胞の食作用を引き起こす細胞媒介性反応は、抗体依存性細胞媒介性食作用（ＡＤＣＰ）と呼ばれる。全てのＦｃγＲは、Ｃｇ２（ＣＨ２）ドメインのＮ末端及びすぐ前のヒンジでＦｃ上の同じ領域に結合する。この相互作用は、構造的に十分に特徴づけられており（Ｓｏｎｄｅｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，２００１，Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ３０９：７３７－７４９）、ヒトＦｃγＲＩＩＩｂの細胞外ドメインに結合したヒトＦｃのいくつかの構造が解明されている（ｐｄｂアクセッションコード１Ｅ４Ｋ）（Ｓｏｎｄｅｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，２０００，Ｎａｔｕｒｅ ４０６：２６７－２７３）（ｐｄｂアクセッションコード１ＩＩＳ及び１ＩＩＸ）（Ｒａｄａｅｖ ｅｔ ａｌ．，２００１，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２７６：１６４６９－１６４７７）。

【０１１３】

異なるＩｇＧサブクラスはＦｃγＲに対する異なる親和性を有し、典型的に、ＩｇＧ１及びＩｇＧ３は、ＩｇＧ２及びＩｇＧ４よりも実質的に良好に受容体に結合する（Ｊｅｆｆｅｒｉｓ ｅｔ ａｌ．，２００２，Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｌｅｔｔ ８２：５７－６５）。全てのＦｃγＲは、ＩｇＧ Ｆｃ上の同じ領域に、ただし異なる親和性で結合し、高親和性結合物質ＦｃγＲＩはＩｇＧ１に対し$10^{-8}M^{-1}$のK_Dを有し、低親和性受容体Ｆｃ

ｙＲＩＩ及びＦｃｙＲＩＩＩは概してそれぞれ１０$^{-6}$及び１０$^{-5}$で結合する。ＦｃｙＲＩＩＩａ及びＦｃｙＲＩＩＩｂの細胞外ドメインは９６％同一であるが、ＦｃｙＲＩＩＩｂは細胞内シグナリングドメインを有しない。さらに、ＦｃｙＲＩ、ＦｃｙＲＩＩａ／ｃ、及びＦｃｙＲＩＩＩａが、免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を有する細胞内ドメインを有することを特徴とする、正の制御物質であるのに対し、ＦｃｙＲＩＩｂは、免疫受容体チロシンベース阻害モチーフを有し、そのため阻害性である。したがって、前者は活性化受容体と呼ばれ、ＦｃｙＲＩＩｂは阻害性受容体と呼ばれる。これらの受容体は、異なる免疫細胞上での発現のパターン及びレベルも異なる。また別のレベルの複雑性は、ヒトプロテオームにおける複数のＦｃｙＲ多形の存在である。特に臨床的重要性に関連する多形は、Ｖ１５８／Ｆ１５８　ＦｃｙＲＩＩＩａである。ヒトＩｇＧ１は、Ｆ１５８アロタイプに対するよりも高い親和性でＶ１５８アロタイプと結合する。この親和性の違い、ならびに推定されるＡＤＣＣ及び／またはＡＤＣＰに及ぼすその効果の違いは、抗ＣＤ２０抗体リツキシマブ（Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標）、ＩＤＥＣ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎの登録商標）における有効性の重要な決定因子であることが示されている。Ｖ１５８アロタイプを有する対象は、リツキシマブの治療に好都合に応答するが、低親和性Ｆ１５８アロタイプを有する対象は十分に応答しない（Ｃａｒｔｒｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，２００２，Ｂｌｏｏｄ　９９：７５４－７５８）。ヒトのおよそ１０～２０％がＶ１５８／Ｖ１５８ホモ接合性であり、４５％がＶ１５８／Ｆ１５８ヘテロ接合性であり、ヒトの３５～４５％がＦ１５８／Ｆ１５８ホモ接合性である（Ｌｅｈｒｎｂｅｃｈｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，１９９９，Ｂｌｏｏｄ　９４：４２２０－４２３２；Ｃａｒｔｒｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，２００２，Ｂｌｏｏｄ　９９：７５４－７５８）。したがって、ヒトの８０～９０％はプアレスポンダーであり、すなわち、少なくとも１つのＦ１５８　ＦｃｙＲＩＩＩａアレルを有する。

【０１１４】

Ｆｃ領域は、補体カスケードの活性化にも関与する。古典的な補体経路では、Ｃ１はそのＣ１ｑサブユニットによって、抗原（１つまたは複数）と複合体を形成したＩｇＧまたはＩｇＭのＦｃフラグメントに結合する。本発明のある特定の実施形態において、Ｆｃ領域に対する修飾は、本明細書で説明されているＦｚｄ特異的抗体の能力を改変（強化または減少）して、補体システムを活性化する（例えば、米国特許第７，７４０，８４７号を参照）。補体活性化を評価するために、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）アッセイを実施することができる（例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ，２０２：１６３（１９９６）を参照）。

【０１１５】

したがって、ある特定の実施形態において、本発明は、機能的特性の改変（例えば、ＣＤＣ、ＡＤＣＣ、もしくはＡＤＣＰ活性の低減もしくは強化、または特定のＦｃｙＲに対する結合親和性の強化、または血清半減期の増加）を伴った修飾Ｆｃ領域を有する抗Ｆｚｄ抗体を提供する。本明細書で企図されているその他の修飾Ｆｃ領域は、例えば、発行済みの米国特許第７，３１７，０９１号、第７，６５７，３８０号、第７，６６２，９２５号、第６，５３８，１２４号、第６，５２８，６２４号、第７，２９７，７７５号、第７，３６４，７３１号、公開された米国出願ＵＳ２００９０９２５９９、ＵＳ２００８０１３１４３５、ＵＳ２００８０１３８３４４、及び公開された国際出願ＷＯ２００６／１０５３３８号、ＷＯ２００４／０６３３５１、ＷＯ２００６／０８８４９４、ＷＯ２００７／０２４２４９で説明されている。

【０１１６】

ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、免疫グロブリン定常ドメイン配列と融合した所望の結合特異性を有する抗体可変ドメインを含む。ある特定の実施形態において、融合物は、ヒンジ、C_H2、及びC_H3領域の少なくとも一部を含むＩｇ重鎖定常ドメインとの融合物である。特定の実施形態において、軽鎖結合に必要な部位を含む第１の重鎖定常領域（C_H1）は、融合物の少なくとも１つに存在する。免疫グロブリン重鎖融合物及び（所望の場合）免疫グロブリン軽鎖をコードするＤＮＡは、別々の発現ベ

クターに挿入し、好適な宿主細胞に同時形質移入する。このことにより、等しくない比率の３つのポリペプチド鎖を構築に使用することで所望の二重特異的抗体の最適な収率がもたらされる実施形態では、３つのポリペプチドフラグメントの相互の割合を調整する際により高い柔軟性がもたらされる。ただし、少なくとも２つのポリペプチド鎖の等しい比率での発現が高収率をもたらす場合や、比率が、所望の鎖の組合せの収率に意味のある影響を及ぼさない場合は、２つまたは３つ全てのポリペプチド鎖のコード配列を単一の発現ベクターに挿入することが可能である。

【０１１７】

本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子は、例えば、精製または診断の応用先で使用するために、エピトープタグまたは標識を含むように修飾することもできる。抗体結合体を作製するための多数の結合基が当技術分野で公知であり、このような結合基としては、例えば、米国特許第５，２０８，０２０号または欧州特許第０　４２５　２３５　Ｂ１号、及びＣｈａｒｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　５２：１２７－１３１（１９９２）で開示されているものが挙げられる。結合基としては、上記で特定した特許で開示されているように、ジスルフィド基、チオエーテル基、酸不安定基、感光基、ペプチダーゼ不安定基、またはエステラーゼ不安定基が挙げられ、ジスルフィド基及びチオエーテル基が好ましい。

【０１１８】

ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子内に存在する抗ＬＲＰ５／６抗体及びその抗体結合フラグメントならびに／または抗Ｆｚｄ抗体及びその抗体結合フラグメントは、モノクローナルである。ある特定の実施形態において、これらはヒト化されている。

【０１１９】

本発明はさらに、ある特定の実施形態において、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子内に存在するポリペプチドをコードする単離核酸を提供する。核酸には、ＤＮＡ及びＲＮＡが含まれる。これら及び関連する実施形態は、本明細書で説明されている１つ以上のＦｚｄ受容体及び／またはＬＲＰ５もしくはＬＲＰ６に結合する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むことができる。本明細書で使用する場合、「単離ポリヌクレオチド」という用語は、ゲノム、ｃＤＮＡ、もしくは合成起源またはこれらの何らかの組合せのポリヌクレオチドを意味するものとし、その起源に基づき、単離ポリヌクレオチドは、（１）単離ポリヌクレオチドが自然界で見られる場合においてポリヌクレオチドの全てまたは一部分と会合しない、（２）自然界では結合しないポリヌクレオチドと結合する、または（３）自然界ではより大きな配列の一部として発生しない。単離ポリヌクレオチドは、天然及び／または人工の配列を含むことができる。

【０１２０】

「作用可能に結合した」という用語は、当該用語が適用される構成要素が、好適な条件下でその固有の機能を実行できる関係性にあることを意味する。例えば、タンパク質コード配列と「作用可能に結合した」転写制御配列は、制御配列の転写活性と適合性の条件下でタンパク質コード配列の発現が達成されるように、タンパク質コード配列と連結している。

【０１２１】

本明細書で使用する場合、「制御配列」という用語は、自らが連結または作用可能に結合したコード配列の発現、プロセッシング、または細胞内局在化に影響を及ぼすことができるポリヌクレオチド配列を指す。このような制御配列の性質は、宿主生物に依存し得る。特定の実施形態において、原核生物の転写制御配列は、プロモーター、リボソーム結合部位、及び転写終結配列を含むことができる。他の特定の実施形態において、真核生物の転写制御配列は、１つまたは複数の転写因子の認識部位を含むプロモーター、転写エンハンサー配列、転写終結配列、及びポリアデニル化配列を含むことができる。ある特定の実施形態において、「制御配列」は、リーダー配列及び／または融合パートナー配列を含むことができる。

【０１２２】
本明細書で言及する場合、「ポリヌクレオチド」という用語は、１本鎖または２本鎖の核酸ポリマーを意味する。ある特定の実施形態において、ポリヌクレオチドを含むヌクレオチドは、リボヌクレオチドもしくはデオキシリボヌクレオチド、またはいずれかのタイプのヌクレオチドの修飾形態であり得る。前述の修飾としては、塩基修飾（例えば、ブロモウリジン）、リボース修飾（例えば、アラビノシド及び２’，３’－ジデオキシリボース）、ならびにヌクレオチド間結合修飾（例えば、ホスホロチオアート、ホスホロジチオアート、ホスホロセレノアート、ホスホロジセレノアート、ホスホロアニロチオアート、ホスホルアニラダート、及びホスホロアミダート）が挙げられる。「ポリヌクレオチド」という用語は、具体的には、１本鎖及び２本鎖の形態のＤＮＡを含む。

【０１２３】
「天然ヌクレオチド」という用語は、デオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドを含む。「修飾ヌクレオチド」という用語は、修飾または置換された糖基などを有するヌクレオチドを含む。「オリゴヌクレオチド結合」という用語は、ホスホロチオアート、ホスホロジチオアート、ホルホロセレノアート、ホスホロジセレノアート、ホスホロアニロチオアート、ホスホルアニラダート、ホスホロアミダートなどのオリゴヌクレオチド結合を含む。例えば、ＬａＰｌａｎｃｈｅ ｅｔ ａｌ．，１９８６，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１４：９０８１；Ｓｔｅｃ ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１０６：６０７７；Ｓｔｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１６：３２０９；Ｚｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ａｎｔｉ－Ｃａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｓｉｇｎ，６：５３９；Ｚｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９１，ＯＬＩＧＯＮＵＣＬＥＯＴＩＤＥＳ ＡＮＤ ＡＮＡＬＯＧＵＥＳ：Ａ ＰＲＡＣＴＩＣＡＬ ＡＰＰＲＯＡＣＨ，ｐｐ．８７－１０８（Ｆ．Ｅｃｋｓｔｅｉｎ，Ｅｄ．），Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｏｘｆｏｒｄ Ｅｎｇｌａｎｄ；Ｓｔｅｃ ｅｔ ａｌ．，米国特許第５，１５１，５１０号；Ｕｈｌｍａｎｎ ａｎｄ Ｐｅｙｍａｎ，１９９０，Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ，９０：５４３を参照（これらの開示内容は、あらゆる目的において参照により本明細書に援用される）。オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドまたはそのハイブリダイゼーションの検出を可能にするために、検出可能な標識を含むことができる。

【０１２４】
「ベクター」という用語は、コード情報を宿主細胞に転送するのに使用される任意の分子（例えば、核酸、プラスミド、またはウイルス）を指すために使用される。「発現ベクター」という用語は、宿主細胞の形質転換に好適であり、かつ、挿入された異種核酸配列の発現を指示及び／または制御する核酸配列を含むベクターを指す。発現には、限定されるものではないが、転写、翻訳、及びイントロンが存在する場合はＲＮＡスプライシングなどのプロセスが含まれる。

【０１２５】
当業者が理解するであろうように、ポリヌクレオチドには、タンパク質、ポリペプチド、ペプチドなどを発現する、または発現するように適合され得るゲノム配列、ゲノム外及びプラスミドコード配列、ならびにより小さな操作遺伝子セグメントが含まれ得る。このようなセグメントは、天然に単離されても、当業者によって合成的に修飾されてもよい。

【０１２６】
これもまた当業者が認識するであろうように、ポリヌクレオチドは、１本鎖（コードまたはアンチセンス）であっても２本鎖であってもよく、またＤＮＡ分子（ゲノム、ｃＤＮＡ、または合成）であってもＲＮＡ分子であってもよい。ＲＮＡ分子には、イントロンを含みＤＮＡ分子に一対一で対応するＨｎＲＮＡ分子と、イントロンを含まないｍＲＮＡ分子とが含まれ得る。さらなるコード配列または非コード配列は、その必要があるわけではないが、本開示に従うポリヌクレオチド内に存在してもよく、ポリヌクレオチドは、その必要があるわけではないが、他の分子及び／または支持材料に結合してもよい。ポリヌクレオチドは、ネイティブ配列を含んでもよく、またはこのような配列のバリアントもしく

は誘導体をコードする配列を含んでもよい。

【０１２７】

当業者には、遺伝暗号の縮重の結果として、本明細書で説明されている抗体をコードするヌクレオチド配列が多数存在することが理解されよう。このようなポリヌクレオチドのいくつかは、Ｗｎｔサロゲート分子内のポリペプチドをコードするネイティブまたは元のポリヌクレオチド配列のヌクレオチド配列に対し、最小限の配列同一性を有する。それでも、本開示により、コドン使用の相違によって異なるポリヌクレオチドが明示的に企図されている。ある特定の実施形態において、哺乳類発現に対しコドン最適化された配列が特に企図されている。

【０１２８】

そのため、本発明の別の実施形態において、変異誘発アプローチ（例えば、部位特異的変異誘発）が、本明細書で説明されているポリペプチドのバリアント及び／または誘導体の調製のために用いられ得る。このアプローチにより、ポリペプチド配列における特定の修飾は、それらをコードする基礎ポリヌクレオチドの変異誘発を通じて行われ得る。これらの技法は、１つ以上のヌクレオチド配列変化をポリヌクレオチドに導入することにより、例えば、前述の考慮事項のうちの１つ以上を組み込んで、配列バリアントを調製及び試験するための分かりやすいアプローチをもたらす。

【０１２９】

部位特異的変異誘発は、所望の変異のＤＮＡ配列をコードする特定のオリゴヌクレオチド配列と、十分な数の隣接ヌクレオチドとを使用して、横断されている欠失接合部の両側に安定したデュプレックスを形成するために十分なサイズ及び配列複雑性のプライマー配列を提供することにより、変異体の産生を可能にする。変異は、選択されたポリヌクレオチド配列で用いて、ポリヌクレオチド自体の特性を改善、改変、減少、修飾、または他の形で変化させる、かつ／またはコードされたポリペプチドの特性、活性、組成、安定性、または一次配列を改変することができる。

【０１３０】

ある特定の実施形態において、発明者らは、Ｗｎｔサロゲート分子内に存在するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を変異誘発して、コードされたポリペプチドの１つ以上の特性（例えば、結合親和性、または特定のＦｃ領域の機能、または特定のＦｃγＲに対するＦｃ領域の親和性）を改変することを企図している。部位特異的変異誘発の技法は当技術分野で周知されており、ポリペプチド及びポリヌクレオチド両方のバリアントを創出するのに広く使用されている。例えば、部位特異的変異誘発は、ＤＮＡ分子の特定の部分を改変するのにしばしば使用される。このような実施形態において、典型的には約１４～約２５ヌクレオチド長程度を含むプライマーが用いられ、配列の接合部の両側の約５～約１０残基が改変される。

【０１３１】

当業者が理解するであろうように、部位特異的変異誘発技法は、多くの場合、１本鎖及び２本鎖両方の形態で存在するファージベクターを用いる。部位特異的変異誘発に有用な典型的なベクターとしては、Ｍ１３ファージなどのベクターが挙げられる。このようなファージは容易に商業的に入手可能であり、その使用は当業者に広く周知されている。また、２本鎖プラスミドも、目的遺伝子をプラスミドからファージに移行させるステップを省く部位特異的変異誘発で通例的に用いられている。

【０１３２】

部位特異的変異誘発を用いての、選択されたペプチドをコードするＤＮＡセグメントの配列バリアントの調製は、潜在的に有用な種を産生する手段をもたらすものであり、これらをコードするペプチド及びＤＮＡ配列の配列バリアントが得られ得る他の方法が存在するため、限定的であるようには意図されていない。例えば、所望のペプチド配列をコードする組換えベクターは、ヒドロキシルアミンなどの変異原性剤で処理して、配列バリアントを得ることができる。このような方法及びプロトコルに関する具体的な詳細は、Ｍａｌｏｙ　ｅｔ　ａｌ．，１９９４；Ｓｅｇａｌ，１９７６；Ｐｒｏｋｏｐ　ａｎｄ　Ｂａｊｐ

ａｉ，１９９１；Ｋｕｂｙ，１９９４；及びＭａｎｉａｔｉｓ ｅｔ ａｌ．，１９８２の教示内容に見出され、各文献はこの目的において参照によって本明細書に援用される。

【０１３３】

多くの実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子のポリペプチドをコードする１つ以上の核酸は、宿主細胞に直接導入され、細胞は、コードされるポリペプチドの発現を誘発するのに十分な条件下でインキュベートされる。本開示のＷｎｔサロゲートポリペプチドは、当業者に周知された標準的な技法を、本明細書で提供されるポリペプチド及び核酸配列と組み合わせて用いて調製することができる。ポリペプチド配列は、本明細書で開示されている特定のポリペプチドをコードする適切な核酸配列を決定するのに使用することができる。核酸配列は、当業者に周知された標準的方法に従って、様々な発現システムにおける特定のコドン「優先性」を反映するように最適化することができる。

【０１３４】

ある特定の関連する実施形態によれば、本明細書で説明されている１つ以上のコンストラクト（例えば、Ｗｎｔサロゲート分子またはそのポリペプチドをコードする核酸を含むベクター）を含む組換え宿主細胞、ならびにコードされた産物を産生する方法であって、そのためのコード核酸から発現させることを含む、方法が提供される。発現は、適切な条件下で、核酸を含む組換え宿主細胞を培養することにより、好都合に達成することができる。発現により産生した後、抗体またはその抗原結合フラグメントは、任意の好適な技法を用いて単離及び／または精製し、次いで所望に応じて使用することができる。

【０１３５】

ポリペプチド、ならびにコード核酸分子及びベクターは、例えばそれらの天然の環境から実質的に純粋もしくは均質な形態で、または、核酸の場合は、所望の機能を有するポリペプチドをコードする配列以外で核酸もしくは起源の遺伝子を含まずにもしくは実質的に含まずに、単離及び／または精製することができる。核酸は、ＤＮＡまたはＲＮＡを含み得、全体的または部分的に合成であり得る。本明細書で示されるヌクレオチド配列への言及は、文脈上他の意味が要求されない限り、指定の配列を有するＤＮＡ分子を包含し、また、Ｔの代わりにＵが用いられた指定の配列を有するＲＮＡ分子を包含する。

【０１３６】

様々な異なる宿主細胞でポリペプチドをクローニング及び発現するためのシステムは周知されている。好適な宿主細胞としては、細菌、哺乳類細胞、酵母、及びバキュロウイルスシステムが挙げられる。異種ポリペプチド発現の技術分野で利用可能な哺乳類細胞株としては、チャイニーズハムスター卵巣細胞、ＨｅＬａ細胞、ベビーハムスター腎臓細胞、ＮＳＯマウス黒色腫細胞、その他多数の細胞が挙げられる。一般的な好ましい細菌宿主はＥ．ｃｏｌｉである。

【０１３７】

Ｅ．ｃｏｌｉなどの原核細胞内でのポリペプチド（例えば、抗体及びその抗原結合フラグメント）の発現は、当技術分野で十分に確立されている。概説については、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，Ａ．Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：５４５－５５１（１９９１）を参照。また、培養下の真核細胞内での発現も、抗体またはその抗原結合フラグメントの産生における選択肢として、当業者には利用可能である。最近の概説として、例えば、Ｒｅｆ，Ｍ．Ｅ．（１９９３）Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ Ｂｉｏｔｅｃｈ．４：５７３－５７６；Ｔｒｉｌｌ Ｊ．Ｊ．ｅｔ ａｌ．（１９９５）Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ Ｂｉｏｔｅｃｈ ６：５５３－５６０を参照。

【０１３８】

プロモーター配列、終結配列、ポリアデニル化配列、エンハンサー配列を含めた適切な制御配列、マーカー遺伝子、及び必要に応じてその他の配列を含む好適なベクターが選択または構築され得る。ベクターは、必要に応じて、プラスミド、ウイルス（例えば、ファージ）、またはファージミドとすることができる。さらなる詳細については、例えば、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ：２ｎｄ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ

Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓを参照。核酸の操作、例えば、核酸コンストラクトの調製、変異誘発、シークエンシング、細胞内へのＤＮＡ導入及び遺伝子発現、ならびにタンパク質の分析における核酸の操作については、多くの公知の技法及びプロトコルがＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｓｅｃｏｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．ｅｄｓ．，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，１９９２、または後続の改訂で詳細に説明されている。

【０１３９】

「宿主細胞」という用語は、本明細書で説明されているポリペプチドのうちの１つ以上をコードする核酸配列が導入された、または導入させることが可能である、そしてさらに、選択された目的遺伝子（例えば、本明細書で説明されている任意のポリペプチドをコードする遺伝子）を発現させる、または発現させることが可能である細胞を指すために使用される。当該用語は、親細胞の後代を含み、選択された遺伝子が存在する限り、その後代が形態学または遺伝子的構成において元の親と同一であるかどうかにかかわらずこれを含む。したがって、このような核酸を宿主細胞に導入することを含む方法も企図されている。この導入は、任意の利用可能な技法を用いることができる。真核細胞については、好適な技法としては、リン酸カルシウム形質移入、ＤＥＡＥ－デキストラン、エレクトロポレーション、リポソーム媒介形質移入、及びレトロウイルスまたは他のウイルス（例えば、ワクシニアウイルス、または昆虫細胞の場合はバキュロウイルス）を用いた形質導入を挙げることができる。細菌細胞については、好適な技法としては、塩化カルシウム形質転換、エレクトロポレーション、及びバクテリオファージを用いた形質移入を挙げることができる。導入の後は、例えば、宿主細胞を遺伝子発現向けの条件下で培養することにより、核酸からの発現を引き起こすまたは可能にすることができる。１つの実施形態において、核酸は、宿主細胞のゲノム（例えば、染色体）に組み込まれる。組込みは、標準的な技法に従って、ゲノムとの組換えを促進する配列を含めることによって促進することができる。

【０１４０】

また、本発明は、ある特定の実施形態において、本明細書で説明されているようなＷｎｔミメティック分子などの特定のポリペプチドを発現させるために、発現システム内で上述のようにコンストラクトを使用することを含む方法も提供する。「形質導入（ｔｒａｎｓｄｕｃｔｉｏｎ）」という用語は、通常はファージにより、遺伝子をある細菌から別の細菌へ移行することを指すために使用される。また「形質導入」は、レトロウイルスによる真核細胞配列の取得及び移行も指す。「形質移入（ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ）」という用語は、細胞が外的または外来ＤＮＡを取り込むことを指し、外来ＤＮＡが細胞膜の内側に導入された場合、細胞は「形質移入」されたことになる。複数の形質移入技法が当技術分野で周知されており、本明細書で開示されている。例えば、Ｇｒａｈａｍ ｅｔ ａｌ．，１９７３，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ ５２：４５６；Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，２００１，ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＣＬＯＮＩＮＧ，Ａ ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ ＭＡＮＵＡＬ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ；Ｄａｖｉｓ ｅｔ ａｌ．，１９８６，ＢＡＳＩＣ ＭＥＴＨＯＤＳ ＩＮ ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＢＩＯＬＯＧＹ，Ｅｌｓｅｖｉｅｒ；及びＣｈｕ ｅｔ ａｌ．，１９８１，Ｇｅｎｅ １３：１９７を参照。このような技法は、１つ以上の外来ＤＮＡ部分を好適な宿主細胞に導入するのに使用することができる。

【０１４１】

本明細書で使用する場合、「形質転換（ｔｒａｎｓｆｏｒｍａｔｉｏｎ）」という用語は、細胞の遺伝子的特徴の変化を指し、細胞が新たなＤＮＡを含むように修飾された場合、細胞は形質転換したことになる。例えば、細胞は、そのネイティブな状態から遺伝子的に修飾されている場合、形質転換している。形質移入または形質導入の後、形質転換ＤＮＡは、細胞の染色体に物理的に組み込むことによって細胞のＤＮＡと組換えを行う場合もあれば、複製されることなくエピソームエレメントとして一時的に維持される場合もあれば、プラスミドとして独立に複製する場合もある。細胞は、ＤＮＡが細胞分裂で複製される場合、安定的に形質転換したとみなされる。「天然」または「ネイティブ」という用語

は、核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞などのような生物学的材料と共に使用される場合、自然界に見られ、ヒトによって操作されていない材料を指す。同様に、本明細書で使用する場合、「非天然」または「非ネイティブ」という用語は、自然界に見られず、ヒトによって構造的に修飾または合成された材料を指す。

【０１４２】

「ポリペプチド」、「タンパク質」、及び「ペプチド」、ならびに「糖タンパク質」という用語は、交換可能に使用され、いかなる特定の長さにも限定されないアミノ酸のポリマーを意味する。当該用語は、ミリスチル化、硫酸化、グリコシル化、リン酸化、及びシグナル配列の付加または欠失のような修飾を除外しない。「ポリペプチド」または「タンパク質」という用語は、アミノ酸の１つ以上の鎖を意味し、各鎖は、ペプチド結合によって共有結合したアミノ酸を含み、当該ポリペプチドまたはタンパク質は、ネイティブタンパク質の、すなわち、天然であり明確に組換えでない細胞によって産生されたタンパク質の配列を有する、ペプチド結合によって共に非共有結合及び／または共有結合した複数の鎖を含んでもよく、また、ネイティブタンパク質のアミノ酸配列を有する分子、またはネイティブ配列からの欠失、ネイティブ配列に対する付加、及び／もしくはネイティブ配列の１つ以上のアミノ酸の置換を有する分子を含んでもよい。「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語は、具体的には、Ｗｎｔサロゲート分子、そのＦｚｄ結合領域、そのＬＲＰ５／６結合領域、本明細書で開示されているＦｚｄ受容体またはＬＲＰ５もしくはＬＲＰ６受容体に結合するその抗体及びその抗体結合フラグメント、あるいはこれらのポリペプチドのいずれかの１つ以上のアミノ酸の欠失、付加、及び／または置換を有する配列を包含する。したがって、「ポリペプチド」または「タンパク質」は、１つのアミノ酸鎖（「単量体」と称される）も複数のアミノ酸鎖（「多量体」と称される）も含むことができる。

【０１４３】

本明細書で言及されている「単離タンパク質」、「単離Ｗｎｔサロゲート分子」、または「単離抗体」という用語は、主題のタンパク質、Ｗｎｔサロゲート分子、または抗体が、（１）典型的には自然界で共に見られると考えられる少なくともいくつかの他のタンパク質を含まないこと、（２）同じ供給源からの（例えば、同じ種からの）他のタンパク質を本質的に含まないこと、（３）異なる種からの細胞によって発現すること、（４）ポリヌクレオチド、脂質、炭水化物、もしくは自然界で会合している他の材料の少なくとも約５０％から分離されていること、（５）「単離タンパク質」が自然界で会合しているタンパク質の一部と（共有結合的もしくは非共有結合的な相互作用によって）会合していないこと、（６）自然界で会合していないポリペプチドと（共有結合的もしくは非共有結合的な相互作用によって）作用可能に会合していること、または（７）自然界で発生しないことを意味する。このような単離タンパク質は、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ｍＲＮＡ、もしくはその他のＲＮＡによってコードすることができ、または合成起源のものであってもよく、またはこれらの任意の組合せであってもよい。ある特定の実施形態において、単離タンパク質は、天然及び／または人工のポリペプチド配列を含むことができる。ある特定の実施形態において、単離タンパク質は、その使用（治療用、診断用、予防用、研究用、または他の用途）を妨害すると考えられる、タンパク質もしくはポリペプチドまたは天然の環境で見られるその他の混入物を実質的に含まない。

【０１４４】

本明細書で説明されている任意のポリペプチド（例えば、Ｗｎｔサロゲート分子またはそのＦｚｄ結合領域もしくはＬＲＰ５／６結合領域）のアミノ酸配列修飾（１つまたは複数）が企図されている。例えば、Ｗｎｔサロゲート分子の結合親和性及び／またはその他の生物学的特性を改善するのが望ましい場合がある。例えば、Ｗｎｔサロゲート分子のアミノ酸配列バリアントは、適切なヌクレオチド変化を抗体もしくはその鎖をコードするポリヌクレオチドに導入することにより、またはペプチド合成により、調製することができる。このような修飾としては、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び／または当該残基への挿入、及び／または当該残基の置換が挙げられる。最終Ｗｎｔサロゲ

ート分子に到達するために任意の組合せの欠失、挿入、及び置換を行うことができるが、最終コンストラクトが所望の特徴（例えば、１つ以上のＦｚｄ及び／またはＬＲＰ５／６受容体に対する高親和性結合）を所持することを条件とする。また、アミノ酸変化は、抗体の翻訳後プロセスも改変し得、例えば、グリコシル化部位の数また配置の変化をもたらし得る。本発明のポリペプチドについて上記で説明された任意のバリエーション及び修飾は、本発明の抗体に含めることができる。

【０１４５】

本開示は、本明細書で開示されている任意のポリペプチド（例えば、Ｗｎｔサロゲート分子またはそのＦｚｄ結合領域もしくはＬＲＰ５／６結合領域、またはその抗体もしくは抗原結合フラグメント）のバリアントを提供する。ある特定の実施形態において、バリアントは、本明細書で開示されているポリペプチドに対し少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の同一性を有する。ある特定の実施形態において、このようなバリアントポリペプチドは、１つ以上のＦｚｄ受容体に、及び／または１つ以上のＬＲＰ５／６受容体に対し、本明細書に具体的に記載されたＷｎｔサロゲート分子の少なくとも約５０％、少なくとも約７０％、ある特定の実施形態においては少なくとも約９０％結合する。さらなる実施形態において、このようなバリアントＷｎｔサロゲート分子は、１つ以上のＦｚｄ受容体に対し、及び／または１つ以上のＬＲＰ５／６受容体に対し、本明細書に記載のＷｎｔサロゲート分子よりも高い親和性で結合し、例えば、本明細書に具体的に記載された抗体配列の少なくとも約１０５％、１０６％、１０７％、１０８％、１０９％、または１１０％定量的に結合する。

【０１４６】

特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子またはその結合領域（例えば、Ｆａｂ、ｓｃＦｖ、またはＶＨＨもしくはｓｄＡｂ）は、ａ）ｉ．本明細書で説明されている選択された抗体の重鎖ＣＤＲ１領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ１領域と、ｉｉ．選択された抗体の重鎖ＣＤＲ２領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ２領域と、ｉｉｉ．選択された抗体の重鎖ＣＤＲ３領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ３領域とを含む、重鎖可変領域；及び／またはｂ）ｉ．選択された抗体の軽鎖ＣＤＲ１領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ１領域と、ｉｉ．選択された抗体の軽鎖ＣＤＲ２領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ２領域と、ｉｉｉ．選択された抗体の軽鎖ＣＤＲ３領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ３領域とを含む、軽鎖可変領域を含むことができ、抗体は、選択された標的（例えば、１つ以上のＦｚｄ受容体またはＬＲＰ５もしくはＬＲＰ６受容体）と特異的に結合する。さらなる実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、バリアント抗体またはその抗原結合フラグメントであり、当該バリアントは、ＶＨ及びＶＬ領域のＣＤＲ領域内の最大８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、またはそれ以上のアミノ酸置換以外では、選択された抗体と同一である重鎖及び軽鎖を含む。この点において、選択された抗体のＣＤＲ領域内に１、２、３、４、５、６、７、８、またはある特定の実施形態においては９、１０、１１、１２、１３、１４、１５以上のアミノ酸置換が存在し得る。置換は、ＶＨ及び／またはＶＬ領域のいずれかにおけるＣＤＲ内のものであり得る。（例えば、Ｍｕｌｌｅｒ，１９９８，Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　６：１１５３－１１６７を参照）

特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子またはその結合領域（例えば、Ｆａｂ、ｓｃＦｖ、またはＶＨＨもしくはｓｄＡｂ）は、ａ）本明細書で説明されている抗体またはその抗原結合フラグメントの重鎖可変領域に対し少なくとも８０％同一、少なくとも９５％同一、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９８％もしくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域；及び／あるいはｂ）本明細書で説明されている抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域に対し少なくとも８０％同一、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９８％もしくは９９％同一であるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域を有し得る。例示的なその抗原結合フラグメントのアミノ酸配列は、配列番号１～１２８に記載されている。

【０１４７】

ポリペプチドは、別のポリペプチドに対する一定の「配列同一性」パーセントを有し、これは、アラインメントした場合に、２つの配列を比較するとアミノ酸のパーセンテージが同じであることを意味する。配列類似性は、複数の異なる方式で決定することができる。配列同一性を決定するために、配列は、方法及びコンピュータープログラムを用いてアラインメントすることができ、コンピュータープログラムとしては、ワールドワイドウェブｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ＢＬＡＳＴ／で入手可能なＢＬＡＳＴが挙げられる。もう１つのアラインメントアルゴリズムは、Ｏｘｆｏｒｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｇｒｏｕｐ，Ｉｎｃ．の完全所有子会社Ｍａｄｉｓｏｎ，Ｗｉｓ．，ＵＳＡからＧｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｉｎｇ Ｇｒｏｕｐ（ＧＣＧ）パッケージで入手可能なＦＡＳＴＡである。その他のアラインメント技法は、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．２６６：Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ Ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ（１９９６），ｅｄ．Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．（Ｈａｒｃｏｕｒｔ Ｂｒａｃｅ ＆ Ｃｏ．，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．，ＵＳＡの一部門）で説明されている。特に関心対象となるのは、配列中のギャップを許容するアラインメントプログラムである。スミス・ウォーターマンは、配列アラインメントにおけるギャップを許容するアルゴリズムの１タイプである。Ｍｅｔｈ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．７０：１７３－１８７（１９９７）を参照。また、ニードルマン及びウンシュのアラインメント法を用いたＧＡＰプログラムも、配列のアラインメントに利用することができる。Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３－４５３（１９７０）を参照。

【０１４８】

関心対象は、Ｓｍｉｔｈ及びＷａｔｅｒｍａｎの局所ホモロジーアルゴリズム（Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ａｐｐｌｉｅｄ Ｍａｔｈｅｍａｔｉｃｓ ２：４８２－４８９（１９８１））を用いて配列同一性を決定するＢｅｓｔＦｉｔプログラムである。ギャップ生成ペナルティーは、概して１～５、通常は２～４の範囲となり、多くの実施形態において３となる。ギャップ延長ペナルティーは、概して約０．０１～０．２０の範囲となり、多くの場合において０．１０となる。当該プログラムは、比較対象となる入力された配列により決定されるデフォルトパラメーターを有する。配列同一性は、当該プログラムにより決定されるデフォルトパラメーターを用いて決定されることが好ましい。このプログラムは、Ｍａｄｉｓｏｎ（Ｗｉｓ．，ＵＳＡ）製のＧｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｉｎｇ Ｇｒｏｕｐ（ＧＣＧ）パッケージからも入手可能である。

【０１４９】

もう１つの関心対象プログラムは、ＦａｓｔＤＢアルゴリズムである。ＦａｓｔＤＢは、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ａｎｄ Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅ Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ａｎｄ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，Ｓｅｌｅｃｔｅｄ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．１２７－１４９，１９８８，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．で説明されている。配列同一性パーセントは、以下のパラメーターに基づいてＦａｓｔＤＢにより計算される：

ミスマッチペナルティー：１．００；ギャップペナルティー：１．００；ギャップサイズペナルティー：０．３３；及び連結ペナルティー：３０．０。

【０１５０】

特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子またはその結合領域（例えば、Ｆａｂ、ｓｃＦｖ、またはＶＨＨもしくはｓｄＡｂ）は、ａ）ｉ．本明細書で説明されている選択された抗体の重鎖ＣＤＲ１領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ１領域と、ｉｉ．選択された抗体の重鎖ＣＤＲ２領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ２領域と、ｉｉｉ．選択された抗体の重鎖ＣＤＲ３領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ３領域とを含む、重鎖可変領域；及びｂ）ｉ．選択された抗体の軽鎖ＣＤＲ１領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ１領域と、ｉｉ．選択された抗体の軽鎖ＣＤＲ２領域とアミノ酸配列が同一であるＣＤＲ２領域と、ｉｉｉ．選択された抗体の軽鎖ＣＤＲ３領域とアミノ酸配列が同一

であるＣＤＲ３領域とを含む、軽鎖可変領域を含むことができ、抗体は、選択された標的（例えば、Ｆｚｄ１などのＦｚｄ受容体）と特異的に結合する。さらなる実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、バリアント抗体であり、当該バリアントは、ＶＨ及びＶＬ領域のＣＤＲ領域内の最大８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、またはそれ以上のアミノ酸置換以外では、選択された抗体と同一である重鎖及び軽鎖を含む。この点において、選択された抗体のＣＤＲ領域内に１、２、３、４、５、６、７、８、またはある特定の実施形態においては９、１０、１１、１２、１３、１４、１５以上のアミノ酸置換が存在し得る。置換は、ＶＨ及び／またはＶＬ領域のいずれかにおけるＣＤＲ内のものであり得る。（例えば、Ｍｕｌｌｅｒ，１９９８，Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ６：１１５３－１１６７を参照）

代表的なポリペプチド（例えば、本明細書で提供されるＷｎｔサロゲート分子のバリアントＦｚｄ結合領域またはＬＲＰ５／６結合領域）の３次元構造の決定は、そのように誘導された構造的バリアントが本明細書で開示されている種の空間充填特性を保持するかどうかを決定する目的で、選択された天然または非天然のアミノ酸による１つ以上のアミノ酸の置換、付加、欠失、または挿入が仮想的にモデル化できるように、通例的な方法論を通じて行うことができる。 例えば、Ｄｏｎａｔｅ ｅｔ ａｌ．，１９９４ Ｐｒｏｔ．Ｓｃｉ．３：２３７８；Ｂｒａｄｌｅｙ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ３０９：１８６８－１８７１（２００５）；Ｓｃｈｕｅｌｅｒ－Ｆｕｒｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ３１０：６３８（２００５）；Ｄｉｅｔｚ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０３：１２４４（２００６）；Ｄｏｄｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ４５０：１７６（２００７）；Ｑｉａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ４５０：２５９（２００７）；Ｒａｍａｎ ｅｔ ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ ３２７：１０１４－１０１８（２０１０）を参照。 これら及び関連する実施形態に、例えば、結合領域の合理的な設計に使用され得る、コンピューターアルゴリズムの追加的ないくつかの非限定的例としては、３Ｄグラフィック及びビルトインスクリプトを用いて大きな生体分子システムを表示、動画化、及び分析するための分子視覚化プログラムであるＶＭＤが挙げられる（Ｔｈｅｏｒｅｔｉｃａｌ ａｎｄ Ｃｏｍｐｕｔａｔｉｏｎａｌ Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃｓ Ｇｒｏｕｐ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｉｌｌｉｎｏｉｓ ａｔ Ｕｒｂａｎａ－Ｃｈａｍｐａｇｎｅのウェブサイト：ｋｓ．ｕｉｕｃ．ｅｄｕ／Ｒｅｓｅａｒｃｈ／ｖｍｄ／を参照）。エネルギー最小化立体構造の空間充填モデルからの原子寸法（ファンデルワールス半径）の決定を可能にする他の多数のコンピュータープログラムが、当技術分野で公知であり、当業者が利用可能であり、異なる化学基に対する高親和性の領域を決定して結合の強化を試みるＧＲＩＤ、数学的アラインメントを計算するＭｏｎｔｅ Ｃａｒｌｏ研究、力場計算及び分析を評価するＣＨＡＲＭＭ（Ｂｒｏｏｋｓ ｅｔ ａｌ．（１９８３）Ｊ．Ｃｏｍｐｕｔ．Ｃｈｅｍ．４：１８７－２１７）及びＡＭＢＥＲ（Ｗｅｉｎｅｒ ｅｔ ａｌ（１９８１）Ｊ．Ｃｏｍｐｕｔ．Ｃｈｅｍ．１０６：７６５）がある（Ｅｉｓｅｎｆｉｅｌｄ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．２６１：Ｃ３７６－３８６；Ｌｙｂｒａｎｄ（１９９１）Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｂｅｌｇ．４６：４９－５４；Ｆｒｏｉｍｏｗｉｔｚ（１９９０）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ８：６４０－６４４；Ｂｕｒｂａｍ ｅｔ ａｌ．（１９９０）Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ７：９９－１１１；Ｐｅｄｅｒｓｅｎ（１９８５）Ｅｎｖｉｒｏｎ．Ｈｅａｌｔｈ Ｐｅｒｓｐｅｃｔ．６１：１８５－１９０；及びＫｉｎｉ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｊ．Ｂｉｏｍｏｌ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｄｙｎ．９：４７５－４８８も参照）。様々な適切な計算的コンピュータープログラムが商業的にも入手可能である（例えば、Ｓｃｈｒｏｄｉｎｇｅｒ（Ｍｕｎｉｃｈ，Ｇｅｒｍａｎｙ））。

【０１５１】

組成物

本明細書で説明されているＷｎｔサロゲート分子と、１つ以上の医薬的に許容される希釈剤、担体、または賦形剤とを含む、医薬組成物も開示される。特定の実施形態において、医薬組成物はさらに、１つ以上のＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドを

含む。

【０１５２】

さらなる実施形態において、本明細書で説明されているＷｎｔサロゲート分子をコードする核酸を含むポリヌクレオチドと、１つ以上の医薬的に許容される希釈剤、担体、または賦形剤とを含む、医薬組成物も開示される。特定の実施形態において、医薬組成物はさらに、ＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列を含む１つ以上のポリヌクレオチドを含む。ある特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、ＤＮＡまたはｍＲＮＡ（例えば、修飾ｍＲＮＡ）である。特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、５’キャップ配列及び／または３’テーリング配列（例えば、ポリＡテール）をさらに含む修飾ｍＲＮＡである。他の実施形態において、ポリヌクレオチドは、コード配列と作用可能に結合したプロモーターを含む発現カセットである。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列、及びＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列は、同じポリヌクレオチド内に存在する。

【０１５３】

さらなる実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクター（例えば、ウイルスベクター）と、１つ以上の医薬的に許容される希釈剤、担体、または賦形剤とを含む、医薬組成物も開示される。特定の実施形態において、医薬組成物はさらに、ＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドを含む発現ベクター（例えば、ウイルスベクター）を含む。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列、及びＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列は、同じポリヌクレオチド（例えば、発現カセット）内に存在する。

【０１５４】

本発明はさらに、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸と作用可能に結合したプロモーターを含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む細胞と、１つ以上の医薬的に許容される希釈剤、担体、または賦形剤とを含む、医薬組成物を企図している。特定の実施形態において、医薬組成物はさらに、ＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列と作用可能に結合したプロモーターを含むポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む細胞を含む。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列、及びＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列は、同じポリヌクレオチド（例えば、発現カセット）内及び／または同じ細胞内に存在する。特定の実施形態において、細胞は異種細胞であるか、または治療を行う対象から得られた自家細胞である。特定の実施形態において、細胞は幹細胞（例えば、脂肪由来幹細胞または造血幹細胞）である。

【０１５５】

本開示は、第１の活性薬剤としてのＷｎｔサロゲート分子を送達するための第１の分子と、ＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドを送達するための第２の分子とを含む、医薬組成物を企図している。第１及び第２の分子は、同じタイプの分子であっても異なるタイプの分子であってもよい。例えば、ある特定の実施形態において、第１及び第２の分子はそれぞれ、以下のタイプの分子から独立に選択され得る：ポリペプチド、有機小分子、第１及び第２の活性薬剤をコードする核酸（任意選択でＤＮＡまたはｍＲＮＡ、任意選択で修飾ＲＮＡ）、第１または第２の活性薬剤をコードする核酸配列を含むベクター（任意選択で発現ベクターまたはウイルスベクター）、ならびに第１または第２の活性薬剤をコードする核酸配列を含む細胞（任意選択で発現カセット）。

【０１５６】

主題分子は、単独または組合せで、概して安全で、無毒性で、望ましい製剤の調製に有用な医薬的に許容される担体、希釈剤、賦形剤、及び試薬と共に組み合わせることができ、哺乳類（例えば、ヒトまたは霊長類）の使用に許容される賦形剤を含む。このような賦形剤は、固体、液体、半固体、またはエアロゾル組成物の場合には気体であり得る。この

ような担体、希釈剤、及び賦形剤の例としては、限定されるものではないが、水、食塩水、リンゲル液、ブドウ糖液、及び５％ヒト血清アルブミンが挙げられる。追加の活性化合物も製剤に組み込むことができる。製剤に使用される溶液または懸濁液としては、無菌希釈剤、例えば、注射用水、食塩液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、または他の合成溶媒；抗菌化合物、例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン；抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウム；キレート化合物、例えば、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）；緩衝液、例えば、酢酸、クエン酸、またはリン酸；凝集を防止するための界面活性剤、例えば、Ｔｗｅｅｎ　２０；ならびに浸透圧調整用化合物、例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロースが挙げられ得る。ｐＨは、塩酸または水酸化ナトリウムのような酸または塩基を用いて調整することができる。特定の実施形態において、医薬組成物は無菌である。

【０１５７】

医薬組成物はさらに、無菌水溶液または分散液、及び無菌注射溶液または分散液を即時調製するための無菌散剤を含んでもよい。静脈内投与向けには、好適な担体としては、生理食塩水、静菌水、またはリン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）が挙げられる。場合によっては、組成物は無菌であり、シリンジに取り込むまたはシリンジから対象に送達することができるように液体であるべきである。ある特定の実施形態において、組成物は、製造条件及び貯蔵条件下で安定し、細菌及び真菌などの微生物の汚染作用から守られる。担体は、例えば、溶媒または分散媒とすることができ、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコールなど）、ならびにこれらの好適な混合物を含む溶媒または分散媒とすることができる。適正な流動性は、例えば、レシチンのようなコーティングの使用により、分散させる場合には必要な粒径の維持により、そして界面活性剤の使用により、維持することができる。微生物作用の防止は、様々な抗菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサールなどによって達成することができる。多くの場合、組成物中に等張剤、例えば、糖、ポリアルコール、例えば、マンニトール、ソルビトール、塩化ナトリウムを含めるのが好ましいと考えられる。内部組成物の持続的吸収は、組成物中に吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを含めることによりもたらされ得る。

【０１５８】

無菌溶液は、必要とされる量の抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラグメント（またはコードポリヌクレオチドもしくはこれを含む細胞）を、必要に応じて上記で挙げた成分のうちの１つまたは組合せを有する適切な溶媒に組み込み、その後にフィルター滅菌することにより、調製することができる。概して、分散液は、活性化合物を、基本分散媒と上に挙げた他の成分のうち必要な成分とを含む無菌ビヒクルに組み込むことによって調製される。無菌注射溶液の調製用の無菌粉末の場合、調製方法は真空乾燥及びフリーズドライであり、これらを用いることで事前に滅菌濾過した溶液から活性成分及び任意の追加的な所望成分を含む粉末がもたらされる。

【０１５９】

１つの実施形態において、医薬組成物は、抗体またはその抗原結合フラグメントを身体からの急速な除去に対し保護する担体（例えば、留置用剤及びマイクロカプセル化送達システムを含めた制御放出製剤）を用いて調製される。生分解性、生体適合性のポリマー、例えば、エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸を使用することができる。このような製剤を調製するための方法は、当業者に明らかであると考えられる。材料も商業的に入手することができる。リポソーム懸濁液も、医薬的に許容される担体として使用することができる。これらは、当業者に公知の方法に従って調製することができる。

【０１６０】

投与を容易にし薬用量を均一にするために、薬用量単位形態で医薬組成物を製剤化することは有利であり得る。本明細書で使用する場合、薬用量単位形態とは、治療する対象の

単位薬用量に適した物理的に別々の単位を指し、各単位は、必要とされる医薬担体と共に所望の効果をもたらすように計算された活性の抗体またはその抗原結合フラグメントの所定量を含む。薬用量単位形態の仕様は、抗体またはその抗原結合フラグメントに特有の特徴、達成すべき特定の治療効果、及び個体の治療向けにこのような活性の抗体またはその抗原結合フラグメントを配合する技術分野に固有の制約によって規定され、これらに直接的に依存する。

【０１６１】

医薬組成物は、容器、パック、またはディスペンサー、例えばシリンジ、例えば充填済みシリンジ内に、投与の説明書と共に含めることができる。

【０１６２】

本発明の医薬組成物は、任意の医薬的に許容される塩、エステル、もしくはこのようなエステルの塩、または、ヒトを含む動物に投与したときに、生物学的活性の抗体もしくはその抗原結合フラグメントを（直接的もしくは間接的に）提供することができる他の任意の化合物を包含する。

【０１６３】

本発明は、本明細書で説明されているＷｎｔサロゲート分子の医薬的に許容される塩を含む。「医薬的に許容される塩」という用語は、本発明の化合物の生理的かつ医薬的に許容される塩、すなわち、親化合物の所望の生物学的活性を保持し、所望でない毒性学的効果をそれに付与しない塩を指す。様々な医薬的に許容される塩が当技術分野で公知であり、例えば、“Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ”，１７ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ａｌｆｏｎｓｏ Ｒ．Ｇｅｎｎａｒｏ（Ｅｄ．），Ｍａｒｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｅａｓｔｏｎ，ＰＡ，ＵＳＡ，１９８５（及び最近の版）、“Ｅｎｃｙｃｌｏｐａｅｄｉａ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ”，３ｒｄ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｊａｍｅｓ Ｓｗａｒｂｒｉｃｋ（Ｅｄ．），Ｉｎｆｏｒｍａ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ ＵＳＡ（Ｉｎｃ．），ＮＹ，ＵＳＡ，２００７、及びＪ．Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．６６：２（１９７７）で説明されている。また、好適な塩の概説については、“Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓａｌｔｓ：Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ，Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ，ａｎｄ Ｕｓｅ”（Ｓｔａｈｌ ａｎｄ Ｗｅｒｍｕｔｈ）（Ｗｉｌｅｙ－ＶＣＨ，２００２）も参照。

【０１６４】

医薬的に許容される塩基付加塩は、金属またはアミン、例えば、アルカリ金属及びアルカリ土類金属、または有機アミンを用いて形成される。カチオンとして使用される金属は、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなどを含む。アミンは、Ｎ－Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、エチレンジアミン、Ｎ－メチルグルカミン、及びプロカインを含む（例えば、Ｂｅｒｇｅ ｅｔ ａｌ．，“Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓａｌｔｓ，”Ｊ．Ｐｈａｒｍａ Ｓｃｉ．，１９７７，６６，１１９を参照）。前述の酸性化合物の塩基付加塩は、従来的な方法で、遊離酸形態を、塩を産生するのに十分な量の所望の塩基に接触させることにより、調製される。遊離酸形態は、従来的な方法で、塩形態を酸に接触させ遊離酸を単離することにより、再生することができる。遊離酸形態は、それぞれの塩形態とは、ある特定の物理的特性（例えば、極性溶媒における可溶性）が多少異なるが、他の点では、本発明の目的において、塩はそれぞれの遊離酸と同等である。

【０１６５】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される医薬組成物は、本明細書で説明されているＷｎｔサロゲート分子またはその医薬的に許容される塩の治療有効量を、医薬的に許容される担体、希釈剤、及び／または賦形剤（例えば、食塩水、リン酸緩衝食塩水、リン酸及びアミノ酸、ポリマー、ポリオール、糖、緩衝液、保存料、及びその他のタンパク質）と混和して含む。例示的なアミノ酸、ポリマー、及び糖などは、オクチルフェノキシポリエトキシエタノール化合物、ポリエチレングリコールモノステアラート化合物、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、スクロース、フルクトース、デキストロー

ス、マルトース、グルコース、マンニトール、デキストラン、ソルビトール、イノシトール、ガラクチトール、キシリトール、ラクトース、トレハロース、ウシまたはヒト血清アルブミン、シトラート、アセタート、リンゲル液、ハンクス液、システイン、アルギニン、カルニチン、アラニン、グリシン、リジン、バリン、ロイシン、ポリビニルピロリドン、ポリエチレン、及びグリコールである。好ましくは、この製剤は４℃で少なくとも６ヵ月間安定性である。

【０１６６】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供される医薬組成物は緩衝液を含み、例えば、リン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）またはリン酸ナトリウム／硫酸ナトリウム、トリス緩衝液、グリシン緩衝液、滅菌水、及び当業者に公知のその他の緩衝液、例えば、Ｇｏｏｄ ｅｔ ａｌ．（１９６６）Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ５：４６７によって説明されているものを含む。緩衝液のｐＨは、６．５～７．７５、好ましくは７～７．５、最も好ましくは７．２～７．４の範囲内とすることができる。

【０１６７】

使用方法

本開示は、例えば、Ｗｎｔシグナリング経路を調節して、例えば、Ｗｎｔシグナリングを増加させるために、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子を使用するための方法、及び本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子を様々な治療設定で投与する方法も提供する。本明細書では、Ｗｎｔサロゲート分子を用いた治療方法が提供される。１つの実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、Ｗｎｔシグナリングの不適切性または脱制御、例えば、Ｗｎｔシグナリングの増加または低減に関係する疾患を有する対象に提供される。

【０１６８】

Ｗｎｔシグナリング経路の増加及び関連する治療方法

ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、組織または細胞内のＷｎｔシグナリングを増加させるために使用することができる。したがって、いくつかの態様において、本発明は、組織または細胞内のＷｎｔシグナリングを増加させるまたはＷｎｔシグナリングを増加するための方法であって、組織または細胞を、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子またはその医薬的に許容される塩の有効量に接触させることを含み、Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路アゴニストである、方法を提供する。いくつかの実施形態において、接触は、ｉｎ ｖｉｔｒｏ、ｅｘ ｖｉｖｏ、またはｉｎ ｖｉｖｏで行う。特定の実施形態において、細胞は培養細胞であり、接触はｉｎ ｖｉｔｒｏで行う。ある特定の実施形態において、本方法はさらに、組織または細胞を、１つ以上のＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドに接触させることを含む。

【０１６９】

関連する態様において、本発明は、組織または細胞内のＷｎｔシグナリングを増加させるための方法であって、組織または細胞を、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子を含むポリヌクレオチドの有効量に接触させることを含む、方法を提供する。ある特定の実施形態において、標的組織または細胞を、Ｗｎｔポリペプチドまたは Ｎｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドにも接触させる。ある特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、ＤＮＡまたはｍＲＮＡ（例えば、修飾ｍＲＮＡ）である。特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、５’キャップ配列及び／または３’テーリング配列（例えば、ポリＡテール）をさらに含む修飾ｍＲＮＡである。他の実施形態において、ポリヌクレオチドは、コード配列と作用可能に結合したプロモーターを含む発現カセットである。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列、及びＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列は、同じポリヌクレオチド内に存在する。

【０１７０】

関連する態様において、本発明は、組織または細胞内のＷｎｔシグナリングを増加させるための方法であって、組織または細胞を、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列

を含むベクターの有効量に接触させることを含む、方法を提供する。ある特定の実施形態において、組織または細胞を、ＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列を含むベクターにも接触させる。ある特定の実施形態において、ベクターは発現ベクターであり、核酸配列と作用可能に結合したプロモーターを含むことができる。特定の実施形態において、ベクターはウイルスベクターである。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列、及びＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列は、同じベクター（例えば、同じ発現カセット）内に存在する。

【０１７１】

関連する態様において、本発明は、組織内のＷｎｔシグナリングを増加させるための方法であって、組織を、本発明のＷｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列を含む細胞の有効量に接触させることを含む、方法を提供する。ある特定の実施形態において、組織を、ＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列を含む細胞にも接触させる。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列、及びＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列は、同じ細胞内に存在する。特定の実施形態において、細胞は異種細胞であるか、または治療を行う対象から得られた自家細胞である。ある特定の実施形態において、細胞は、Ｗｎｔサロゲート分子またはＷｎｔポリペプチドもしくはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする発現カセットを含むベクターを形質導入したものである。特定の実施形態において、細胞は幹細胞（例えば、脂肪由来幹細胞または造血幹細胞）である。

【０１７２】

本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子は、例えば、標的とされる細胞、組織、または臓器内のＷｎｔシグナリングを増加させることにより、疾患、障害、または状態を治療するために使用することができる。したがって、いくつかの態様において、本発明は、その必要のある対象における疾患または状態、例えば、Ｗｎｔシグナリングの低減に関連する疾患もしくは障害、またはＷｎｔシグナリングの増加が治療利益をもたらすと考えられる疾患もしくは障害を治療するための方法であって、対象を、本開示の組成物の有効量に接触させることを含む、方法を提供する。特定の実施形態において、組成物は、以下のいずれかを含む医薬組成物である：Ｗｎｔサロゲート分子；Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチド、例えば、ＤＮＡまたはｍＲＮＡ、任意選択で修飾ｍＲＮＡ；Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列を含むベクター、例えば、発現ベクターまたはウイルスベクター；あるいはＷｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列を含む細胞、例えば、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする発現ベクターまたはウイルスベクターを形質導入した細胞。特定の実施形態において、疾患または状態は、病理学的な疾患もしくは障害、または損傷（例えば、創傷から生じる損傷）である。ある特定の実施形態において、創傷は、別の治療的処置の結果であり得る。ある特定の実施形態において、疾患または状態は、組織の修復、治癒、もしくは再生の不良を含み、または組織の修復、治癒、もしくは再生の増加から利益を得ると考えられる。いくつかの実施形態において、接触はｉｎ　ｖｉｖｏで行われ、すなわち、主題組成物が対象に投与される。

【０１７３】

ある特定の実施形態において、本方法はさらに、対象を、１つ以上のＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドを含む医薬組成物に接触させることを含む。本開示は、対象を、第１の活性薬剤としてのＷｎｔサロゲート分子を送達するための第１の分子と、ＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドを送達するための第２の分子とに接触させることを企図している。第１及び第２の分子は、同じタイプの分子であっても異なるタイプの分子であってもよい。例えば、ある特定の実施形態において、第１及び第２の分子はそれぞれ、以下のタイプの分子から独立に選択され得る：ポリペプチド、有機小分子、第１及び第２の活性薬剤をコードする核酸（任意選択でＤＮＡまたはｍＲＮＡ、任意選択で修飾ＲＮＡ）、第１または第２の活性薬剤をコードする核酸配列を含むベクター（任意選択で発現ベクターまたはウイルスベクター）、ならびに第１または第２の活性薬

剤をコードする核酸配列を含む細胞（任意選択で発現カセット）。
【０１７４】
関連する態様において、本発明は、疾患または状態、例えば、Ｗｎｔシグナリングの低減に関連する疾患もしくは障害、またはＷｎｔシグナリングの増加が治療利益をもたらすと考えられる疾患もしくは障害を治療するための方法であって、その必要のある対象を、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドの有効量を含む医薬組成物に接触させることを含む、方法を提供する。ある特定の実施形態において、対象を、ＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドの有効量を含む医薬組成物にも接触させる。ある特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、ＤＮＡまたはｍＲＮＡ（例えば、修飾ｍＲＮＡ）である。特定の実施形態において、ポリヌクレオチドは、５’キャップ配列及び／または３’テーリング配列（例えば、ポリＡテール）をさらに含む修飾ｍＲＮＡである。他の実施形態において、ポリヌクレオチドは、コード配列と作用可能に結合したプロモーターを含む発現カセットである。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列、及びＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列は、同じポリヌクレオチド内に存在する。
【０１７５】
関連する態様において、本発明は、疾患または状態、例えば、Ｗｎｔシグナリングの低減に関連する疾患もしくは障害、またはＷｎｔシグナリングの増加が治療利益をもたらすと考えられる疾患もしくは障害を治療するための方法であって、その必要のある対象を、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列を含むベクターの有効量を含む医薬組成物に接触させることを含む、方法を提供する。ある特定の実施形態において、対象を、ＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列を含むベクターの有効量を含む医薬組成物にも接触させる。ある特定の実施形態において、ベクターは発現ベクターであり、核酸配列と作用可能に結合したプロモーターを含むことができる。特定の実施形態において、ベクターはウイルスベクターである。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列、及びＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列は、同じベクター（例えば、同じ発現カセット）内に存在する。
【０１７６】
関連する態様において、本発明は、疾患または状態、例えば、Ｗｎｔシグナリングの低減に関連する疾患もしくは障害、またはＷｎｔシグナリングの増加が治療利益をもたらすと考えられる疾患もしくは障害を治療するための方法であって、その必要のある対象を、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列を含む細胞の有効量を含む医薬組成物に接触させることを含む、方法を提供する。ある特定の実施形態において、対象を、ＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列を含む細胞にも接触させる。ある特定の実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子をコードする核酸配列、及びＷｎｔポリペプチドまたはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする核酸配列は、同じ細胞内に存在する。特定の実施形態において、細胞は異種細胞であるか、または治療を行う対象から得られた自家細胞である。ある特定の実施形態において、細胞は、Ｗｎｔサロゲート分子またはＷｎｔポリペプチドもしくはＮｏｒｒｉｎポリペプチドをコードする発現カセットを含むベクターを形質導入したものである。特定の実施形態において、細胞は幹細胞（例えば、脂肪由来幹細胞または造血幹細胞）である。
【０１７７】
Ｗｎｔシグナリングは、幹細胞の発生プロセス及び維持において重要な役割を担っている。Ｗｎｔシグナルの再活性化は、損傷及び疾患の後のほとんどの組織の再生及び修復に関連する。Ｗｎｔサロゲート分子は、損傷及び疾患に応答して治癒及び組織修復の利益を提供することが期待される。組織ダメージ及び喪失の原因としては、限定されるものではないが、加齢、変性、遺伝性状態、感染症及び炎症、外傷性損傷、毒素／代謝誘発性毒性、またはその他の病理学的状態が挙げられる。Ｗｎｔシグナル及びＷｎｔシグナルのエン

ハンサーは、成体の組織常在性幹細胞を活性化することが示されている。いくつかの実施形態において、本発明の化合物は、病的なまたはダメージを受けた組織の治療で使用するために、組織再生で使用するために、細胞の成長及び増殖で使用するために、ならびに／または組織操作で使用するために投与される。

【０１７８】

Ｗｎｔ経路の変異に関連するヒト疾患は、疾患の治療及び防止においてＷｎｔシグナルの強化の強力なエビデンスを提供する。前臨床ｉｎ ｖｉｖｏ及びｉｎ ｖｉｔｒｏ試験からは、Ｗｎｔシグナルが多くの疾患状態に関与するさらなるエビデンスがもたらされており、様々なヒト疾患におけるＷｎｔサロゲート分子の利用をさらに支持するものである。例えば、本発明の組成物は、骨の成長または再生、骨グラフト、骨折の治癒、骨粗鬆症及び骨粗鬆症性骨折、脊椎癒合、椎骨圧迫骨折を含めた脊髄損傷、術前脊椎手術最適化、整形外科デバイスの骨結合、腱－骨結合、歯の成長及び再生、歯科インプラント、歯周病、顎顔面再構築、ならびに顎の骨壊死の治療を促進するまたは増加させるのに使用することができる。また、本発明の組成物は、脱毛症の治療；感覚器官の再生強化、例えば、難聴の治療（内及び外有毛細胞再生、前庭機能低下の治療を含む）、黄斑変性の治療、網膜症（硝子体網膜症、糖尿病性網膜症、その他の網膜変性疾患を含む）、フックスジストロフィー、その他の角膜疾患などの治療；卒中、外傷性脳損傷、アルツハイマー病、多発性硬化症、多発性ジストロフィー（ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ）、サルコペニアまたはカヘキシーの結果としての筋萎縮、及び血液脳関門の変性または完全性に影響を及ぼすその他の状態の治療で使用することもできる。また、本発明の組成物は、口腔粘膜炎の治療、短腸症候群、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）（クローン病（ＣＤ）及び潰瘍性大腸炎（ＵＣ）、特に瘻孔形成を伴うＣＤを含む）、その他の胃腸管障害の治療；メタボリックシンドローム、脂質異常症の治療、糖尿病の治療、膵炎、膵外及び膵内分泌組織がダメージを受けている状態の治療；表皮再生強化が所望される状態、例えば、表皮創傷治癒、糖尿病性足部潰瘍、歯、爪、または皮膚の形成不全を伴う症候群など、血管新生が有益な状態の治療；心筋梗塞、冠動脈疾患、心不全の治療；造血細胞の成長の強化、例えば、骨髄、動員末梢血からの造血幹細胞移植の強化、免疫不全、移植片対宿主病などの治療；急性腎損傷、慢性腎疾患の治療；肺疾患、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、肺線維症（特発性肺線維症を含む）の治療、肺組織の再生強化で使用することもできる。また、本発明の組成物は、肝細胞の再生（例えば、肝再生）の強化、肝硬変の治療、肝移植の強化、急性肝不全の治療、Ｃ型もしくはＢ型肝炎ウイルス感染を伴うまたは抗ウイルス薬療法後の慢性肝疾患、アルコール性肝炎を含めたアルコール性肝疾患、肝脂肪化または脂肪性肝炎を伴う非アルコール性肝疾患などの治療で使用することもできる。本発明の組成物は、限定されるものではないが、再生的細胞成長が所望される状態を含めた、疾患及び障害を治療することができる。

【０１７９】

Ｗｎｔシグナリング構成要素における機能喪失または機能獲得変異を伴うヒト遺伝学により、骨成長のためのＷｎｔシグナル強化を支持する強力なエビデンスが示されている。骨成長の強化が所望される状態としては、限定されるものではないが、骨折、グラフト、人工装具周囲の骨成長、骨粗鬆症、骨粗鬆症性骨折、脊椎癒合、椎骨圧迫骨折、脊椎手術のための術前最適化、顎の骨壊死、歯科インプラント、歯周病、顎顔面再構築などが挙げられる。Ｗｎｔサロゲート分子は、骨再生の促進に極めて重要なＷｎｔシグナルを強化及び促進する。骨組織を再生するための方法は本発明の化合物の投与から利益を得、投与は全身的であっても局在的であってもよい。いくつかの実施形態において、骨髄細胞は本発明の分子に曝露され、その結果骨髄細胞内の幹細胞が活性化される。

【０１８０】

いくつかの実施形態において、応答性の細胞集団（例えば、骨髄、骨前駆細胞、骨幹細胞など）を本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子の有効用量に接触させることにより、骨再生が強化される。骨組織を再生するための方法はＷｎｔサロゲート分子の投与から利益を得、投与は全身的であっても局在的であってもよい。いくつかのこのような

実施形態において、接触はｉｎ　ｖｉｖｏで実施される。他のこのような実施形態において、接触はｅｘ　ｖｉｖｏで実施される。分子は、例えば、任意選択で生分解性の、そして任意選択で活性作用物質の徐放を提供するマトリックス上に装填することにより、作用部位に局在化させることができる。マトリックス担体としては、以下に限定されないが、吸収性コラーゲンスポンジ、セラミックス、ヒドロゲル、ポリマーミクロスフェア、ナノ粒子、骨セメントなどが挙げられる。

【０１８１】

特定の実施形態において、本明細書で開示されている１つ以上のＷｎｔサロゲート分子（またはＷｎｔサロゲート分子をコードするポリヌクレオチド、またはＷｎｔサロゲート分子をコードするポリヌクレオチドを含むベクターもしくは細胞）を含む組成物は、限定されるものではないが、以下のいずれかを含めた骨疾患もしくは骨障害の治療もしくは防止に、または、限定されるものではないが、以下のいずれかに関連する損傷の治療もしくは防止に使用される：骨粗鬆症、骨粗鬆症性骨折、脊椎圧迫骨折を含めた骨折、癒合不全骨折、癒合遅延骨折、脊椎固定、骨壊死、顎、臀部、大腿骨頭などの骨壊死、（例えば、部分的または全体的な膝または臀部の置換後の回復を加速するための）移植物の骨結合、骨形成不全症、骨移植、腱修復、顎顔面再構築、歯科インプラント、遺伝性疾患、変性、加齢、薬物、または損傷に起因するその他の全ての骨障害または骨異常。１つの実施形態において、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、及びＦｚｄ７、ならびにＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合するＷｎｔサロゲート分子は、任意の骨疾患または骨障害の治療または防止のために使用される。１つの実施形態において、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８、ならびにＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６に結合するＷｎｔサロゲート分子は、任意の骨疾患または骨障害の治療または防止のために使用される。さらなるＦｚｄ受容体に結合する他のＦｚｄ分子も、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６結合物質と共に使用することができる。

【０１８２】

特定の実施形態において、本明細書で開示されている組成物及び方法は、対象における骨ミネラル密度の増加、骨体積の増加（例えば、脛骨及び／または大腿骨の体積）、（例えば、骨梁部または大腿骨中央骨幹の）皮質厚の増加、ミネラル付着率の増加、（例えば、骨内の）骨芽細胞数の増加及び／または破骨細胞数の減少、骨合成の増加、骨折ポイントに対する極限荷重の増加、骨折に対する骨耐性の改善、骨吸収の減少、骨粗鬆症に関連する骨喪失の減少、あるいは骨の生化学的強度の増加のために使用することができる。１つの実施形態において、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、及びＦｚｄ７に結合するＷｎｔサロゲート分子は、示されているこれらの使用法のいずれかで使用される。１つの実施形態において、Ｆｚｄ１、Ｆｚｄ２、Ｆｚｄ５、Ｆｚｄ７、及びＦｚｄ８に結合するＷｎｔサロゲート分子は、示されているこれらの使用法のいずれかで使用される。

【０１８３】

骨疾患または骨障害の治療または防止のための方法を含めた本明細書で開示されている方法は、その必要のある対象に、Ｗｎｔサロゲート分子及び骨吸収抑制剤の両方を提供することを含む方法を含む。ある特定の実施形態において、当該方法は、骨粗鬆症、任意選択で閉経後骨粗鬆症、の治療のために使用される。

【０１８４】

また、本開示は、その必要のある対象における骨吸収を阻害または低減するための方法であって、対象にＷｎｔサロゲート分子の有効量を提供することを含み、Ｗｎｔサロゲート分子がＷｎｔシグナリング経路のアゴニストである、方法も提供する。ある特定の実施形態において、当該方法はさらに、対象に骨吸収抑制剤を提供することを含む。ある特定の実施形態において、対象は、骨粗鬆症、任意選択で閉経後骨粗鬆症、と診断されているか、またはそのリスクがある。様々な骨吸収抑制剤が当技術分野で知られており、限定されるものではないが、本明細書で開示されているものがこれに含まれる。

【０１８５】

Ｗｎｔサロゲート分子が別の治療剤（例えば、骨吸収抑制剤）と組み合わせて対象に提

供される場合、２つの薬剤は、同じ医薬組成物で提供されても異なる医薬組成物で提供されてもよい。２つの薬剤は、同じ時間に、異なる時間に、例えば、同時に、連続的に、または重複するもしくは重複しない期間中に対象に提供することができる。ある特定の実施形態において、２つの薬剤は、重複する期間中、対象内で治療的に活性である。

【０１８６】

本明細書で開示されている１つ以上のＷｎｔサロゲート分子（またはＷｎｔサロゲート分子をコードするポリヌクレオチド、またはＷｎｔサロゲート分子をコードするポリヌクレオチドを含むベクターもしくは細胞）を含む組成物は、骨格組織欠損のｉｎ　ｖｉｖｏ治療で使用することができる。「骨格組織欠損」とは、骨または他の骨結合組織の欠損であって、どのように欠損が生じたかにかかわらず、例えば、外科的介入、腫瘍の除去、潰瘍、移植、骨折、または他の外傷もしくは変性状態のいずれかの結果として、骨または結合組織の回復が所望される任意の部位における欠損を意味する。本発明の組成物は、結合組織に対する軟骨機能の回復、軟骨組織の異常または病変の修復、例えば、変性摩耗及び関節炎、組織への外傷、半月板断裂の置換、半月板切除術、靱帯裂傷による関節脱臼、関節のアラインメント不良、骨折、または遺伝性疾患によるものの修復のためのレジメンの一部として使用することができる。

【０１８７】

Ｗｎｔサロゲート分子は、歯周病の治療にも使用することができる。歯周病は、歯喪失の主因であり、複数の全身状態に関連づけられる。いくつかの実施形態において、応答性細胞集団を接触させることにより、歯または基底骨の再生が強化される。いくつかのこのような実施形態において、接触はｉｎ　ｖｉｖｏで実施される。その他のこのような実施形態において、接触はｅｘ　ｖｉｖｏで実施され、続いて、活性化された幹細胞または前駆細胞の移植が行われる。分子は、例えば、任意選択で生分解性の、そして任意選択で活性作用物質の徐放を提供するマトリックス上に装填することにより、作用部位に局在化させることができる。マトリックス担体としては、限定されるものではないが、吸収性コラーゲンスポンジ、セラミックス、ヒドロゲル、骨セメント、ポリマーミクロスフェア、ナノ粒子などが挙げられる。

【０１８８】

複数の試験により、Ｗｎｔシグナリング及びＲ－スポンジンの生物学は、損傷、加齢、または変性の後の内耳における感覚有毛細胞の再生を促進できることが示されている。難聴または前庭機能低下に関与する内耳における感覚有毛細胞の喪失も、本発明の組成物から利益を得ることができる。内耳において、聴覚器官は、音の振動を電気インパルスに変換するのに必要とされる機械感受性の有毛細胞を収容している。半規管（ＳＳＣ）、卵形嚢、及び球形嚢から構成される前庭器官も、頭部の位置及び動きを検出するために感覚有毛細胞を含む。本発明の組成物は、聴覚再生の強化のために、例えば、注入で、マトリックスもしくは他のデポーシステムで、または、その他の耳への局所的適用で、使用することができる。

【０１８９】

Ｗｎｔサロゲート分子は、網膜組織の再生にも使用することができる。成体哺乳類の網膜では、ミュラーグリア細胞は、例えばｉｎ　ｖｉｖｏの神経毒性損傷後に、光受容体を含めた網膜細胞を再生することができる。Ｗｎｔシグナリング及びＷｎｔシグナリングのエンハンサーは、損傷後または変性中のミュラーグリア由来網膜前駆細胞の増殖を促進することができる。本発明の組成物は、眼内の組織及びその他の細胞タイプの再生に使用することもできる。例えば、加齢性黄斑変性（ＡＭＤ）、その他の網膜変性疾患、角膜疾患、フックスジストロフィー、硝子体網膜症、遺伝性疾患などは、本発明の組成物から利益を得ることができる。ＡＭＤは、中心視野及び視力の進行的な減少によって特徴づけられる。フックスジストロフィーは、角膜内皮細胞の進行的な喪失によって特徴づけられる。Ｗｎｔシグナル及びＷｎｔシグナルの強化は、眼組織内の角膜内皮、網膜上皮などの再生を促進することができる。他の実施形態において、本発明の組成物は、黄斑変性の網膜再生及び治療のために、例えば、注入で、マトリックスもしくは他のデポーシステムで、ま

たは眼へのその他の局所的適用で、使用することができる。

【０１９０】

肝細胞の恒常的再生における特定の増殖細胞集団が系統追跡研究を通じて特定されており、その例が中心周囲領域内のアキシン２陽性細胞である。系統追跡研究はさらなる潜在的な肝前駆細胞も特定しており、限定されるものではないが、Ｌｇｒ陽性細胞がこれに含まれる。自己再生肝細胞、ならびにＬｇｒ５陽性細胞及びアキシン２陽性細胞を含めたその他の潜在的前駆細胞集団は、損傷後にＷｎｔシグナル及び／またはＲ－スポンジンに応答した再生が可能であることが明らかになっている。急性肝損傷及び慢性肝疾患における多数の前臨床モデルにより、肝細胞の回復及び再生はＷｎｔシグナルから利益を得ることが示された。

【０１９１】

ある特定の実施形態において、本明細書で開示されている１つ以上のＷｎｔサロゲート分子（またはＷｎｔサロゲート分子をコードするポリヌクレオチド、またはＷｎｔサロゲート分子をコードするポリヌクレオチドを含むベクターもしくは細胞）を含む組成物は、肝再生の促進、線維化の低減、及び／または肝機能の改善に使用される。ある特定の実施形態において、本明細書で開示されている組成物及び方法は、肝臓重量の増加、肝臓対体重比の増加、肝臓内のＰＣＮＡ及びｐＨ３陽性核数の増加、肝臓内のＫｉ６７及び／もしくはサイクリンＤ１の発現の増加、肝細胞の増殖及び／もしくは有糸分裂の増加、慢性肝損傷後の線維化の減少、または肝細胞機能の増加に使用される。

【０１９２】

特定の実施形態において、本発明の組成物は、急性肝不全、急性アルコール性肝損傷の治療、Ｃ型またはＢ型ウイルス肝炎感染を伴うまたは抗ウイルス薬療法後の慢性肝疾患、慢性アルコール性肝疾患、アルコール性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患及び非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）の治療、肝硬変及び全ての原因の慢性肝疾患の治療、ならびに肝細胞の再生の強化で使用することができる。肝組織を再生するための方法は本発明の化合物の投与から利益を得、投与は全身的であっても局在的であってもよい。このような方法としては、限定されるものではないが、全身投与の方法及び局在化投与の方法、例えば、肝組織への注射により、肝臓につながる静脈または血管への注射により、持続放出製剤の留置などによる局在化投与が挙げられる。

【０１９３】

特定の実施形態において、本明細書で開示されている１つ以上のＷｎｔサロゲート分子（またはＷｎｔサロゲート分子をコードするポリヌクレオチド、またはＷｎｔサロゲート分子をコードするポリヌクレオチドを含むベクターもしくは細胞）を含む組成物は、限定されるものではないが、以下を含めた肝疾患または肝障害の治療もしくは防止に、または以下のいずれかに起因する肝傷害もしくは肝障害の治療もしくは防止に使用される：急性肝不全（あらゆる原因）、慢性肝不全（あらゆる原因）、肝硬変、肝線維症（あらゆる原因）、門脈圧亢進症、アルコール性肝炎を含めたアルコール性肝疾患、非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）、非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）（脂肪肝）、アルコール性肝炎、Ｃ型肝炎ウイルス誘発性肝疾患（ＨＣＶ）、Ｂ型肝炎ウイルス誘発性肝疾患（ＨＢＶ）、その他のウイルス性肝炎（例えば、Ａ型肝炎ウイルス誘発性肝疾患（ＨＡＶ）及びＤ型肝炎ウイルス誘発性肝疾患（ＨＤＶ））、原発性胆汁性肝硬変、自己免疫性肝炎、肝臓手術、肝損傷、肝移植、肝臓の手術及び移植における「過小グラフト（ｓｍａｌｌ　ｆｏｒ　ｓｉｚｅ）」症候群、先天性肝疾患及び肝障害、遺伝性疾患、変性、加齢、薬物、または損傷に起因するその他の任意の肝障害または検出。

【０１９４】

Ｗｎｔシグナルは、様々な上皮組織の再生において重要な役割を担っている。様々な表皮状態は、本発明の化合物を用いた処置から利益を得る。粘膜炎は、胃腸管の内側を覆う上皮細胞の迅速な分裂が途絶したときに生じ、粘膜組織が潰瘍及び感染を受けやすい状態で放置される。口内を覆う上皮内層部分は、口腔粘膜と呼ばれ、身体の中で最も敏感な部分の１つであり、化学療法及び放射線に対し特に脆弱である。口腔粘膜炎は、癌治療にお

いて、詳細には化学療法及び放射線において、おそらくは最も一般的な衰弱性の合併症である。加えて、本発明の組成物は、短腸症候群、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、またはその他の胃腸管障害の治療にも利益をもたらし得る。その他の表皮状態としては、表皮創傷治癒、糖尿病性足部潰瘍、歯、爪、または皮膚の形成不全に関係する症候群などが挙げられる。本発明の分子は、全てのこのような状態で使用することができ、このとき再生細胞は本発明の化合物に接触される。上皮組織を再生するための方法は本発明の化合物の投与から利益を得、投与は全身的であっても局在的であってもよい。接触は、例えば、局所的（皮内、皮下を含む）であり、ゲル、ローション、クリームなどにおいて、標的部位などに適用され得る。

【０１９５】

ＷｎｔシグナルならびにＷｎｔシグナルの強化及び促進は、皮膚及び胃腸管に加えて、前臨床モデルにおける膵臓、腎臓、及び肺を含めた組織の修復及び再生でも重要な役割を担っている。Ｗｎｔサロゲート分子は、膵外分泌部及び膵外分泌部、腎臓、または肺に影響を及ぼす様々な疾患状態に利益をもたらし得る。Ｗｎｔサロゲート分子は、メタボリックシンドロームの治療、糖尿病の治療、急性または慢性の膵炎、膵外分泌機能不全の治療、急性腎損傷、慢性腎疾患の治療、限定されるものではないが、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、肺線維症、詳細には特発性肺線維症（ＩＰＦ）、及び肺上皮組織の喪失を引き起こすその他の状態を含めた肺疾患の治療で使用することができる。これらの組織を再生するための方法は本発明の化合物の投与から利益を得、投与は全身的であっても局在的であってもよい。

【０１９６】

他の発生因子経由のシグナリングと協働した表皮Ｗｎｔシグナリングは、成人の毛包再生に極めて重要である。脱毛は一般的な問題であり、アンドロゲン性脱毛症（しばしば男性型脱毛症と呼ばれる）は、男性における脱毛の最も一般的な形態である。いくつかの実施形態において、応答性細胞集団を本発明の分子に接触させることにより、毛包再生が強化される。いくつかのこのような実施形態において、接触はｉｎ　ｖｉｖｏで実施される。他のこのような実施形態において、接触はｅｘ　ｖｉｖｏで実施される。当該分子は、例えば、局所的なローション、ゲル、クリームなどで作用部位に局在化させることができる。

【０１９７】

卒中、外傷性脳損傷、アルツハイマー病、多発性硬化症、及び血液脳関門（ＢＢＢ）に影響を及ぼすその他の状態は、Ｗｎｔサロゲート分子を用いて治療することができる。血管新生は、酸素及び栄養を身体全体にわたる多くの組織に供給することを確実にするために極めて重要であり、また中枢神経系にとっては、神経組織が低酸素症及び虚血に対し敏感であることから、特に重要である。ＢＢＢを形成する中枢神経系内皮細胞は、タイトジャンクションによって共に保持されている高分極性の細胞であり、かつ特定のトランスポーターを発現するという点において、非神経組織内の内皮細胞とは異なる。Ｗｎｔシグナリングは、中枢神経系の血管形成及び／または機能を制御する。ＢＢＢが損なわれている状態は、本発明の化合物の投与から利益を得ることができ、投与は、全身的であっても、例えば、直接注射、髄腔内投与、徐放性製剤の植込みなどによって局在的であってもよい。加えて、Ｗｎｔシグナルは、神経発生に積極的に関与しており、損傷後の神経保護という役割を担う。本発明の組成物は、脊髄損傷、その他の脊髄疾患、卒中、外傷性脳損傷などの治療でも使用することができる。

【０１９８】

Ｗｎｔシグナルは、血管新生でも役割を担う。Ｗｎｔサロゲート分子は、血管新生が有益であるような状態や、心筋梗塞、冠動脈疾患、心不全、糖尿病性網膜症などの治療や、遺伝性疾患に由来する状態に利益をもたらし得る。これらの組織を再生するための方法は本発明の化合物の投与から利益を得、投与は全身的であっても局在的であってもよい。

【０１９９】

ある特定の実施形態において、本発明の方法は、例えば、ダメージを受けた、または組

織もしくは細胞の低減もしくは喪失を受けた組織における、組織再生を促進する。喪失またはダメージは、細胞数を減少させる任意の事象とすることができ、このような事象には疾患または損傷が含まれる。例えば、事故、自己免疫障害、治療の副作用、または疾患状態は、外傷を構成すると考えられる。組織再生は、組織内の細胞数を増加させ、好ましくは組織の細胞間の接続が再確立するのを可能にし、より好ましくは組織の機能性が回復するのを可能にする。

【０２００】

「投与する」または「導入する」または「提供する」という用語は、本明細書で使用する場合、組成物を対象の１つの細胞、複数の細胞、組織、及び／もしくは臓器に、または対象に送達することを指す。このような投与または導入は、ｉｎ ｖｉｖｏ、ｉｎ ｖｉｔｒｏ、またはｅｘ ｖｉｖｏで行うことができる。

【０２０１】

特定の実施形態において、医薬組成物は、非経口的に（例えば、静脈内に）、経口的に、直腸に、または注射によって投与される。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、局在的に（例えば、局所的または筋肉内に）投与される。いくつかの実施形態において、組成物は、標的組織に（例えば、骨、関節、耳組織、眼組織、胃腸管、皮膚、創傷部位、または脊髄に）投与される。本発明の方法は、ｉｎ ｖｉｖｏまたはｅｘ ｖｉｖｏで実施することができる。いくつかの実施形態において、標的細胞または組織をＷｎｔサロゲート分子に接触させることはｅｘ ｖｉｖｏで実施し、続いて、細胞または組織（例えば、活性化した幹細胞または前駆細胞）を対象に移植する。当業者は、治療する疾患または障害に基づき、適切な投与の部位及び経路を決定することができる。

【０２０２】

用量及び投薬レジメンは、医師によって容易に判断される様々な因子、例えば、疾患または障害の性質、対象の特徴、及び対象の病歴に依存し得る。特定の実施形態において、対象に投与または提供するＷｎｔサロゲート分子の量は、対象の体重当たり約０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇ、０．１ｍｇ／ｋｇ～約５００ｍｇ／ｋｇ、または０．１ｍｇ／ｋｇ～約５０ｍｇ／ｋｇの範囲内である。

【０２０３】

「治療」、「治療すること」などの用語は、本明細書では、所望の薬理学的及び／または生理学的効果を得ることを広く意味するように使用される。効果は、疾患もしくはその症状を完全もしくは部分的に防止する（例えば、疾患もしくはその症状が対象に生じる可能性を低減する）という観点で予防的であってもよく、かつ／または、疾患もしくは疾患に起因し得る有害作用を部分的もしくは完全に治癒するという観点で治療的であってもよい。本明細書で使用する場合、「治療」は、哺乳類における疾患の任意の治療を網羅し、（ａ）疾患にかかりやすい可能性があるがまだそれを有すると診断されていない対象において疾患が生じるのを防止すること；（ｂ）疾患を阻害すること、すなわちその発生を抑止すること；または（ｃ）疾患を緩和すること、すなわち、疾患の後退を引き起こすことを含む。治療剤（例えば、Ｗｎｔサロゲート分子）は、疾患または損傷の発症前、発症中、または発症後に投与することができる。進行中の疾患の治療は、その治療が患者の望ましくない臨床的症状を安定化または低減する場合、特に関心対象となる。このような治療は、患部組織が完全に機能喪失する前に実施することが望ましい。主題療法は、疾患の症候段階中に投与し、場合によっては疾患の症候段階後に投与することが望ましい。いくつかの実施形態において、主題方法は、治療利益（例えば、障害の発生の防止、障害の進行の停止、障害の進行の逆行など）をもたらす。いくつかの実施形態において、主題方法は、治療利益が達成されたことを検出するステップを含む。当業者は、このような治療有効性の尺度が、修飾されている特定の疾患に適用可能であることを理解し、治療有効性の測定に使用するのに適切な検出方法を認識するであろう。

【０２０４】

他の実施形態は、部分的には、細胞、組織、及びオルガノイドの成長または増殖を促進または強化するための、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子の使用であって

、これは、例えば、細胞または組織を、任意選択でＮｏｒｒｉｎまたはＲスポンジンポリペプチドと組み合わせて、１つ以上のＷｎｔサロゲートに接触させることによって行う。ある特定の実施形態において、細胞または組織は、ｅｘ　ｖｉｖｏ、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、またはｉｎ　ｖｉｖｏで接触させる。このような方法は、例えば、対象に移植またはグラフティングされる、治療使用のための細胞、組織、またはオルガノイドの生成に使用することができる。また、このような方法は、研究使用のための細胞、組織、またはオルガノイドの生成に使用することもできる。Ｗｎｔサロゲート分子は、非治療的方法、例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏの研究方法で広範に適用される。

【０２０５】

本発明は、ダメージを受けた組織（例えば、上記で論じられた組織）の組織再生のための方法であって、Ｗｎｔサロゲート分子を細胞に投与することを含む方法を提供する。Ｗｎｔサロゲート分子は、ｉｎ　ｖｉｖｏで細胞に直接投与しても、経口的に、静脈内に、または当技術分野で公知の他の方法により対象に投与しても、ｅｘ　ｖｉｖｏ細胞に投与してもよい。Ｗｎｔサロゲート分子がｅｘ　ｖｉｖｏ細胞に投与されるいくつかの実施形態において、このような細胞は、Ｗｎｔサロゲート分子を投与する前、後、または最中に、対象に移植され得る。

【０２０６】

Ｗｎｔシグナリングは、幹細胞培養の主要な構成要素である。例えば、ＷＯ２０１０／０９０５１３、ＷＯ２０１２／０１４０７６、Ｓａｔｏ　ｅｔ　ａｌ．，２０１１（ＧＡＳＴＲＯＥＮＴＥＲＯＬＯＧＹ　２０１１；１４１：１７６２－１７７２）、及びＳａｔｏ　ｅｔ　ａｌ．，２００９（Ｎａｔｕｒｅ　４５９，２６２－５）に記載されているような幹細胞培地。本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子は、このような幹細胞培地で使用するのに好適なＲスポンジン代替物であり、またはＲスポンジンと組み合わせることができる。

【０２０７】

したがって、１つの実施形態において、本開示は、幹細胞の増殖を強化するための方法であって、幹細胞を、本明細書で開示されている１つ以上のＷｎｔサロゲート分子に接触させることを含む、方法を提供する。１つの実施形態において、本開示は、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子を含む細胞培地を提供する。いくつかの実施形態において、細胞培地は、通常はＷｎｔまたはＲスポンジンを含む、当技術分野で既に知られている任意の細胞培地であって、ＷｎｔまたはＲスポンジンが、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子（１つまたは複数）で（完全にまたは部分的に）置き換えられているか、または補充されている、任意の細胞培地とすることができる。例えば、培地は、ＷＯ２０１０／０９０５１３、ＷＯ２０１２／０１４０７６、Ｓａｔｏ　ｅｔ　ａｌ．，２０１１（ＧＡＳＴＲＯＥＮＴＥＲＯＬＯＧＹ　２０１１；１４１：１７６２－１７７２）、及びＳａｔｏ　ｅｔ　ａｌ．，２００９（Ｎａｔｕｒｅ　４５９，２６２－５）に記載されているようなものであってもよく、これらはその全体が参照により本明細書に援用される。

【０２０８】

幹細胞培地は、多くの場合、追加の成長因子を含む。したがって、当該方法は、幹細胞に成長因子を供給することを追加的に含んでもよい。細胞培地で一般的に使用される成長因子としては、上皮成長因子（ＥＧＦ、（Ｐｅｐｒｏｔｅｃｈ））、形質転換成長因子（ＴＧＦ－アルファ、Ｐｅｐｒｏｔｅｃｈ）、塩基性線維芽細胞成長因子（ｂＦＧＦ、Ｐｅｐｒｏｔｅｃｈ）、脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）、肝細胞成長因子（ＨＧＦ）、及びケラチノサイト成長因子（ＫＧＦ、Ｐｅｐｒｏｔｅｃｈ、ＦＧＦ７の別名でも知られている）が挙げられる。ＥＧＦは、様々な培養された外胚葉及び中胚葉細胞に対する強力な分裂促進因子であり、ｉｎ　ｖｉｖｏ及びｉｎ　ｖｉｔｒｏでの特定の細胞の分化と、細胞培養におけるいくつかの線維芽細胞の分化とに、著明な効果を有する。ＥＧＦ前駆体は、タンパク質切断されて細胞を刺激する５３アミノ酸ペプチドホルモンを生成する、膜結合分子として存在する。ＥＧＦまたはその他の分裂促進成長因子は、このようにして幹細胞に供給され得る。幹細胞の培養中、分裂促進成長因子を２日に１

回培地に添加してもよく、一方、培地は４日に１回取り替えることが好ましい。概して、分裂促進因子は、ｉ）ＥＧＦ、ＴＧＦ－アルファ、及びＫＧＦ；ｉｉ）ＥＧＦ、ＴＧＦ－アルファ、及びＦＧＦ７；ｉｉｉ）ＥＧＦ、ＴＧＦ－アルファ、及びＦＧＦ；ｉｖ）ＥＧＦ及びＫＧＦ；ｖ）ＥＧＦ及びＦＧＦ７；ｖｉ）ＥＧＦ及びＦＧＦ；ｖｉｉ）ＴＧＦ－アルファ及びＫＧＦ；ｖｉｉｉ）ＴＧＦ－アルファ及びＦＧＦ７；またはｉｘ）ＴＧＦ－アルファ及びＦＧＦからなる群より選択される。ある特定の実施形態において、本開示は、例えば、任意選択で、本明細書に記載の１つ以上の成長因子またはその組合せと組み合わせて、本明細書で開示されているＷｎｔサロゲート分子を含む、幹細胞培地を含む。

【０２０９】

幹細胞の増殖を強化するこれらの方法は、例えば、ＷＯ２０１０／０９０５１３、ＷＯ２０１２／０１４０７６、Ｓａｔｏ ｅｔ ａｌ．，２０１１（ＧＡＳＴＲＯＥＮＴＥＲＯＬＯＧＹ ２０１１；１４１：１７６２－１７７２）、及びＳａｔｏ ｅｔ ａｌ．，２００９（Ｎａｔｕｒｅ ４５９，２６２－５）で説明されているように、幹細胞から新たなオルガノイド及び組織を成長させるのに使用することができる。

【０２１０】

いくつかの実施形態において、Ｗｎｔサロゲート分子は、幹細胞再生の強化に使用される。例示的な目的幹細胞としては、限定されるものではないが、筋サテライト細胞；造血幹細胞及びそれに由来する前駆細胞（米国特許第５，０６１，６２０号）；神経幹細胞（Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９９９） Ｃｅｌｌ ９６：７３７－７４９を参照）；胚幹細胞；間葉幹細胞；中胚葉幹細胞；肝臓幹細胞；脂肪組織由来幹細胞などが挙げられる。

【０２１１】

本発明の他の実施形態は、部分的には、１つ以上のＦｚｄ受容体またはＬＲＰ５もしくはＬＲＰ６受容体を発現する細胞または組織の存在を検出するための診断的適用に関する。したがって、本開示は、試料中の１つ以上のＦｚｄ受容体またはＬＲＰ５もしくはＬＲＰ６受容体を検出する方法、例えば、Ｆｚｄ１を発現する細胞または組織を検出する方法を提供する。このような方法は、限定されるものではないが、免疫組織化学検査（ＩＨＣ）、免疫細胞化学検査（ＩＣＣ）、ｉｎ ｓｉｔｕハイブリダイゼーション（ＩＳＨ）、全載ｉｎ ｓｉｔｕハイブリダイゼーション（ＷＩＳＨ）、蛍光ＤＮＡ ｉｎ ｓｉｔｕハイブリダイゼーション（ＦＩＳＨ）、フローサイトメトリー、酵素イムノアッセイ（ＥＩＡ）、及び酵素結合イムノアッセイ（ＥＬＩＳＡ）を含めた様々な公知の検出形式に適用することができ、例えば、Ｗｎｔサロゲート分子の結合を検出することにより行うことができる。

【０２１２】

ＩＳＨは、標識された相補的ＤＮＡまたはＲＮＡ鎖（すなわち、一次結合剤）を使用して、細胞もしくは組織の一部分もしくは切片内で（ｉｎ ｓｉｔｕ）、または組織が十分に小さい場合は全体の組織内で（全載）、特定のＤＮＡまたはＲＮＡ配列を局在化させるハイブリダイゼーションのタイプである。当業者であれば、このＩＳＨが、抗体を一次結合剤として用いて組織切片内でタンパク質を局在化させる免疫組織化学検査とは異なるということを理解するであろう。ＤＮＡ ＩＳＨは、染色体の構造を決定するためにゲノムＤＮＡ上で使用することができる。蛍光ＤＮＡ ＩＳＨ（ＦＩＳＨ）は、例えば、染色体の完全性を評価するために医学的診断で使用することができる。ＲＮＡ ＩＳＨ（ハイブリダイゼーション組織化学検査）は、組織切片または全載内のｍＲＮＡ及びその他の転写物を測定及び局在化するために使用される。

【０２１３】

様々な実施形態において、本明細書で説明されているＷｎｔサロゲート分子は、直接的または間接的に検出することができる検出可能な標識と結合体化する。この点において、抗体「結合体」とは、検出可能な標識と共有結合したＷｎｔサロゲート分子を指す。本発明において、ＤＮＡプローブ、ＲＮＡプローブ、モノクローナル抗体、その抗原結合フラグメント、その抗体誘導体、例えば、１本鎖可変フラグメント抗体またはエピトープタグ

化抗体は、全て検出可能な標識と共有結合することができる。「直接的検出」では、１つのみの検出可能抗体、すなわち、検出可能な一次抗体が使用される。したがって、直接的検出とは、検出可能な標識と結合体化している抗体が、それ自体、第２の抗体（二次抗体）を追加する必要なく検出することができることを意味する。

【０２１４】

「検出可能な標識」とは、試料中の標識の存在及び／または濃度を示す（例えば、視覚的、電気的、または別の形で）検出可能なシグナルを産生することができる分子または物質である。検出可能な標識は、抗体と結合体化している場合、特定の抗体が向けられている標的を位置特定及び／または定量化するために使用することができる。それにより、試料中の標的の存在及び／または濃度は、検出可能な標識によって産生されたシグナルを検出することにより、検出することができる。検出可能な標識は直接的または間接的に検出することができ、異なる特定の抗体と結合体化したいくつかの異なる検出可能な標識を使用して、１つ以上の標的を検出することができる。

【０２１５】

直接的に検出することができる検出可能な標識の例としては、蛍光色素及び放射性物質及び金属粒子が挙げられる。これに対し、間接的な検出は、一次抗体の適用後に１つ以上のさらなる抗体、すなわち、二次抗体の適用が必要となる。したがって、検出は、二次抗体または結合剤における、検出可能な一次抗体との結合を検出することにより、実施される。二次結合物質または抗体の追加を必要とする検出可能な一次結合剤または抗体の例としては、検出可能な酵素結合剤及び検出可能なハプテン結合剤が挙げられる。

【０２１６】

いくつかの実施形態において、検出可能な標識は、（例えば、ＩＳＨ、ＷＩＳＨ、またはＦＩＳＨプロセスにおいて）第１の結合剤を含む核酸ポリマーと結合体化する。他の実施形態において、検出可能な標識は、（例えば、ＩＨＣプロセスにおいて）第１の結合剤を含む抗体と結合体化する。

【０２１７】

本開示の方法で使用されるＷｎｔサロゲート分子と結合体化することができる検出可能な標識の例としては、蛍光標識、酵素標識、放射性同位体、化学発光標識、電気化学発光標識、生物発光標識、ポリマー、ポリマー粒子、金属粒子、ハプテン、及び色素が挙げられる。

【０２１８】

蛍光標識の例としては、５－（及び６）－カルボキシフルオレセイン、５－または６－カルボキシフルオレセイン、６－（フルオレセイン）－５－（及び６）－カルボキサミドヘキサン酸、フルオレセインイソチオシアナート、ローダミン、テトラメチルローダミン、ならびにＣｙ２、Ｃｙ３、及びＣｙ５などの色素、任意選択で置換されたクマリン（ＡＭＣＡを含む）、ＰｅｒＣＰ、フィコビリンタンパク質（Ｒ－フィコエリトリン（ＲＰＥ）及びアロフィコエリトリン（ＡＰＣ）を含む）、テキサスレッド、プリンストンレッド、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）及びその類似体、ならびにＲ－フィコエリトリンまたはアロフィコエリトリンの結合体、無機蛍光標識、例えば、コーティングされたＣｄＳｅナノ結晶子のような半導体材料に基づく粒子が挙げられる。

【０２１９】

ポリマー粒子標識の例としては、蛍光色素を埋め込むことができるポリスチレン、ＰＭＭＡ、もしくはシリカの微粒子もしくはラテックス粒子、または色素、酵素、もしくは基質を含むポリマーミセルもしくはカプセルが挙げられる。

【０２２０】

金属粒子の例としては、金粒子及びコーティング金粒子が挙げられ、これらは銀染色によって変換することができる。ハプテンの例としては、ＤＮＰ、フルオレセインイソチオシアナート（ＦＩＴＣ）、ビオチン、及びジゴキシゲニンが挙げられる。酵素標識の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリホスファターゼ（ＡＬＰまたはＡＰ）、β－ガラクトシダーゼ（ＧＡＬ）、グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ

、β－Ｎ－アセチルグルコサミニダーゼ、β－グルクロニダーゼ、インベルターゼ、キサンチンオキシダーゼ、ホタルルシフェラーゼ、及びグルコースオキシダーゼ（ＧＯ）が挙げられる。一般的に使用される西洋ワサビペルオキシダーゼの基質の例としては、３，３’－ジアミノベンジジン（ＤＡＢ）、ニッケル強化を伴うジアミノベンジジン、３－アミノ－９－エチルカルバゾール（ＡＥＣ）、ベンジジン二塩酸塩（ＢＤＨＣ）、ハンカー・イエーツ（Ｈａｎｋｅｒ－Ｙａｔｅｓ）試薬（ＨＹＲ）、インドファン（Ｉｎｄｏｐｈａｎｅ）ブルー（ＩＢ）、テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）、４－クロロ－１－ナフトール（ＣＮ）、アルファ－ナフトールピロニン（アルファ－ＮＰ）、ｏ－ジアニシジン（ＯＤ）、５－ブロモ－４－クロロ－３－インドリルホスファート（ＢＣＩＰ）、ニトロブルーテトラゾリウム（ＮＢＴ）、２－（ｐ－ヨードフェニル）－３－ｐ－ニトロフェニル－５－フェニルテトラゾリウムクロリド（ＩＮＴ）、テトラニトロブルーテトラゾリウム（ＴＮＢＴ）、５－ブロモ－４－クロロ－３－インドキシル－ベーター－Ｄ－ガラクトシド／フェリシアン化鉄（ＩＩ）（ＢＣＩＧ／ＦＦ）が挙げられる。

【０２２１】

一般的に使用される西洋ワサビペルオキシダーゼの基質アルカリホスファターゼの基質の例としては、ナフトール－ＡＳ－Ｂ１－ホスファート／ファストレッドＴＲ（ＮＡＢＰ／ＦＲ）、ナフトール－ＡＳ－ＭＸ－ホスファート／ファストレッドＴＲ（ＮＡＭＰ／ＦＲ）、ナフトール－ＡＳ－Ｂ１－ホスファート／ファストレッドＴＲ（ＮＡＢＰ／ＦＲ）、ナフトール－ＡＳ－ＭＸ－ホスファート／ファストレッドＴＲ（ＮＡＭＰ／ＦＲ）、ナフトール－ＡＳ－Ｂ１－ホスファート／ニューフクシン（ＮＡＢＰ／ＮＦ）、ブロモクロロインドリルホスファート／ニトロブルーテトラゾリウム（ＢＣＩＰ／ＮＢＴ）、５－ブロモ－４－クロロ－３－インドリル－ｂ－ｄ－ガラクトピラノシド（ＢＣＩＧ）が挙げられる。

【０２２２】

発光標識の例としては、ルミノール、イソルミノール、アクリジニウムエステル、１，２－ジオキセタン、及びピリドピリダジンが挙げられる。電気化学発光標識の例としては、ルテニウム誘導体が挙げられる。放射性標識の例としては、ヨウ化物、コバルト、セレニウム、トリチウム、炭素、硫黄、及びリンの放射性同位体が挙げられる。

【０２２３】

検出可能な標識は、本明細書で説明されている抗体と結合しても、目的の生物学的マーカーと特異的に結合する他の任意の分子（例えば、抗体、核酸プローブ、またはポリマー）と結合してもよい。さらに、当業者であれば、検出可能な標識は、第２の、及び／または第３の、及び／または第４の、及び／または第５の結合剤または抗体などと結合体化してもよいことを理解するであろう。さらに、当業者であれば、目的の生物学的マーカーを特徴づけるために使用される各々の追加の結合剤または抗体がシグナル増幅ステップとしての働きをすることも理解するであろう。生物学的マーカーは、検出可能な標識が例えば、色素、コロイド金粒子、または発光試薬である場合に、例えば光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、電子顕微鏡を用いて、視覚的に検出することができる。また、生物学的マーカーに結合した視覚的に検出可能な物質は、分光光度計を用いて検出することもできる。検出可能な物質が放射性同位体である場合、検出は、オートラジオグラフィーによって視覚的に行うこともあれば、シンチレーションカウンターを用いて非視覚的に行うこともある。例えば、Ｌａｒｓｓｏｎ，１９８８，Ｉｍｍｕｎｏｃｙｔｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：Ｔｈｅｏｒｙ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，（ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，Ｆｌａ．）；Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．８０ １９９８，Ｊｏｈｎ Ｄ．Ｐｏｕｎｄ（ｅｄ．）（Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎ．Ｊ．）を参照。

【０２２４】

本発明はさらに、試料中の１つ以上のＦｚｄもしくはＬＲＰ５／６受容体または１つ以上のＦｚｄもしくはＬＲＰ５／６受容体を発現する細胞もしくは組織を検出するためのキットであって、本明細書で説明されている少なくとも１つの抗体、ポリペプチド、ポリヌ

クレオチド、ベクター、または宿主細胞を含む、キットを提供する。ある特定の実施形態において、キットは、緩衝液、酵素、標識、基質、本発明の抗体が付着するビーズまたはその他の表面など、及び使用説明書を含むことができる。

【０２２５】

本明細書で参照されている、及び／または出願データシートに列挙されている上記全ての米国特許、米国特許出願公開、米国特許出願、外国特許、外国特許出願、及び非特許刊行物は、その全体が参照により本明細書に援用される。

【０２２６】

上記のことから、例示の目的で本発明の特定の実施形態が説明されているものの、様々な変更が本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく行われ得ることが理解されよう。したがって、本発明は、付属の特許請求の範囲以外で限定されることはない。

【実施例】

【０２２７】

実施例１

例示的なＷｎｔサロゲート分子の形式

本明細書で開示されている様々な異なる形式を有するＷｎｔサロゲートを作製した。このような形式には、以下に示す例示的な形式が含まれ、その各々が、１つ以上のＦｚｄ受容体に結合する結合ドメイン（「結合物質」）と、ＬＲＰ５及び／またはＬＲＰ６受容体に結合する結合ドメイン（「結合物質」）とを含むものであった。

【０２２８】

図１Ａに示されているように、一方の受容体に対する結合物質がＦａｂで、他方の受容体に対する結合物質がＮａｂまたはｓｃＦｖである場合、これらはいくつかの異なる構成にまとめることができる。あるいくつかの場合において、Ｆａｂ結合物質を最初に全ＩｇＧ形式に再フォーマットすることができ、次いでＮａｂ結合物質をＩｇＧの４つの利用可能な末端のいずれかと融合することができる。例えば、Ｎａｂの融合は、ＩｇＧ軽鎖のＮ末端と（ＬＣ、融合物はＮＬと称し左上に示す）、ＩｇＧ重鎖のＮ末端と（ＨＣ、融合物はＮＨと称し右上に示す）、ＬＣのＣ末端と（融合物はＣＬと称し中央右に示す）、そしてＨＣのＣ末端と（融合物はＣＨと称し、中間の左に示す）行うことができる。ＩｇＧとＮａｂとの間のリンカー及びリンカーの長さは様々なものとすることができる。これらの４つの形式は二重特異的かつ２価性であり、受容体の各々に対する２価性結合物質である。代替的な２つの結合物質をまとめる方法は、Ｆａｂ結合物質が半抗体として提示され、ＮａｂがＦｃのＮ末端と融合しているヘテロＩｇ形式（下方中央に示す）である。２つの半分は、ヘテロ２量体の形成に好都合に働くＣＨ３ドメインの変異（例えば、ノブズ・イントゥ・ホールズ）によって一緒にまとめることができる。Ｎａｂ結合物質とＦｃとの間のリンカー及びその長さは様々なものとすることができる。この形式は、二重特異的であり、ただし各受容体に対しては１価性となる。本実施例で説明されている任意の形式は、ｓｃＦｖフラグメント結合物質で置き換えることもできる。

【０２２９】

図１Ｂに示されているように、一方の受容体に対する結合物質がＦａｂで、他方の受容体に対する結合物質もＦａｂである場合、これらはいくつかの異なる構成にまとめることができる。１つのアプローチでは、一方のＦａｂ結合物質を最初に全ＩｇＧ形式に再フォーマットする（上部に示す）。第２のＦａｂ結合物質は、ＩｇＧのＮ末端と融合していてもよい。２つのＨＣは、間にあるリンカーで共に融合していてもよい。ＬＣは融合していても融合していなくてもよい。リンカー及びその長さは様々なものとすることができる。この形式は、二重特異的かつ２価性の形式である。代替的に、第２のＦａｂ結合物質ＬＣは、間に入る様々な長さのリンカーによって、ＩｇＧのＨＣと融合していてもよい。第２のＦａｂ結合物質ＨＣは、ＩｇＧのＬＣと融合しても融合していなくてもよい。この形式のバリエーションは、タンデム型Ｆａｂ　ＩｇＧ（またはＦＩＴ－Ｉｇ）と呼ばれている。別のアプローチでは、２つの結合物質を、ヘテロ２量体の集成に好都合に働くＣＨ３ドメインの変異により、ヘテロＩｇとして一緒にまとめることができ、２つのアームは各々

１つの受容体に結合する（下部に示す）。この形式は、二重特異的かつ１価性の結合物質である。

【０２３０】

図１Ｃに示されているように、一方の受容体に対する結合物質がＮａｂで、他方の受容体に対する結合物質もＮａｂである場合、これらはいくつかの異なる構成にまとめることができる。二重特異的かつ２価性の形式では、ある特定の場合において、２つのＮａｂ結合物質は、タンデムに融合（上の列に示す）していても、Ｆｃの２つの異なる端部と融合（中間の列に示す）していてもよい。ＮａｂとＮａｂまたはＮａｂとＦｃとの間のリンカー及びその長さは様々なものとすることができる。代替的に、２つのＮａｂをヘテロＩｇとして一緒に集成して、二重特異的かつ１価性の形式（下の列に示す）を生成してもよい。図１Ａと同様に、ここでのＮａｂドメインは、結合物質のｓｃＦｖドメインで置き換えることもできる。全ての実施例において、Ｎａｂ及びｓｃＦｖは、ある特定の組合せで混合させることもできる。

【０２３１】

図１Ｄに示されているように、Ｆｚｄ及びＬＲＰに対する結合物質は、ダイアボディ（またはＤＡＲＴ）構成で共に結合してもよい。また、ダイアボディは１本鎖構成であってもよい。ダイアボディがＦｃと融合している場合、これは２価性二重特異的形式を創出する。Ｆｃとの融合がなければ、これは１価性二重特異的形式となる。

【０２３２】

異なる構成に該当する複数のＷｎｔサロゲートを産生した。このようなサロゲートには表３に記載のＷｎｔサロゲートが含まれる。このような例示的Ｗｎｔサロゲートには、１つ、２つ、または３つのポリペプチドが含まれ、これらの配列は、配列１、配列２、及び／または配列３として示される。配列は、リーダーペプチド配列、Ｎａｂ配列、リンカー、及び／または重鎖もしくは軽鎖配列を含むことができる。アノテーション付きの配列が図１９に示されている。リーダーペプチド配列はイタリック体で示され、リンカー配列は下線で示され、Ｎａｂ配列は太字で示され、残りの配列は重鎖または軽鎖の配列である。Ｆｚｄ結合物質ＩＤ及びＬＲＰ結合物質ＩＤは、様々なＦｚｄに結合するまたはＬＲＰ５／６に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントについての表１Ａ～Ｂ及び２Ａ～Ｂに示されているクローン番号に対応している。

【０２３３】

「Ｒ２Ｍ３」で始まるＷｎｔサロゲートは、００１Ｓ－Ａ０４という名称の抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖領域のＮ末端と融合した異なるＬＲＰ６結合ドメインを含む。表３において「１８Ｒ５」で始まる最初の６つのＷｎｔサロゲートは、１８Ｒ５という名称の抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラグメントのＮ末端と融合した異なるＬＲＰ６結合ドメインを含む。「１Ｒ」で始まるＷｎｔサロゲートは、異なる抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラグメントのＮ末端と融合した「００９Ｓ－Ｅ０４」という名称の抗ＬＲＰ６抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。「Ｒ２Ｍ３－２６ＣＨ」の場合、ＬＲＰ６結合領域は、Ｆｚｄ結合領域のＣ末端と融合している。「Ｒ２Ｍ３－２６ＮＨ」の場合、ＬＲＰ６結合領域は、Ｆｚｄ結合領域のＮ末端と融合している。「Ｒ２Ｍ３－２６ＣＬ」の場合、ＬＲＰ６結合領域は、Ｆｚｄ結合領域のＣ末端と融合している。「Ｒ２Ｍ３－２６ＮＬ」の場合、ＬＲＰ６結合領域は、Ｆｚｄ結合領域のＮ末端と融合している。「Ｒ２Ｍ３－２６Ｆａｂ」及び「Ｒ２Ｍ３－３２Ｆａｂ」の場合、ＬＲＰ６結合領域は、Ｆｚｄ結合領域のＮ末端と融合している。「ヘテロ－Ｉｇ」の場合、ＬＲＰ６結合領域は、ヒトＦｃ＿ホールのＮ末端と融合し、Ｆｚｄ結合物質の軽鎖及び重鎖ヒトＩｇＧ１＿ノブと対形成する。「１７ＳＢ９」で始まるＷｎｔサロゲートは、０１７Ｓ－Ｂ０９という名称の抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖領域のＮ末端と融合した異なるＬＲＰ６結合ドメインを含む。「１Ｒ－Ｃ０７」で始まるＷｎｔサロゲートは、００１Ｓ－Ｂ０３という名称の抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖領域のＮ末端と融合した異なるＬＲＰ６結合ドメインを含む。「Ｒ２Ｍ１３」で始まるＷｎｔサロゲートは、００４Ｓ－Ｇ０６という名称の抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラ

グメントの軽鎖領域のＮ末端と融合した異なるＬＲＰ６結合ドメインを含む。「３ＳＤ１０」で始まるＷｎｔサロゲートは、００３Ｓ－Ｄ１０という名称の抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖領域のＮ末端と融合した異なるＬＲＰ６結合ドメインを含む。「４ＳＤ１」で始まるＷｎｔサロゲートは、００４Ｓ－Ｄ０１という名称の抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖領域のＮ末端と融合した異なるＬＲＰ６結合ドメインを含む。「１４ＳＢ６」で始まるＷｎｔサロゲートは、０１４Ｓ－Ｂ０６という名称の抗Ｆｚｄ抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖領域のＮ末端と融合した異なるＬＲＰ６結合ドメインを含む。

【表３－１】

表3. Wntサロゲート配列

名称	Fzd 結合物質ID	LRP 結合物質ID	配列1配列番号	配列2配列番号	配列3配列番号
R2M3-23	001S-A04	009S-B04	89	95	該当なし
R2M3-26	001S-A04	009S-E04	90	95	該当なし
R2M3-28	001S-A04	009S-G04	91	95	該当なし
R2M3-29	001S-A04	009S-H04	92	95	該当なし
R2M3-31	001S-A04	013S-G04	93	95	該当なし
R2M3-32	001S-A04	013S-H04	94	95	該当なし
18R5-5	18R5	008S-G01	96	104	該当なし
18R5-7	18R5	008S-C02	97	104	該当なし
18R5-8	18R5	008S-D02	98	104	該当なし
18R5-9	18R5	008S-E02	99	104	該当なし
18R5-26	18R5	009S-E04	100	104	該当なし
18R5-28	18R5	009S-G04	101	104	該当なし
18R5-31	18R5	013S-G04	102	104	該当なし
18R5-32	18R5	013S-H04	103	104	該当なし
1R-B05-26	001S-E02	009S-E04	105	111	該当なし
1R-C01-26	001S-B01	009S-E04	106	112	該当なし
1R-C07-26	001S-B03	009S-E04	107	113	該当なし
1R-E06-26	001S-H02	009S-E04	108	114	該当なし
1R-G05-26	001S-G02	009S-E04	109	115	該当なし
1R-G06-26	001S-A03	009S-E04	110	116	該当なし
R2M3-26CH	001S-A04	009S-E04	125	117	該当なし

【表３－２】

R2M3-26NH	001S-A04	009S-E04	125	118	該当なし
R2M3-26CL	001S-A04	009S-E04	119	2254	該当なし
R2M3-26NL	001S-A04	009S-E04	120	2254	該当なし
R2M3-26Fab	001S-A04	009S-E04	120	122	該当なし
R2M3-26F(ab')2	001S-A04	009S-E04	120	2252	
R2M3-32 Fab	001S-A04	013S-H04	123	122	該当なし
R2M3-26 ヘテロ-Ig	001S-A04	009S-E04	125	126	127
26-17SB9	017S-B09	009S-E04	128	該当なし	該当なし
26:Fc:17SB9-criss-cross	017S-B09	009S-E04	2192	2193	該当なし
26:5:17SB9:Fc	017S-B09	009S-E04	2194	該当なし	該当なし
26:10:17SB9:Fc	017S-B09	009S-E04	2195	該当なし	該当なし
26:15:17SB9:Fc	017S-B09	009S-E04	2196	該当なし	該当なし
17SB9:Fc:26	017S-B09	009S-E04	2197	該当なし	該当なし
26:Fc:26+17SB9:Fc:17SB9	017S-B09	009S-E04	2198	2199	該当なし
1R-C07-3	001S-B03	008S-D01	134	113	該当なし
1R-C07-36	001S-B03	013S-D05	135	113	該当なし
R2M13-3	004S-G06	008S-D01	136	153	該当なし
R2M13-26	004S-G06	009S-E04	137	153	該当なし
R2M13-36	004S-G06	013S-D05	138	153	該当なし
R2M3-3	001S-A04	008S-D01	139	2254	該当なし
R2M3-36	001S-A04	013S-D05	140	2254	該当なし
3SD10-3	003S-D10	008S-D01	141	154	該当なし
3SD10-26	003S-D10	009S-E04	142	154	該当なし
3SD10-36	003S-D10	013S-D05	143	154	該当なし

【表３－３】

4SD1-3	004S-D01	008S-D01	144	155	該当なし
4SD1-26	004S-D01	009S-E04	145	155	該当なし
4SD1-36	004S-D01	013S-D05	146	155	該当なし
14SB6-3	014S-B06	008S-D01	147	156	該当なし
14SB6-26	014S-B06	009S-E04	148	156	該当なし
14SB6-36	014S-B06	013S-D05	149	156	該当なし
R2M9-3	003S-E07	008S-D01	150	157	該当なし
R2M9-26	003S-E07	009S-E04	151	157	該当なし
R2M9-36	003S-E07	013S-D05	152	157	該当なし
18R5:5:1115.3:Fc	18R5	1115.3	2200	該当なし	該当なし
18R5:10:1115.3:Fc	18R5	1115.3	2201	該当なし	該当なし
18R5:15:1115.3:Fc	18R5	1115.3	2202	該当なし	該当なし
1115.3:5:18R5:Fc	18R5	1115.3	2203	該当なし	該当なし
1115.3:10:18R5:Fc	18R5	1115.3	2204	該当なし	該当なし
1115.3:15:18R5:Fc	18R5	1115.3	2205	該当なし	該当なし
18R5:5:YW211.31.57:Fc	18R5	YW211.31.57	2206	該当なし	該当なし
18R5:10:YW211.31.57:Fc	18R5	YW211.31.57	2207	該当なし	該当なし
18R5:15:YW211.31.57:Fc	18R5	YW211.31.57	2208	該当なし	該当なし
YW211.31.57:5: 18R5:Fc	18R5	YW211.31.57	2209	該当なし	該当なし
YW211.31.57:10:18R5:Fc	18R5	YW211.31.57	2210	該当なし	該当なし
YW211.31.57:15:18R5:Fc	18R5	YW211.31.57	2211	該当なし	該当なし
18R5:Fc:1115.3	18R5	1115.3	2212	該当なし	該当なし

【表３－４】

5.3					
1115.3:Fc:18R5	18R5	1115.3	2213	該当なし	該当なし
18R5:Fc:YW211.31.57	18R5	YW211.31.57	2250	該当なし	該当なし
YW211.31.57:Fc:18R5	18R5	YW211.31.57	2267	該当なし	該当なし
421.1-R2M3 cp	001S-A04	421.1	2214	2215	2216
1RC07:5:10SA7 cp	1RC07	10SA7	2217	2218	2219
1RC07:10:10SA7 cp	1RC07	10SA7	2217	2218	2222
1RC07:15:10SA7 cp	1RC07	10SA7	2217	2218	2225
1RC07:5:10SG7 cp	1RC07	10SG7	2217	2227	2228
1RC07:10:10SG7 cp	1RC07	10SG7	2217	2227	2231
1RC07:15:10SG7 cp	1RC07	10SG7	2217	2227	2234
10SG7:5:1RC07 cp	1RC07	10SG7	2227	2217	2237
10SG7:10:1RC07 cp	1RC07	10SG7	2227	2217	2240
10SG7:15:1RC07 cp	1RC07	10SG7	2227	2217	2243
1RC07:5:10SA7 L->H	1RC07	10SA7	2244	2245	2246
1115.3:5:R2M3 L->H	001S-A04	1115.3	2247	125	2248
1115.3:10:R2M3 L->H	001S-A04	1115.3	2247	125	2249
10SG11-1RC07	1RC07	10SG11	2252	2253	該当なし
18R5:5:1115.3:His	18R5	1115.3	2255	該当なし	該当なし
18R5:10:1115.3:His	18R5	1115.3	2256	該当なし	該当なし
18R5:15:1115.3:His	18R5	1115.3	2257	該当なし	該当なし
1115.3:5:18R5:His	18R5	1115.3	2258	該当なし	該当なし
1115.3:10:18R5:His	18R5	1115.3	2259	該当なし	該当なし

【表３－５】

1115.3:15:18R5:His	18R5	1115.3	2260	該当なし	該当なし
18R5:5:YW211.31.57:His	18R5	YW211.31.57	2261	該当なし	該当なし
18R5:10:YW211.31.57:His	18R5	YW211.31.57	2262	該当なし	該当なし
18R5:15:YW211.31.57:His	18R5	YW211.31.57	2263	該当なし	該当なし
YW211.31.57:5:18R5:His	18R5	YW211.31.57	2264	該当なし	該当なし
YW211.31.57:10:18R5:His	18R5	YW211.31.57	2265	該当なし	該当なし
YW211.31.57:15:18R5:His	18R5	YW211.31.57	2266	該当なし	該当なし

【０２３４】

実施例２

Ｗｎｔサロゲート分子Ｒ２Ｍ３－２６のキャラクタリゼーション

Ｒ２Ｍ３－２６分子は、Ｆｚｄ結合物質（Ｒ２Ｍ３）及びＬＲＰ６結合物質（２６）からなる。図２Ａに示されているように、５アミノ酸リンカーを用いてＬＲＰ６結合物質２６をＲ２Ｍ３　ＬＣのＮ末端と融合した。Ｒ２Ｍ３は、ＩｇＧの形態をとった。タンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）ステップによって精製した。ＳＥＣからの吸光度トレース及びＳＥＣ画分のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを図２Ｂに示した。Ｒ２Ｍ３－２６のカノニカルＷｎｔシグナリング活性化能力を、Ｗｎｔ応答２９３レポーター細胞株（２９３ＳＴＦ）で試験した。ＳＥＣ画分全体における２９３ＳＴＦレポーター活性トレースを図２Ｂに示す。レポーター活性のピークはタンパク質のピークと相関していた。Ｒ－スポンジンの不在下及び存在下における２９３ＳＴＦ細胞の用量応答によって、ピーク画分をさらにキャラクタリゼーションした（図２Ｄ）。Ｒ２Ｍ３－２６は、用量依存的にレポーター活性を誘発しており、また、天然のＷｎｔリガンドと同様、Ｒ－スポンジンの存在によって強化された。一方、ＬＲＰ結合アームの付着なしの単独のＲ２Ｍ３　ＩｇＧはレポーター活性を誘発しなかった。Ｒ２Ｍ３－２６におけるその標的Ｆｚｄ１　ＥＣＤとの相互作用能力をＯｃｔｅｔ相互作用アッセイで実施し（図２Ｃ）、結果からは、ＬＲＰ６結合アーム２６の融合が、Ｒ２Ｍ３におけるその標的Ｆｚｄとの相互作用に影響を及ぼさないことが示された。

【０２３５】

実施例３

Ｗｎｔサロゲート分子Ｒ２Ｍ３－３２のキャラクタリゼーション

Ｒ２Ｍ３－３２分子は、Ｆｚｄ結合物質（Ｒ２Ｍ３）及びＬＲＰ６結合物質（３２）からなる。図３Ａに示されているように、５アミノ酸リンカーを用いてＬＲＰ６結合物質３２をＲ２Ｍ３　ＬＣのＮ末端と融合した。Ｒ２Ｍ３は、ＩｇＧの形態をとった。タンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）ステップによって精製した。ＳＥＣからの吸光度トレース及びＳＥＣ画分のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを図３Ｂに示した。Ｒ２Ｍ３－３２のカノニカルＷｎｔシグナリング活性化能力を、Ｗｎｔ応答２９３レポーター細胞株（２９３ＳＴＦ）で試験した。ＳＥＣ画分全体における２９３ＳＴＦレポーター活性トレースを図３Ｂに示す。レポーター活性

のピークはタンパク質のピークと相関していた。Ｒ－スポンジンの不在下及び存在下における２９３ＳＴＦ細胞の用量応答によって、ピーク画分をさらにキャラクタリゼーションした（図３Ｄ）。Ｒ２Ｍ３－３２は、用量依存的にレポーター活性を誘発しており、またＲ－スポンジンの存在によって強化された。一方、ＬＲＰ結合アームの付着なしの単独のＲ２Ｍ３　ＩｇＧはレポーター活性を誘発しなかった。Ｒ２Ｍ３－３２におけるその標的Ｆｚｄ１細胞外ドメイン（ＥＣＤ）との相互作用能力をＯｃｔｅｔ相互作用アッセイで実施した（図３Ｃ）。結果からは、ＬＲＰ６結合アーム３２の融合が、Ｒ２Ｍ３におけるその標的Ｆｚｄとの相互作用に影響を及ぼさないことが示された。

【０２３６】

実施例４

Ｒ２Ｍ３－２６及びＲ２Ｍ３－３２の活性は、可溶性のＦｚｄ　ＥＣＤによって、及びＬＲＰ結合アームを伴わないＲ２Ｍ３　ＩｇＧ単体によって阻害され得る

２９３ＳＴＦレポーターアッセイを用いて、可溶性Ｆｚｄ細胞外ドメイン（ＥＣＤ）またはＲ２Ｍ３　ＩｇＧ単独におけるＷｎｔサロゲート阻害能力を定量した。Ｒ２Ｍ３－２６またはＲ２Ｍ３－３２の固定濃度にて、Ｆｚｄ１ＥＣＤ－ＦｃまたはＲ２Ｍ３　ＩｇＧを２９３ＳＴＦレポーターアッセイで滴定した。Ｆｚｄ１ＥＣＤ－Ｆｃ及びＲ２Ｍ３　ＩｇＧの両方が、用量依存的にＲ２Ｍ３　ＩｇＧ（図４Ａ）及びＲ２Ｍ３－３２（図４Ｂ）が誘発するレポーターシグナリングを阻害し、一方陰性対照分子のＦｃ単独は影響を及ぼさなかった。

【０２３７】

実施例５

２９３、Ｈｕｈ７、Ａ３７５、ＢＮＬ．ＣＬ２　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおけるＲ２Ｍ３－ＬＲＰ６結合物質融合物のキャラクタリゼーション

Ｆｚｄ結合物質Ｒ２Ｍ３をさらなるＬＲＰ６結合物質２３、２５、２６、２７、２８、２９、３１、３２、３３、及び３６と融合した。ＬＲＰ６結合物質をＮａｂとし、５アミノ酸リンカーを用いてＲ２Ｍ３　ＬＣのＮ末端と融合した。これらのタンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでＳＥＣステップによって精製した。融合タンパク質を、２９３、Ｈｕｈ７、Ａ３７５、及びＢＮＬ．ＣＬ２細胞株におけるＷｎｔ依存的レポーターアッセイで試験し、これらはＷｎｔシグナリングを様々なレベルまで活性化した。またＲ２Ｍ３を、２つの非ＬＲＰ６結合物質Ｎａｂ（２４及び３４）に対しても、Ｌｒｐ６結合物質と同じ形式で融合した。これらの２つの非結合物質は、Ｗｎｔ依存的２９３レポーターアッセイで活性を示さなかった（図５）。このことは、Ｒ２Ｍ３の２３、２５、２６、２７、２８、２９、３１、３２、３３、及び３６との融合物で観察されたＷｎｔ活性が、天然リガンド機能を模倣するＦｚｄ及びＬｒｐ両方の存在に依存することを示唆するものである。

【０２３８】

実施例６

２９３、Ａ３７５、及びＢＮＬ．ＣＬ２　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおける１８Ｒ５－ＬＲＰ６結合物質融合物のキャラクタリゼーション

Ｆｚｄ結合物質１８Ｒ５をＬＲＰ６結合物質２６、２８、３１、３２と融合した。ＬＲＰ６結合物質をＮａｂとし、５アミノ酸リンカーを用いて１８Ｒ５　ＬＣのＮ末端と融合した。これらのタンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでＳＥＣステップによって精製した。融合タンパク質を、２９３、Ａ３７５、及びＢＮＬ．ＣＬ２細胞株におけるＷｎｔ依存的レポーターアッセイで試験し、これらはＷｎｔシグナリングを活性化する能力を示した（図６）。

【０２３９】

実施例７

２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおける１８Ｒ５－ＬＲＰ５結合物質融合物のキャラクタリゼーション

Ｆｚｄ結合物質１８Ｒ５をＬＲＰ５結合物質５、７、８、９と融合した。ＬＲＰ５結合

物質をＮａｂとし、５アミノ酸リンカーを用いて１８Ｒ５　ＬＣのＮ末端と融合した。これらのタンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでＳＥＣステップによって精製した。融合タンパク質を、２９３細胞株におけるＷｎｔ依存的レポーターアッセイで試験し、これらはＷｎｔシグナリングを活性化することができた（図７）。

【０２４０】

実施例８

２９３　Ｗｎｔ依存的レポーターアッセイにおける様々なＦｚｄ結合物質－ＬＲＰ６結合物質２６融合物のキャラクタリゼーション

　ＩｇＧ形式の様々なＦｚｄ結合物質１Ｒ－Ｂ０５、１Ｒ－Ｃ０１、１Ｒ－Ｃ０７、１Ｒ－Ｅ０１、１Ｒ－Ｅ０６、１Ｒ－Ｇ０５、１Ｒ－Ｇ０６、１Ｒ－Ｈ０４をＬＲＰ６結合物質２６と融合した。ＬＲＰ６結合物質Ｎａｂを、５アミノ酸リンカーを用いて様々なＦｚｄ結合物質ＬＣのＮ末端と融合した。これらのタンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでＳＥＣステップによって精製した。ＳＥＣピーク画分のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲル解析を図８Ａに示した。融合タンパク質を、Ｒｓｐｏの存在下の２９３細胞株におけるＷｎｔ依存的レポーターアッセイで試験し、これらはＷｎｔシグナリングを活性化することができた（図８Ｂ）。

【０２４１】

実施例９

ＩｇＧ－Ｎａｂ融合形式のＳＡＲ解析

　図１Ａに図示されているようにＩｇＧ　ＨＣまたはＬＣの異なる末端に対しＮａｂの付着位置を回転させることにより、ＩｇＧ－Ｎａｂ融合物のＳＡＲ解析を実施した。ＣＨは、重鎖のＣ末端にＮａｂを付着させることを示し、ＮＨは、重鎖のＮ末端にＮａｂを付着させることを示し、ＣＬは、軽鎖のＣ末端にＮａｂを付着させることを示し、ＮＬは、軽鎖のＮ末端にＮａｂを付着させることを示す。３対のＩｇＧ－Ｎａｂ融合物のＳＡＲを示した。これらは、Ｒ２Ｍ３及び２６、Ｒ２Ｍ３及び３２、ならびに１８Ｒ５及び２６の間の対である。Ｒｓｐｏの存在下のＷｎｔ応答性２９３レポター細胞上でアッセイを実施し、Ｗｎｔシグナリングが様々なレベルまで活性化された（図９）。これらの結果は、融合の付着位置ならびにＦｚｄ及びＬＲＰの結合ドメイン間の幾何学的配置が、Ｗｎｔサロゲート分子のＷｎｔシグナリング活性化能力で役割を担うことを実証するものである。

【０２４２】

実施例１０

Ｆａｂ形式のＲ２Ｍ３－２６のキャラクタリゼーション

　分子Ｒ２Ｍ３－２６　Ｆａｂは、Ｆｚｄ結合物質（Ｒ２Ｍ３）及びＬＲＰ６結合物質（２６）からなる。図１０Ａに示されているように、５アミノ酸リンカーを用いてＬＲＰ６結合物質２６をＲ２Ｍ３　ＬＣのＮ末端と融合した。Ｒ２Ｍ３は、Ｆａｂの形態をとった。タンパク質をＮｉ－ＮＴＡアフィニティーカラムによって、次いでサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）ステップによって精製した。ＳＥＣからの吸光度トレース及びＳＥＣ画分のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを図１０Ｂに示す。Ｆａｂ形式としてのＲ２Ｍ３－２６のカノニカルＷｎｔシグナリング活性化能力を、Ｗｎｔ応答２９３レポター細胞（２９３ＳＴＦ）で試験した。ＳＥＣ画分における２９３ＳＴＦレポーター活性トレースを図１０Ｂに示す。図２に示すようなＲ２Ｍ３がＩｇＧ形式をとった場合とは異なり、Ｆａｂ形式のＲ２Ｍ３からのレポーター活性のピークは、タンパク質のピークと相関しなかった。これらの結果は、Ｆａｂ形式のＲ２Ｍ３－２６融合物が、レポーターアッセイによる検出においてカノニカルＷｎｔシグナリングを有効に誘発しないことを示唆するものである。

【０２４３】

実施例１１

Ｆａｂ形式のＲ２Ｍ３－３２のキャラクタリゼーション

　分子Ｒ２Ｍ３－３２　Ｆａｂは、Ｆｚｄ結合物質（Ｒ２Ｍ３）及びＬＲＰ６結合物質（３２）からなる。図１１Ａに示されているように、５アミノ酸リンカーを用いてＬｒｐ６結合物質３２をＲ２Ｍ３　ＬＣのＮ末端と融合した。Ｒ２Ｍ３は、Ｆａｂの形態をとった

。タンパク質をＮｉ－ＮＴＡアフィニティーカラムによって、次いでサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）ステップによって精製した。ＳＥＣからの吸光度トレース及びＳＥＣ画分のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを図１１Ｂに示した。Ｆａｂ形式としてのＲ２Ｍ３－３２のカノニカルＷｎｔシグナリング活性化能力を、Ｗｎｔ応答２９３レポーター細胞（２９３ＳＴＦ）で試験した。ＳＥＣ画分における２９３ＳＴＦレポーター活性トレースを図１１Ｂに示す。図３に示すようなＲ２Ｍ３がＩｇＧ形式をとった場合とは異なり、Ｆａｂ形式のＲ２Ｍ３からのレポーター活性のピークは、タンパク質のピークと相関しなかった。これらの結果は、Ｆａｂ形式のＲ２Ｍ３－３２融合物が、レポーターアッセイによる検出においてカノニカルＷｎｔシグナリングを有効に誘発しないことを示唆するものである。

【０２４４】

実施例１２

ヘテロＩｇ形式のＲ２Ｍ３－２６のキャラクタリゼーション

分子Ｒ２Ｍ３－２６ヘテロＩｇは、図１２Ａに図示され図１Ａに記載されているように、Ｆｚｄ結合物質（Ｒ２Ｍ３）及びＬＲＰ６結合物質（２６）からなる。タンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）ステップによって精製した。ＳＥＣカラムからのピーク画分について、Ｒ－スポンジンの不在下または存在下でのＷｎｔ応答性２９３ＳＴＦレポーター細胞における用量応答性を試験した（図１２Ｂ）。ＩｇＧ形式のＲ２Ｍ３－２６（図２に記載）と比較して、Ｒ２Ｍ３－２６ヘテロＩｇは、２９３レポーターアッセイによる検出において、カノニカルＷｎｔシグナリングを有効に誘発しなかった。

【０２４５】

実施例１３

Ｎａｂ－Ｎａｂ形式の２６－１７ＳＢ９のキャラクタリゼーション

分子２６－１７ＳＢ９　Ｎａｂ－Ｆｃ－Ｎａｂは、図１３Ａに図示され図１Ｃに記載されているように、ＬＲＰ６結合物質（２６）及びＦｚｄ結合物質（１７ＳＢ９）からなる。タンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）ステップによって精製した。ＳＥＣカラムからのピーク画分について、Ｒ－スポンジンの不在下または存在下でのＷｎｔ応答性２９３ＳＴＦレポーター細胞における用量応答性を試験した（図１３Ｂ）。Ｎａｂ－Ｆｃ－Ｎａｂ形式の２６－１７ＳＢ９は、２９３レポーターアッセイにおける検出で、カノニカルＷｎｔシグナリングを誘発した。

【０２４６】

２６及び１７ＳＢ９のさらなる組合せも構築し（図１３Ｃ）、２９３レポーターアッセイで試験した。図１３Ｄ及び１３Ｅに示されているように、２６及び１７ＳＢ９を異なるタンデム形式でまたはＦｃフラグメントの異なる端部上で配置したこれらの様々な組合せは全て、２０ｎＭ　Ｒ－スポンジンの存在下、Ｗｎｔシグナリングを様々なレベルまで活性化した。

【０２４７】

実施例１４

タンデムｓｃＦｖ形式の１８Ｒ５－ＬＲＰ５結合物質融合物のキャラクタリゼーション

Ｆｚｄ結合物質１８Ｒ５、ＬＲＰ６Ｅ１Ｅ２結合物質１１１５．３（ＰＣＴ出願公開第ＷＯ２００９／０６４９４４号に記載）、及びＬＲＰ６Ｅ３Ｅ４結合物質ＹＷ２１１．３１．５７（ＰＣＴ出願公開第ＷＯ２０１１／１１９６６１号に記載）をｓｃＦｖ形式に変換した。５、１０、または１５アミノ酸リンカーを用いて１１１５．３＿ｓｃＦｖまたはＹＷ２１１．３１．５７＿ｓｃＦｖを１８Ｒ５＿ｓｃＦｖのＮ末端に集成し、１８Ｒ５＿ｓｃＦｖ　Ｃ末端をヒトＦｃドメインと融合する。別のセットの例では、５、１０、または１５アミノ酸リンカーを用いて１１１５．３＿ｓｃＦｖまたはＹＷ２１１．３１．５７＿ｓｃＦｖを１８Ｒ５　ｓｃＦｖのＣ末端に集成し、ヒトＦｃドメインをＬＲＰ結合物質のＣ末端と融合する。これらの形式は、図１４Ｇの左パネルに図示されている。別の例では、１８Ｒ５＿ｓｃＦｖ及びＬＲＰ結合物質、１１１５．３＿ｓｃＦｖ、またはＬＲＰ結

合物質、ＹＷ２１１．３１．５７＿ｓｃＦｖをヒトＦｃドメインの２つの端部と融合した（図１４Ｇの右パネルに図示）。これらのタンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでＳＥＣステップによって精製した。

【０２４８】

融合タンパク質を２９３細胞におけるＷｎｔ依存的レポーターアッセイで試験した。５、１０、または１５ｍｅｒリンカーを用いた１８Ｒ５＿ｓｃＦｖ－１１１５．３＿ｓｄＦｖ－Ｆｃ及び１１１５．３＿ｓｃＦｖ－１８Ｒ５＿ｓｃＦｖ－Ｆｃは、Ｗｎｔシグナリングを活性化することができた（図１４Ａ及び１４Ｂ）。異なるリンカーを用いた１８Ｒ５＿ｓｃＦｖ－ＹＷ２１１．３１．５７＿ｓｃＦｖ－Ｆｃ及びＹＷ２１１．３１．５７＿ｓｃＦｖ－１８Ｒ５＿ｓｃＦｖ－ＦｃはＷｎｔシグナリングを活性化した（図１４Ｃ及び１４Ｄ）。加えて、Ｆｃの２つの端部と融合した１８Ｒ５＿ｓｃＦｖ及び１１１５．３＿ｓｃＦｖまたはＹＷ２１１．３１．５７もＷｎｔシグナリングを活性化した（図１４Ｅ及びＦ）。これらのｓｃＦｖ形式全てがＷｎｔシグナリングを活性化したが、効力及び全体の最大有効性は、結合物質の組合せ、リンカーの長さ、及び相対的配向に応じて異なり得る。

【０２４９】

別の例では、さらなるＦｃの融合を伴わずに、５、１０、または１５アミノ酸リンカーを用いて１１１５．３＿ｓｃＦｖまたはＹＷ２１１．３１．５７＿ｓｃＦｖを１８Ｒ５＿ｓｃＦｖのＮ末端またはＣ末端に集成して、二重特異的であるがＦｚｄまたはＬＲＰの各々に対し１価性の結合を創出する。図１４Ｈに示されているように、１１１５．３＿ｓｃＦｖ及び１８Ｒ５＿ｓｃＦｖ融合物は、２９３レポーター細胞において２０ｎＭ　Ｒ－スポンジンの存在下でＷｎｔシグナリングを有効に活性化しなかった。

【０２５０】

実施例１５

Ｆａｂ－ＩｇＧ形式のＷｎｔサロゲート分子の生成

Ｗｎｔミメティックまたはサロゲート分子は、ＦＺＤ及びＬＲＰ両方の結合物質がＦａｂである場合に様々な形式で生成することができる。電荷対形成、「ノブズインホールズ」、Ｆａｂにおける重鎖及び軽鎖のクロスオーバーなどの様々なアプローチを用いて、適切な重鎖及び軽鎖の対形成を確実にすることができる。２つの実施例を以下に示す。

【０２５１】

１．ＦａｂオンＩｇＧ形式に対する電荷対形成（ｃｐ）アプローチ：抗ＬＲＰ６　Ｆａｂの重鎖（ＶＨ－ＣＨ１）ドメインを、５、１０、または１５ｍｅｒアミノ酸リンカーにより、抗ＦＺＤ結合物質の重鎖（ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）のＮ末端とタンデムに融合した。抗ＬＲＰ６及び抗ＦＺＤ両方のＶＨ－ＣＨ１ドメインは、各々それら自身のパートナー軽鎖との対形成のための３つのアミノ酸変異（抗ＬＲＰ６　ＦａｂではＱ３９Ｄ、Ｑ１０５Ｄ、Ｓ１８３Ｋ、抗ＦＺＤ　ＦａｂではＱ３９Ｋ、Ｑ１０５Ｋ、Ｓ１８３Ｅ）を含み、パートナー軽鎖も３つの相補的なアミノ酸変異（抗ＬＲＰ６軽鎖ではＱ３８Ｋ、Ａ／Ｓ４３Ｋ、Ｓ１７６Ｅ、抗ＦＺＤ軽鎖ではＱ３８Ｄ、Ａ／Ｓ４３Ｄ、Ｓ１７６Ｋ）を含む。抗ＬＲＰ６及び抗ＦＺＤ　Ｆａｂの順序は反転させてもよく、その場合、抗ＦＺＤ結合物質はＦａｂであり、ＩｇＧ形式をとる抗ＬＲＰ結合物質と融合している（図１５Ａ）。

【０２５２】

２．ＦａｂオンＩｇＧ形式に対するＨＣ－ＬＣクロスオーバーアプローチ：抗ＬＲＰ６結合物質の軽鎖（ＶＬ－ＣＬ）ドメインを、５、１０、または１５ｍｅｒアミノ酸リンカーにより、抗ＦＺＤ結合物質の重鎖（ＶＨ－ＣＨ１－ＣＨ２－ＣＨ３）のＮ末端とタンデムに融合した。第２のコンストラクトは抗ＬＲＰ６結合物質のＶＨ－ＣＨ１であり、第３のコンストラクトは抗ＦＺＤ結合物質のＶＬ－ＣＬであった。上記の実施例と同様に、抗ＬＲＰ６及び抗ＦＺＤ結合物質の順序は反転させてもよく、その場合、抗ＦＺＤ結合物質Ｆａｂは、ＩｇＧ形式をとる抗ＬＲＰ結合物質のＮ末端と融合している（図１５Ａ）。

【０２５３】

ＬＲＰ及びＦＺＤ結合物質のいくつかの異なる対をこれらの形式で集成し、Ｗｎｔ応答性２９３レポーター細胞株（２９３ＳＴＦ）で試験した。一例として、抗ＬＲＰ６Ｅ１Ｅ

２結合物質４２１．１（ＰＣＴ出願公開第ＷＯ２００９／０６４９４４号に記載）を、電荷対形成アプローチを用いて抗ＦＺＤ結合物質Ｒ２Ｍ３のＮ末端と融合して、４２１．１－Ｒ２Ｍ３　ｃｐを生成した。４２１．１－Ｒ２Ｍ３　ｃｐは、２９３レポーターアッセイにおいてＷｎｔシグナリングを用量依存的に活性化した（図１５Ｂ）。５、１０、または１５ｍｅｒリンカーを用いて、抗ＦＺＤ結合物質１ＲＣ０７を抗ＬＲＰ結合物質１０ＳＡ７のＮ末端と融合した。３つの融合タンパク質全てがＷｎｔシグナリングを活性化した（図１５Ｃ）。抗ＦＺＤ結合物質１ＲＣ０７と抗ＬＲＰ結合物質１０ＳＧ７とのさらなる融合を、ＩｇＧ形式の１０ＳＧ７がＦａｂ形式の１ＲＣ０７と融合するように、またはＦａｂとしての１０ＳＧ７がＩｇＧとしての１ＲＣ０７のＮ末端と融合する反転した順序で、５、１０、または１５ｍｅｒアミノ酸リンカーを用いて行った。全ての融合分子はＷｎｔシグナリングを活性化したが、配向及びリンカー長におけるいくらかのプレファレンスが観察された（図１５Ｄ及び１５Ｅ）。

【０２５４】

ＨＣ－ＬＣクロスオーバーＦａｂ－ＩｇＧ形式についても試験した。抗ＦＺＤ結合物質１ＲＣ０７　ＬＣを抗ＬＲＰ６結合物質１０ＳＡ７　ＨＣのＮ末端と融合して、１ＲＣ０７－５：１０ＳＡ７　Ｌ－＞Ｈを生成した。５または１０ｍｅｒリンカーを用いて、抗ＬＲＰ６Ｅ１Ｅ２結合物質１１１５．３（ＰＣＴ出願公開第ＷＯ２００９／０６４９４４号に記載）のＬＣを抗ＦＺＤ結合物質Ｒ２Ｍ３　ＨＣのＮ末端と融合して、それぞれ１１１５．３：５：Ｒ２Ｍ３　Ｌ－＞Ｈまたは１１１５．３：１０：Ｒ２Ｍ３　Ｌ－＞Ｈを生成した。これらの分子もＷｎｔシグナリングを活性化した（図１５Ｆ及び１５Ｇ）。

【０２５５】

実施例１６

Ｆ（ａｂ’）２形式のＲ２Ｍ３－２６のキャラクタリゼーション

Ｒ２Ｍ３－２６　ＩｇＧ１をＩＤＥＳ（Ｐｒｏｍｅｇａ，ＷＩ）により３７℃にて２時間消化させた。消化産物の大多数はＲ２Ｍ３－２６Ｆ（ａｂ’）２であり（図１６Ａ）、一方のＦａｂがＦｃに付着したままの部分消化産物（ここではＲ２Ｍ３－２６Ｆ（ａｂ’）２－Ｆｃと称する）もいくらか検出され、切断されていないＲ２Ｍ３－２６は検出されなかった。切断産物を抗ラムダレジンによって精製してＦｃフラグメントを除去し、次いでＳＥＣ研磨をその後に行って、Ｒ２Ｍ３－２６Ｆ（ａｂ’）２－ＦｃからＲ２Ｍ３－２６Ｆ（ａｂ’）２を分離した。最終精製タンパク質のＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルを図１６Ｂに示す。ＨＥＫ２９３細胞におけるＳＴＦアッセイでＲ２Ｍ３－２６Ｆ（ａｂ’）２活性を測定した。Ｒ２Ｍ３－２６Ｆ（ａｂ’）２はＷｎｔシグナリングを活性化することができた（図１６Ｃ）。

【０２５６】

実施例１７

さらなるＷｎｔサロゲート分子のキャラクタリゼーション

ＦＺＤ結合物質をＬＲＰ結合物質と融合した。この実施例では、ＬＲＰ５または６結合物質をＮａｂ（またはＶＨＨ）とし、５アミノ酸リンカーを用いて（図１７Ａに示されているように）ＦＺＤ結合物質ＬＣのＮ末端と融合した。これらのタンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでＳＥＣステップによって精製した。精製したタンパク質を、２０ｎＭ　Ｒ－スポンジンの存在下、２９３細胞（図１７Ｂ、Ｃ、Ｄ、Ｈ）、またはＦＺＤ４発現コンストラクトを同時形質移入した２９３細胞（図１７Ｅ、Ｆ）、またはＦＺＤ９発現コンストラクトを同時形質移入した２９３細胞（図１７Ｇ）におけるＷｎｔ依存的レポーターアッセイで試験した。これらの分子は、Ｗｎｔシグナリングを様々なレベルの効力及び有効性で活性化した。

【０２５７】

実施例１８

２Ｆｖ－Ｉｇ形式の１０ＳＧ１１－１ＲＣ０７のキャラクタリゼーション

分子１０ＳＧ１１－１ＲＣ０７は、Ｎ末端ＬＲＰ結合物質（１０ＳＧ１１）及びＦｚｄ結合物質（１ＲＣ０７）からなる。図１８Ａに示されているように、５アミノ酸リンカー

を用いて１０ＳＧ１１のＦｖを１ＲＣ０７のＮ末端と融合した。１ＲＣ０７は、Ｆｃ変異Ｌ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｐ３２９Ｇを伴うＩｇＧ１の形態をとった。タンパク質をプロテインＡアフィニティーカラムによって、次いでＳＥＣステップによって精製した。融合タンパク質を、２９３細胞株におけるＷｎｔ依存的レポーターアッセイで試験し、Ｗｎｔシグナリングを活性化する能力を示した（図１８Ｂ～Ｃ）

【０２５８】

実施例１９

Ｒ２Ｍ３－２６のｉｎ ｖｉｖｏ ＰＫ／ＰＤキャラクタリゼーション

６週齢のＣ５７Ｂｌ／６ＪマウスをＪａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ｂａｒ Ｈａｒｂｏｒ，ＭＥ，ＵＳＡ）から入手し、ケージ当たり３頭収容した。全ての動物実験は、米国科学アカデミーが作成した「実験動物の管理と使用に関する指針」の基準に従った。動物実験のプロトコルは、Ｓｕｒｒｏｚｅｎ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ Ａｎｉｍａｌ Ｃａｒｅ ａｎｄ Ｕｓｅ Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅによる承認を受けた。マウスを、実験開始前に最低２日間順化させた。マウスは、精製された実験室グレードの酸性化水を無制限に利用可能とし、自由に摂食させた（２０１８ Ｔｅｋｌａｄ ｇｌｏｂａｌ １８％タンパク質げっ歯類飼料）。マウスの飼育は、３０％～７０％の湿度環境及び２０℃～２６℃の範囲の室温において１２／１２時間の明暗サイクルで行った。

【０２５９】

薬物動態（ＰＫ）試験（図２０Ａ）用に群当たりｎ＝３を使用した。静脈内（ＩＶ）または腹腔内（ｉ．ｐ．）注射を用いて、マウスに１ｍｇ／ｋｇ（食塩水中１０ｍｌ／ｋｇ）のＲ２Ｍ３－２６（エフェクターレスＦｃ変異を伴う）を投与した。マウスをイソフルランで麻酔し、注射から１０分、３０分、１、４、２４、７２、または１４４時間後に後眼窩神経叢、尾静脈、または心臓から血液を取り出した。血液を室温で凝固させ、次いで８，０００ｇで７分間遠心分離した。血清を取り出し、抗ヒトＩｇＧ Ｆｃフラグメント（Ｊａｃｋｓｏｎ Ｉｍｍｕｎｏ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｓ ＮＣ９７４７６９２）を用いてＥＬＩＳＡにより血清中Ｒ２Ｍ３－２６濃度を測定するまで－２０℃で保管した。

【０２６０】

薬力学（ＰＤ）試験（図２０Ｂ）用に群当たりｎ＝６を使用した。マウスに指示用量（食塩水中１０ｍｌ／ｋｇ）のＲ２Ｍ３－２６をｉ．ｐ．注射した。対照マウスには食塩水のみを投与した。８時間後、マウスをイソフルランで麻酔し、心臓穿刺術によって血液を収集した。血液を室温で凝固させ、次いで１０，０００ｇで７分間遠心分離した。血清を取り出し、ＥＬＩＳＡにより血清中Ｒ２Ｍ３－２６濃度を測定するまで－２０℃で保管した。肝臓左葉の一部を液体窒素でスナップ凍結し、ＲＮＡ解析用に－８０℃で保管した。ＭａｇＭＡＸ（商標）ｍｉｒＶａｎａ（商標）Ｔｏｔａｌ ＲＮＡ Ｉｓｏｌａｔｉｏｎ ｋｉｔ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ，Ａ２７８２８）を用いて肝臓試料からＲＮＡを抽出した。ｈｉｇｈ－Ｃａｐａｃｉｔｙ ｃＤＮＡ Ｒｅｖｅｒｓｅ Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎ Ｋｉｔ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ，４３－６８８－１４）を用いてｃＤＮＡを産生した。ＴａｑＭａｎ Ｆａｓｔ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｍａｓｔｅｒ Ｍｉｘ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ，４４４４９６３）及びＭｍ００４４３６１０＿ｍ１ Ａｘｉｎ２ Ｐｒｏｂｅ（Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ，４３３１１８２）を用いてアキシン２ ｍＲＮＡ発現を測定した。

【０２６１】

これらの試験から、アキシン２ ｍＲＮＡ発現の誘発によって示されたように、Ｒ２Ｍ３－２６はｉｎ ｖｉｖｏで安定性であり生体利用能及び活性が高いことが示された。

【０２６２】

実施例２０

ＡＡＶ送達Ｗｎｔサロゲートのｉｎ ｖｉｖｏ骨モデル及びキャラクタリゼーション

Ｆｌａｇ及びＨｉｓタグ化１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃタンパク質を発現するＡＡＶベクター（ＡＡＶ－１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓ）をマウスに感染させることにより、ｉｎ ｖｉｖｏ実験を行った。１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃは、ＤＫＫ１ｃと融合したｓｃＦｖ

形式のフリズルド結合抗体１８Ｒ５を含む融合タンパク質である（ＰＣＴ出願公開第ＷＯ２０１６／０４０８９５号（例えば、図５）に記載）。対照マウスを、ビヒクルのみ、ロモソズマブ、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）を発現するＡＡＶベクター（ＡＡＶ－ＣＡＧ－ＧＦＰ）、または変異ＤＫＫ１ｃと融合した抗ＧＦＰ　ｓｃＦＶを含む融合タンパク質を発現するＡＡＶベクター（ＡＡＶ－ＳｃＦｖ（抗ＧＦＰ）－ＤＫＫ１ｃＦ２３４Ｋ－Ｆｌａｇ－Ｈｉｓ）で処置した。感染から２８日後に動物を　　殺し、骨ミネラル密度、骨体積、及びその他の特性を測定した。図２１Ａ～２１Ｅに示されているように、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃの全身発現は、二重エネルギーＸ線吸収測定（ＤＥＸＡ）スキャンによる定量において、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ全身発現から早くも１４日で骨ミネラル密度の有意な増加をもたらした。１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃの全身発現は、ナイーブマウスにおいて、ＤＥＸＡスキャンによる測定で骨ミネラル密度（ＢＭＤ）を増加させ（図２１Ａ）、血清中Ｐ１ＮＰ骨形成マーカーのレベルを増加させた（図２１Ｃ）。ＡＡＶ－ＳｃＦｖ（抗ＧＦＰ）－ＤＫＫ１ｃＦ２３４Ｋ及び１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃの血清中レベルを血清中で検出し、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで定量したＥＣ５０を十分上回ることが分かった（図２１Ｂ）。ＡＡＶ－ＣＡＧ－ＧＦＰ及びＡＡＶ－ＳｃＦｖ（抗ＧＦＰ）－ＤＫＫ１ｃＦ２３４Ｋを陰性対照とした。ロモソズマブを陽性対照とし、ビヒクルのみを陰性対照とした。図２０Ｄ及び２０Ｅに示されているように、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃは腰椎及び全身の骨密度も増加させる（＊はＰ値＜０．０５を示し、＊＊はＰ値＜０．０００１を示す）。図２２Ａ～２２Ｄに示されているように、ナイーブマウスにおける処置の２８日後、ＡＡＶを介した１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ発現は、マイクロＣＴによる測定において、脛骨及び大腿骨ならびに大腿骨中央骨幹の皮質厚も増加させた（＊＊＊＊はＰ値＜０．０００１を示す）。

【０２６３】

図２３Ａ及び２３Ｂに示されているように、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃの全身発現は、最後の８日間におけるベースラインから単一標識までのミネラル付着率の有意な増加をもたらした。

【０２６４】

また、図２４Ａ～２４Ｄに示されているように、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃの全身発現は、骨芽細胞数の増加及び破骨細胞数の減少ももたらした。

【０２６５】

図２５Ａ～２５Ｃに示されているように、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ処置は、生体力学試験における骨剛性と骨折に対する極限荷重とを増加させた。このことは、骨折に対する耐性の改善を示唆するものである。

【０２６６】

これらの試験からは、ＡＡＶを用いた１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃの全身発現がＤＥＸＡによる測定における骨ミネラル密度（ＢＭＤ）を増加させることが実証され、また、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃが処置から早くも１４日で、マイクロＣＴによる測定における骨体積を増加させることも示された。１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃは、治療から２８日後に皮質厚も増加させた。１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃの全身発現は、ミネラル付着率の有意な増加をもたらし、骨芽細胞数を増加させ、破骨細胞数を減少させた。また、骨剛性及び骨折に対する極限荷重も増加させたことから、骨折に対する耐性の改善が示唆される。

【０２６７】

実施例２１

組換えタンパク質として産生したＷｎｔサロゲートのｉｎ　ｖｉｖｏ骨モデル及びキャラクタリゼーション

ｉ．ｐ．注射を介した様々な薬用量の組換え産生Ｒ２Ｍ３－２６タンパク質を用いてマウスを処置することにより、ｉｎ　ｖｉｖｏ実験を行った。対照マウスを、ビヒクルのみ（陰性対照）、ロモソズマブ（陽性対照）、抗ベータガラクトシダーゼ（陰性対照）、またはＩｇＧ２－抗ＧＦＰ（陰性対照）を用いて処置した。ＤＥＸＡで測定した骨ミネラル密度（ＢＭＣ）及びマイクロＣＴで測定した骨体積を、指示された時点で縦方向にモニターした。処置から４週間後、動物を　　殺し、骨特性を測定した。Ｒ２Ｍ３－２６の単回注

射について実験データをモニターし、治療後２週間のデータを示す。

【０２６８】

図２６Ａ～２６Ｄに示されているように、組換えＲ２Ｍ３－２６を用いた処置は、ナイーブマウスにおいて骨ミネラル密度（ＢＭＤ）及び骨体積の迅速かつ持続的な増加を誘発した。骨体積及びＢＭＤの両方が迅速に増加したことから、骨折に対する耐性が示唆される。

【０２６９】

卵巣摘出誘発性骨粗鬆症モデルは、タンパク同化療法におけるホルモン切除に伴う骨喪失を克服する能力を判定するための、十分に確立されたハイハードルモデルである（Ｚｈｏｕ，Ｓ．ｅｔ．ａｌ．，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｅｌｌｕｌａｒ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，ＰＭＩＤ：１１４５５５７９）。図２７Ａ～２７Ｃに示されているように、組換えＲ２Ｍ３－２６処置を用いた処置は、卵巣摘出誘発性骨粗鬆症マウスモデルにおける骨喪失を回復させた。骨梁部で皮質厚の増加が観察されたことから、圧迫強度の増加が示唆される。図２７Ｄに示されているように、Ｒ２Ｍ３－２６処置は、マイクロＣＴによる測定において、４２日後に大腿骨中央骨幹の皮質厚を増加させた。ＢＭＤも、ＤＥＸＡによる測定において、Ｒ２Ｍ３－２６により増加した（図２７Ｅに示す）。

【０２７０】

図２８Ａ～２８Ｃに示されているように、Ｒ２Ｍ３－２６の単回注射は、１週間以内に迅速な骨形成及び骨体積を誘発するのに十分である（＊はＰ値＜０．０５を示す）。

【０２７１】

図２９Ａ～２９Ｄに示されているように、Ｒ２Ｍ３－２６及び１Ｒ－Ｃ０７－２６を用いた高用量処置は、骨体積及び骨ミネラル密度を迅速かつ有意に増加させ、骨の生体力学的強度（破損に対する極限荷重及び剛性）を改善した。１Ｒ－Ｃ０７－２６は骨増加に対しロバストかつ有意な効果を示し、効果は２８日間持続した。Ｒ２Ｍ３－２６及び１Ｒ－Ｃ０７－２６の両方が、治療の２８日後に、生体力学試験により、骨折に対する耐性を有意に増加させた。

【０２７２】

図３０Ａ～Ｅに示されているように、Ｒ２Ｍ３－２６及び１Ｒ－Ｃ０７－３の高用量処置は、処置からわずか１４日後に骨体積、骨ミネラル密度、及び皮質厚を迅速かつ有意に増加させた。１０ｍｐｋの１Ｒ－Ｃ０７－３は、この前臨床モデルで試験した他のいずれの処置よりも、骨量の増加に有効であるように思われた。

【０２７３】

これらの試験は、ナイーブマウス及びマウス骨粗鬆症モデルにおいて、組換えタンパク質処置が骨ミネラル密度及び骨体積の迅速かつ持続的な増加を誘発し得ることを実証するものである。骨体積及び骨ミネラル密度（ＢＭＤ）の両方が迅速に増加したことから、骨折に対する耐性が示唆される。ＩｇＧ２－抗ＧＦＰは陰性対照とする。抗ベータガラクトシダーゼ（抗ｂｇａｌ）は陰性対照とした。

【０２７４】

骨粗鬆症の卵巣摘出誘発性モデルにおいて、Ｗｎｔサロゲート分子の全身骨格効果を判定するために、さらなる実験を行った。卵巣摘出時に４週齢のＣ５７ＢＬ／６のメス（ｎ＝８／群）をシャム手術及び同齢ナイーブマウスと比較した。手術から７ヵ月後、動物に組換えＷｎｔサロゲート分子をｉ．ｐ．注射し、骨粗鬆症の発症時期を確認した。実験群には、Ｒ２Ｍ３－２６、１ＲＣ０７－３、抗Ｂｇａｌ（抗体対照）、及びビヒクル（ＰＢＳ）が含まれた。比較のため、別のコホートのマウスにロモソズマブ皮下注射を行った。動物を週２回処置し、４週間追跡した。

【０２７５】

図３１に示されているように、二重エネルギーＸ線吸収測定（ＤＥＸＡ）を用いて全身骨ミネラル密度（ＢＭＤ）を毎週測定した。Ｗｎｔサロゲート分子を用いた治療は、総ＢＭＤを回復するだけでなく、ナイーブ動物または非手術動物に見られる総ＢＭＤを上回る可能性もある。処置から４週間後、動物について、圧迫骨折に対する椎骨の耐性を評価し

た。
【０２７６】
骨折解析が示されているように（図３２）、Ｗｎｔサロゲート分子を用いた処置は、圧迫骨折に対する椎骨の耐性を有意に増加させた。１ＲＣ０７－３は、椎骨を圧迫骨折させるのに必要な最大力を最もロバストに増加させる。
【０２７７】
アインホルン骨折モデル（Ｂｏｎｎａｒｅｎｓ Ｆ，Ｅｉｎｈｏｒｎ ＴＡ．Ｊ Ｏｒｔｈｏｐ Ｒｅｓ．１９８４；２（１）：９７－１０１．ＰＭＩＤ：６４９１８０５）及びＷｎｔサロゲート分子を用いた遅延処置を使用して、この療法における骨折治癒を誘発する能力を判定した。１ＲＣＯ７－３またはＲ２Ｍ３－２６を用いた遅延処置を試験して、大腿骨の中横断（ｍｉｄ－ｔｒａｖｅｒｓｅ）骨折後にいずれかの分子が骨折治癒の増加に寄与可能であるかを判定した。骨折時に１６週齢のＣ５７ＢＬ／６メス（ｎ＝８／群）を使用した。処置を開始する前に、全ての動物において、骨折から２週間後の軟骨仮骨の存在を確認した。仮骨形成を可能にする遅延処置を用いて、既に存在する仮骨の迅速なミネラル化による純粋な骨形成シグナルを引き出すことができた。
【０２７８】
以下の実験群：Ｒ２Ｍ３－２６、１ＲＣＯ７－３、抗Ｂｇａｌ（抗体対照）、及びビヒクル（ＰＢＳ）において、動物に組換えＷｎｔサロゲート分子をｉ．ｐ．注射した。比較のため、別のコホートのマウスにロモソズマブ皮下注射を行った。動物を週２回処置し、６週間追跡した。放射線撮影を使用して、実験全体における仮骨のミネラル化の変化を可視化した（図３３Ａ及びＢ）。Ｗｎｔサロゲート処置によるミネラル化及び得られた仮骨サイズの増加は、１週間及び６週間両方の処置で明らかである。迅速な骨折治癒及び骨折に対する耐性を予測できる迅速なミネラル化を誘発するには、１週間で十分であった。１ＲＣＯ７－３は、Ｒ２Ｍ３－２６よりも大きな程度でミネラル化を誘発するように思われた。処置の６週間後に撮影した放射線写真は、１ＲＣＯ７－３群における高度にミネラル化した仮骨の持続性を示し、一方Ｒ２Ｍ３－２６群の骨折仮骨の一部は減少した（図３３Ｂ及びＤ）。
【０２７９】
実験全体において全身ＤＥＸＡを測定して、骨折した大腿骨だけでなく対側の骨折していない大腿骨における骨ミネラル密度を調べたところ、処置後、予想された骨ミネラル密度の増加が生じた（図３３Ｃ及びＤ）。これは、既に骨折した肢及び付属肢骨格における二次骨折のリスクを低減する。４２日時における対側大腿骨のＢＭＤを図３３Ｃに示す。
【０２８０】
仮骨確認後の処置から６週間後、マイクロコンピューター断層撮影で大腿骨をスキャンし、治癒後の骨折に対する耐性増加に関連した複数のパラメーターを決定した。検証した目的領域内での仮骨組織体積、その仮骨内の骨体積、そして特に骨ミネラル含量がいずれも有意に増加している（図３３Ｄ）。質的に、再構築物は処置骨折内の厚い類骨及びミネラルの普及を示す。これらのパラメーターは骨折に対するロバストな耐性を示唆し、また、自発的な軟骨性仮骨形成後のＷｎｔサロゲート分子を用いた遅延処置が、骨形成の迅速かつ有意な増加を開始し得ることを示す。
【０２８１】
別の実験では、投与スケジュールを試験して、Ｗｎｔサロゲート分子療法が有意な骨タンパク同化効果を誘導し得るか、その効果がどのくらい持続するかを判定し、また休薬後、どのように骨がさらなる処置に応答するかを判定した。全身骨格効果について、タンパク同化効果、休薬、及びベースライン確立後の再投与に対する１ＲＣＯ７－３の可変的投与と比較した。１２週齢のＣ５７ＢＬ／６メス（ｎ＝８／群）において、以下の実験群を用いて組換えＷｎｔサロゲート分子をｉ．ｐ．注射した：実験の０日目に２つの群に１ＲＣＯ７－３、１つに抗ｂｇａｌ（抗体対照）、及び１つにビヒクル（ＰＢＳ）。比較のため、０日目に別のマウスのコホートにロモソズマブの皮下注射を行った（ロモソズマブは、骨粗鬆症に伴う骨喪失を回復させ得る抗スクレロスチン抗体である（Ｓａａｇ ｅｔ ａ

ｌ．，Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ．２０１７ Ｏｃｔ １２；３７７（１５）：１４１７－１４２７；ＰＭＩＤ：２８８９２４５７）。１ＲＣ０７－３処置群の動物は、１４日までに骨形成を有意かつ迅速に誘発した（図３４）。１つの群に１４日目に第２の注射を投与して、骨タンパク同化効果がさらに強化され得るかを判定した。興味深いことに、処置にかかわらず、３５日後に全ての処置効果は回復し正常化した。第２ラウンドの処置の前にベースラインレベルに戻るために２週間という期間を与えた。４９日目に、全ての実験群に対し第２ラウンドの処置を行った。Ｗｎｔサロゲート処置した動物は迅速に応答したが、最初の処置と同じ規模ではなかった（図３４）。全ての群において、最後の注射から５週間後、新たな骨形成は行われなくなった。このことは、単回注射は骨形成を有意に増加可能であるが、タンパク同化効果は迅速に喪失することを示す。このことは、タンパク同化効果を維持するために、骨吸収抑制剤がＷｎｔサロゲート療法との組合せで求められ得ることを示唆するものである。

【０２８２】

ロモソズマブの作用機序は、内在的Ｗｎｔシグナリングの阻害物質（スクレロスチン）を除去することによる骨形成の刺激に依存する。動物にＷｎｔサロゲート分子及びロモソズマブを用いて処置して、組合せ試験においてＷｎｔサロゲート分子処置がロモソズマブと協同可能であるかを判定した。

【０２８３】

１０週齢のＣ５７ＢＬ／６オス（ｎ＝８／群）に対し、以下の実験群において、組換えＷｎｔサロゲート分子とロモソズマブとの組合せをｉ．ｐ．注射した：１ＲＣ０７－３（０．１ｍｐｋ）、１ＲＣＯ７－３（１ｍｐｋ）、１ＲＣＯ７－３（１０ｍｐｋ）、１ＲＣＯ７－３（０．１ｍｐｋ）＋ロモソズマブ（２５ｍｐｋ）、１ＲＣＯ７－３（１ｍｐｋ）＋ロモソズマブ（２５ｍｐｋ）、１ＲＣＯ７－３（１０ｍｐｋ）＋ロモソズマブ（２５ｍｐｋ）、ロモソズマブ（２５ｍｐｋ）単独、抗Ｂｇａｌ（抗体対照）、及びビヒクル（ＰＢＳ）。動物を週２回処置し、３週間追跡した。

【０２８４】

全身ＢＭＤを毎週測定した。結果を図３５に示す。この試験の結論は、内在的ロモソズマブは、高用量の１ＲＣ０７－３の存在下でさらなる骨成長を刺激し得るというものである。これらのデータはさらに、ピークタンパク同化作用がまだ１０ｍｐｋ　１ＲＣＯ７－３処置に達していないことを示唆する。また、これらのデータは、ロモソズマブが１ＲＣＯ７－３の存在下であっても骨形成を刺激し得ることも示す。全体的には、この試験は、Ｗｎｔサロゲート分子処置が、週２回の処置からわずか２１日後に、骨タンパク同化効果を強化するようにロモソズマブと協同し得ることを示す。

【０２８５】

全体の骨における遺伝子発現の変化を、マウスにおけるＷｎｔサロゲート分子療法後の時間経過で測定して、この療法がどのように増殖及び骨形成に関連する遺伝子マーカーの発現を制御するかを評価した。１３週齢のＣ５７ＢＬ／６メス（ｎ＝５／群）に１ＲＣＯ７－３または抗Ｂｇａｌ（抗体対照）を１回ｉ．ｐ．注射した。比較のため、別のコホートのマウスにロモソズマブ皮下注射を行った。処置から８、２４、４８、及び１２０時間後に動物のコホートを　　殺し、ＲＮＡ抽出のために脛骨及び血清を単離し、瞬間凍結した。ＥＬＩＳＡを使用して、上記のように実験の間の血清中の治療分子のレベルを測定した（図３６）。

【０２８６】

骨からのＲＮＡ精製のため、新たに　　殺した動物からの切除脛骨を以下のように処理した：脛骨の両端を切って髄腔を露出させ、髄腔を３０ゲージ針によって氷冷食塩水で流した。全ての筋組織及び軟骨が確実に除去されるようにステップを実施した。骨は完全に白色に見え、赤色の骨髄構成要素は残留していなかった。脛骨を１．５ｍＬエッペンドルフ管に入れ、液体窒素で瞬間凍結した。溶解させるため、単一の組織溶解ビーズを骨の入った管に入れ、凍結した骨及びビーズに直接トリゾールを添加した。高速の組織溶解器を使用して完全に均質化した。次いで、ホモジェネートをクロロホルム抽出に供して核酸相を

分離した。ＲＮｅａｓｙ　ｍｉｎｉ　ｋｉｔ（Ｑｕａｇｅｎ）を用いてさらなる単離及び精製を行った。

【０２８７】

脛骨から単離したＲＮＡについて、Ｒｕｎｔ関連転写因子２（ＲｕｎＸ２）、コラーゲンＩ型アルファ１鎖（Ｃｏｌ１Ａ１）、象牙質マトリックス酸性リンタンパク質１（Ｄｍｐ１）、アルカリホスファターゼ（Ａｌｐ）、核内因子カッパＢ活性化受容体（ＲａｎｋＬ）、Ｄｉｃｋｋｏｐｆ　ＷＮＴシグナリング経路阻害物質１（Ｄｋｋ１）、スクレロスチン（Ｓｏｓｔ）、サイクリンＤ１（Ｃｃｎｄ１）、アキシン２、及びＫｉ６７の相対転写レベルを試験した。

【表４】

表４．マウスにおけるＷｎｔサロゲート分子（１ＲＣ０７－３）及びロモソズマブ（Ｒｘｍａｂ）療法による骨内の遺伝子発現の変化

遺伝子	時間(時)	Bgal平均値に対する誘発倍数+/-SEM		
		Bgal	Rzmab	1RC073
RunX2	24	1.0+/-0.3	8.8+/-4.4	9.6+/-3.6**
	48	1.0+/-0.7	1.9+/-1.0	1.5+/-0.5
ColA1	24	1.0+/-0.2	3.9+/-2.0	3.0+/-1.0
	48	1.0+/-0.5	7.0+/-3.3	2.7+/-1.5
Dmp1	24	1.0+/-0.2	2.7+/-1.1	4.8+/-2.9
	48	1.0+/-0.6	1.6+/-0.7	3.8+/-1.8
Alp	24	1.0+/-0.4	18.3+/-11.7	16.5+/-6.4*
	48	1.0+/-0.6	4.0+/-1.8	5.0+/-1.9
RankL	24	1.0+/-0.3	8.6+/-4.5	8.7+/-3.3
	48	1.0+/-0.7	1.5+/-0.6	4.3+/-1.4
Dkk1	24	1.0+/-0.2	10.5+/-5.1	17.9+/-6.0**
	48	1.0+/-0.5	4.3+/-2.5	2.8+/-1.3
Sost	24	1.0+/-0.2	2.1+/-1.0	2.5+/-0.9
	48	1.0+/-0.6	5.1+/-2.3	9.0+/-4.2**
Ccnd1	24	1.0+/-0.4	3.3+/-0.8	3.4+/-1.8
	48	1.0+/-0.6	2.5+/-1.2	2.4+/-1.2
Axin2	24	1.0+/-0.5	3.2+/-1.1	6.1+/-1.8**
	48	1.0+/-0.8	3.6+/-2.3	4.6+/-1.6*
Ki67	24	1.0+/-0.3	7.7+/-4.3	10.0+/-3.2
	48	1.0+/-0.5	1.0+/-0.5	25.5+/-12.2***

＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．００５、Ｂｇａｌ対照との２元配置ＡＮＯＶＡ比較
＊＊＊ｐ＜０．００１、Ｂｇａｌ及びロモソズマブ両方との２元配置ＡＮＯＶＡ比較

【０２８８】

抗スクレロスチン抗体（ロモソズマブ）処置と比較して、諸時点にわたる遺伝子発現シグネチャーは、Ｗｎｔサロゲート分子療法において明確であり、ロモソズマブ処置が引き起こす場合よりもロバストなアキシン２及びＫｉ６７発現を誘発する。

【０２８９】

実施例２２

ＡＡＶ送達Ｗｎｔサロゲートのｉｎ　ｖｉｖｏ肝臓再生モデル及びキャラクタリゼーション

Ｆｌａｇ及びＨｉｓタグ化１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃタンパク質を発現するＡＡＶベクター（ＡＡＶ－１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓ）をおよそ８週齢のＣ５７ＢＬ／６Ｊマウスに感染させることにより、ｉｎ　ｖｉｖｏ実験を行った。１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃは、ＤＫＫ１ｃと融合したｓｃＦｖ形式のフリズルド結合抗体１８Ｒ５を含む融合タンパク質である（ＰＣＴ出願公開第ＷＯ２０１６／０４０８９５号（例えば、図５）に記載）。対照マウスに対し、リン酸塩緩衝食塩水（ＰＢＳ）のみまたはロモソズマブ（１０ｍｇ／

ｋｇ）を皮下注射し、または緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）を発現するＡＡＶベクター（ＡＡＶ－ＣＡＧ－ＧＦＰ）、もしくは変異ＤＫＫ１ｃと融合した抗ＧＦＰ　ｓｃＦＶを含む融合タンパク質を発現するＡＡＶベクター（ＡＡＶ－ＳｃＦｖ（抗ＧＦＰ）－ＤＫＫ１ｃＦ２３４Ｋ－Ｆｌａｇ－Ｈｉｓ）を静脈内（ＩＶ）注射した。感染から２８日後、動物を秤量し　殺した。肝臓を秤量し、肝臓対体重比を計算した。小腸及び結腸をリン酸緩衝食塩水で流し、穏やかに圧迫して内容物を排出させることにより、内容物を除去した。次いで、小腸及び結腸の内容物を秤量した。

【０２９０】

１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓの全身発現は、肝臓重量の有意な増加をもたらした（図３７Ａ）。陰性対照であるｅＧＦＰまたは抗ｅＧＦＰ－Ｄｋｋ１ｃＦ２３４Ｋの全身発現は、肝臓対体重比に影響を及ぼさなかった。ロモソズマブ組換えタンパク質またはビヒクル対照の投与は、肝臓対体重比に影響を及ぼさなかった。

【０２９１】

いかなる処置も、小腸（図３７Ｂ）または結腸（図３７Ｃ）の体重との比に影響を及ぼさなかった。

【０２９２】

これらの試験からは、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓが肝臓重量を増加させ、ただし小腸または大腸の重量は増加させないことが示された。このことは、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓが肝臓再生を促進し得ることを示唆するものである。

【０２９３】

実施例２３

組換え産生したＷｎｔサロゲートのｉｎ　ｖｉｖｏ肝臓再生モデル及びキャラクタリゼーション

マウスに対し、様々な薬用量の組換え産生した抗ｅＧＦＰ、Ｒ２Ｍ３－２６、１Ｒ－Ｃ０７－２６、ロモソズマブ、またはＲｓｐｏ２タンパク質を用いて処置することにより、ｉｎ　ｖｉｖｏ実験を行った。Ｒｓｐｏ２タンパク質は、Ｒｓｐｏ２遺伝子のショートスプライスバリアント及びヒトＦｃフラグメントの融合タンパク質である。

【０２９４】

ある試験では、ケージ当たりマウス４頭を収容し、処置群当たりｎ＝８を使用した。およそ８週齢のＣ５７ＢＬ６／Ｊマウスに、組換えタンパク質の抗ｅＧＦＰ（１ｍｇ／ｋｇ）、Ｒ２Ｍ３－２６（１または１０ｍｇ／ｋｇ）、または１Ｒ－Ｃ０７－２６（１、５、または１０ｍｇ／ｋｇ）を週２回４週間、腹腔内（ｉ．ｐ．）投与した。加えて、マウスの群にロモソズマブ（３０ｍｇ／ｋｇ）またはＰＢＳビヒクル対照を皮下投与した。

【０２９５】

開始時及び処置の全体においてマウスを秤量した。組換えタンパク質を用いたいずれの処置も、総体重に有意な影響を及ぼさなかった（図３８Ａ）。２８日目に肝臓を秤量し、肝臓対体重比を計算した（図３８Ｂ）。Ｒ２Ｍ３－２６の最高用量（１０ｍｇ／ｋｇ）は、肝臓対体重比の有意な増加をもたらした。他の処置はいずれも肝臓重量に有意な影響を及ぼさなかった。

【０２９６】

Ｒ２Ｍ３－２６に応答した肝臓重量の増加は、この組換えタンパク質が肝臓再生を促進し得ることを示唆するものである。

【０２９７】

別の試験では、ケージ当たりマウス５頭を収容し、処置群当たりｎ＝１０を使用した。およそ８週齢のＣ５７ＢＬ／６Ｊマウスに、抗ｅＧＦＰ（０．５６ｍｇ／ｋｇ）、Ｒ２Ｍ３－２６（０．３ｍｇ／ｋｇ）、もしくはＲｓｐｏ２（０．４６ｍｇ／ｋｇ）単独、またはＲ２Ｍ３－２６（０．１ｍｇ／ｋｇ）とＲｓｐｏ２（０．４６ｍｇ／ｋｇ）との組み合わせを含む単回ｉ．ｐ．注射を投与した。

【０２９８】

注射から２４または４８時間後、マウスを安楽死させた。肝臓左葉の一部を液体窒素で

スナップ凍結し、ＲＮＡ解析用に－８０℃で保管した。Ｍｍ００４３２３５９＿ｍ１　Ｃｎｄ１プローブ及びＭｍ０１２７８６１７＿ｍ１　Ｋｉ６７プローブ（Ｔｈｅｒｍｏｆｉｓｈｅｒ，４３３１１８２）を用いてｑＰＣＲを実施することにより、サイクリンＤ１及びＫｉ６７の発現を測定した。肝臓左葉のさらなる一部を、免疫組織化学解析用にホルマリンで固定しパラフィン包埋した。切片を抗増殖細胞核抗原（ＰＣＮＡ）（Ａｂｃａｍ，ａｂ１８１９７）または抗ホスホヒストンＨ３（ｐＨ３）ウサギ抗体（Ａｂｃａｍ，ａｂ４７２９７）で染色した。画像処理ソフトウェアＩｍａｇｅ　Ｊを用いて陽性核の数をカウントした。

【０２９９】

Ｒｓｐｏ２は単独でＫｉ６７（図３９Ａ）及びサイクリンＤ１（図３９Ｂ）のｍＲＮＡ発現を増加させた。Ｒ２Ｍ３－２６と組み合わせた場合、Ｒｓｐｏ２は、組換えタンパク質を用いた処置から２４及び４８時間後に、Ｒｓｐｏ２単独の場合よりもさらにＫｉ６７及びサイクリンＤ１の発現を増加させた。Ｒｓｐｏ２は単独で、肝臓切片内のＰＣＮＡ（図３９Ｃ）及びｐＨ３（図３９Ｄ）陽性核の数を増加させた。Ｒ２Ｍ３－２６と組み合わせた場合、Ｒｓｐｏ２は、組換えタンパク質を用いた処置から４８時間後に、Ｒｓｐｏ２単独の場合よりもさらにＰＣＮＡ及びｐＨ３陽性核の数を増加させた。

【０３００】

これらの試験は、増殖マーカーであるＫｉ６７　ｍＲＮＡ、サイクリンＤ１　ｍＲＮＡ、及びＰＣＮＡの陽性核、ならびにｐＨ３有糸分裂マーカーがＲ２Ｍ３－２６及びＲｓｐｏ２組換えタンパク質によって誘発されることを示し、これらの組換えタンパク質が肝臓再生を促進し得ることを示唆するものである。

【０３０１】

実施例２４

ＡＡＶ送達Ｗｎｔサロゲートのｉｎ　ｖｉｖｏ慢性肝損傷モデル及びキャラクタリゼーション

チオアセタミド（ＴＡＡ）及びＣＣｌ４誘発性の２つの肝硬変マウスモデルにおける２つのｉｎ　ｖｉｖｏ実験を行って、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓまたはＲｓｐｏ２タンパク質を発現するＡＡＶベクターが慢性肝損傷に及ぼす効果を試験した。６週齢のＣ５７ＢＬ／６Ｊマウスの飲水に、ＴＡＡ処置期間全体にわたって３００ｍｇ／Ｌの濃度のＴＡＡを添加した。ケージ当たり５頭のマウスを収容し、ｎ＝１０を使用した。ただし、ＴＡＡ処置を伴わない対照群は例外とし、群当たりｎ＝５を使用した。

【０３０２】

試験１（図４０Ａ、４０Ｃ、４０Ｅ、４０Ｇ～Ｈ）では、ＴＡＡ処置ありマウス（ｎ＝１０）またはＴＡＡ処置なしマウス（ｎ＝５）を秤量し、飲水にＴＡＡを添加してから９週間後に　殺して、ベースライン値を測定した。肝臓を秤量し、ｍＲＮＡ及び組織学的解析のために肝臓試料を収集した。残りのマウスの飲水においてはＴＡＡ追加を維持し、これらのマウスに、強化型緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）（３ｅ１０ゲノム粒子（ＧＣ））、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓ（３ｅ１０または１ｅ１１　ＧＣ）、もしくはＲｓｐｏ２タンパク質（１ｅ１１　ＧＣ）、または１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓ（３ｅ１０　ＧＣ）とＲｓｐｏ２（１ｅ１１　ＧＣ）との組合せを発現するＡＡＶベクターをＩＶ注射した。５頭の同齢ナイーブ動物（ＴＡＡなし）を陰性対照として飼育した。ＡＡＶ注射から３週間後、全てのマウスを秤量し安楽死させた。肝臓を秤量し、ｍＲＮＡ及び組織学的解析のために肝臓試料を収集した。

【０３０３】

１８Ｒ５Ｄｋｋ１ＦＨまたはＲｓｐｏ２を用いた処置は、ＴＡＡへの継続的曝露を経たマウスにおいて肝臓重量（図４０Ｃ）及び肝臓対体重比（図４０Ｅ）の有意な増加をもたらした。１８Ｒ５Ｄｋｋ１ＦＨとＲｓｐｏ２との組合せを用いた処置は、いずれかの処置単独で観察された増加を上回る肝臓重量及び肝臓対体重比のさらなる増加をもたらした。１８Ｒ５Ｄｋｋ１ＦＨとＲｓｐｏ２との処置の組合せは、線維化マーカーであるＣｏｌ１ａ１　ｍＲＮＡ発現の減少をもたらした（図４０Ｇ）。組織学的肝臓切片をシリウスレッ

ドで染色して、線維性領域内のコラーゲンの蓄積を可視化した（図４０Ｈ）。ＩｍａｇｅＪ解析ソフトウェアを用いた赤色のパーセンテージの定量化により、ＴＡＡ処置マウスにおける線維性領域の有意な増加が示された。１８Ｒ５Ｄｋｋ１ＦＨとＲｓｐｏ２との組合せは、ｅＧＦＰ陰性対照で処置したマウスと比較した場合に線維性領域増加からの回復をもたらした。Ｒｓｐｏ２単独を用いた処置も有意な回復をもたらしたが、組合せ処置よりも小さな回復であった。

【０３０４】

試験２（図４０Ｂ、４０Ｄ、４０Ｆ）では、マウスをＴＡＡ追加水に１１週間曝露し、その後ＡＡＶ処置の２日前に標準的な飲水に戻した。ＡＡＶ処置の開始時にＴＡＡ曝露あり（ｎ＝１０）または曝露なし（ｎ＝５）マウスを秤量し、　殺してベースライン測定用に肝臓試料を収集した。残りのマウスに、強化型緑色蛍光タンパク質（ｅＧＦＰ）（１．３ｅ１１ゲノム粒子（ＧＣ））、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓ（３ｅ１０または１ｅ１１　ＧＣ）、もしくはＲｓｐｏ２タンパク質（１ｅ１１　ＧＣ）、または１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓ（３ｅ１０　ＧＣ）とＲｓｐｏ２（１ｅ１１　ＧＣ）との組合せを発現するＡＡＶベクターを注射した。５頭の同齢ナイーブ動物（ＴＡＡなし）を陰性対照として飼育した。ＡＡＶ注射から３週間後、全てのマウスを秤量し安楽死させた。肝臓を秤量し、ｍＲＮＡ及び組織学的解析のために肝臓試料を収集した。

【０３０５】

試験１で観察されたものと同様の肝臓重量及び肝臓対体重比の増加が、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓ及びＲｓｐｏ２のいずれか単独または組合せを用いて処置したマウスで観察された（図４０Ｄ、４０Ｆ）。

【０３０６】

これらの試験からは、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓ及びＲｓｐｏ２が、ＴＡＡ誘発性肝硬変モデルにおいて肝臓重量を増加させ線維化マーカーを低減し得ることが示される。これらの結果は、１８Ｒ５－ＤＫＫ１ｃ－ＦｌａｇＨｉｓ及びＲｓｐｏ２が、慢性肝損傷の後の肝臓組織修復を促進し得ることを示唆するものである。

【０３０７】

実施例２５

組換え産生したＷｎｔサロゲートのｉｎ　ｖｉｖｏ慢性肝損傷モデル及びキャラクタリゼーション

肝硬変のチオアセタミド（ＴＡＡ）誘発性及びＣＣｌ４誘発性マウスモデルにおいて、マウスに対し、組換え産生した抗ｅＧＦＰ、Ｒ２Ｍ３－２６、及びＲｓｐｏ２タンパク質を用いて処置することによってｉｎ　ｖｉｖｏ実験を行った。

【０３０８】

ＴＡＡ誘発性肝硬変モデルでは、６週齢のオスマウスをＴＡＡ追加飲水（３００ｍｇ／Ｌ）におよそ２２週間曝露した（図４１Ａ）。組換えタンパク質を用いた処置を開始する２日前にＴＡＡ曝露を除去し、マウスに新鮮な飲水を提供した。ケージ当たりマウス５頭を収容し、処置群当たりｎ＝１０を使用した。単一処置試験（図４１Ｂ、４１Ｄ、４１Ｆ、４１Ｈ、４１Ｊ、４１Ｌ）では、マウスに抗ｅＧＦＰ（１ｍｇ／ｋｇ）またはＲｓｐｏ２（１ｍｇ／ｋｇ）を週２回ｉ．ｐ．注射した。組合せ処置試験（図４１Ｃ、４１Ｅ、４１Ｇ、４１Ｉ、４１Ｋ、４１Ｍ）では、マウスに抗ｅＧＦＰ（１．３ｍｇ／ｋｇ）またはＲ２Ｍ３－２６（０．３ｍｇ／ｋｇ）とＲｓｐｏ２（１ｍｇ／ｋｇ）との組合せを週２回ｉ．ｐ．注射した。次いで、処置の開始後３、７、または１４日目にマウスを秤量し　殺した。両方の試験の０日目及び１４日目に、ＴＡＡへの曝露なしの対照マウス群（群当たりｎ＝５）を安楽死させた。

【０３０９】

Ｒｓｐｏ２タンパク質の単独またはＲ２Ｍ３－２６との組合せを用いた処置は、肝臓対体重比の増加（図４１Ｂ及び４１Ｃ）と、アキシン２発現の増加によって示されるＷｎｔシグナリング経路の一過性刺激（図４１Ｄ及び４１Ｅ）とをもたらした。Ｒｓｐｏ２タンパク質の単独またはＲ２Ｍ３－２６との組合せを用いた処置は、以下の増殖マーカー：サ

イクリンＤ１（図４１Ｆ、４１Ｇ）及びＫｉ６７（図４１Ｈ及び４１Ｉ）ｍＲＮＡ発現、ＰＣＮＡ（図４１Ｊ、４１Ｋ）及びｐＨ３（図４１Ｌ、４１Ｍ）陽性核を誘発した。

【０３１０】

さらなる試験では、プロトロンビン時間測定のために血漿を収集した。ＴＡＡ誘発性肝硬変モデルでは凝固時間が障害され、これは、ＴＡＡ曝露なしの正常マウスと比較した場合に、ＴＡＡに曝露したマウスにおけるプロトロンビン（ＰＴ）試験対正常値の比が増加することによって例示される（図４１Ｎ）。Ｒｓｐｏ２（１ｍｇ／ｋｇ）及びＲ２Ｍ３－２６（０．３ｍｇ／ｋｇ）を用いた処置は、週２回のＲｓｐｏ２及びＲ２Ｍ３－２６の処置から７日後及び１４日後における$PT_{試験}$／$PT_{正常}$比の減少によって示されるように、ＰＴ時間の延長を回復させた。

【０３１１】

これらの試験からは、Ｒｓｐｏ２及びＲ２Ｍ３－２６が肝臓細胞の増殖を刺激し、ＴＡＡ誘発性肝硬変モデルにおけるプロトロンビン時間などの肝細胞の機能的活性を改善し得ることが示される。これらの結果は、Ｒｓｐｏ２及びＲ２Ｍ３－２６が、慢性肝疾患における肝臓組織修復を促進し得ることを示唆するものである。

【０３１２】

ＣＣｌ４誘発性肝硬変モデルでは、６週齢のＣ５７ＢＬ／６Ｊオスマウスに鉱油中２ｍｌ／ｋｇ　ＣＣｌ４を週２回８週間ｉ．ｐ．注射した（図４２Ａ）。最後のＣＣｌ４注射から３日後、マウスに以下の組換えタンパク質を週２回ｉ．ｐ．注射した：抗βガラクトシダーゼ（１０ｍｇ／ｋｇ）、Ｒｓｐｏ２（１もしくは１０ｍｇ／ｋｇ）、またはＲ２Ｍ３－２６（０．３ｍｇ／ｋｇ）とＲｓｐｏ２（１ｍｇ／ｋｇ）との組合せ。３つのさらなる対照群を含め、１つの群にはＣＣｌ４（ただしタンパク質なし）を注射し、１つの群には鉱油を注射し、１つは未処置の同齢ナイーブ群とした。各群当たりｎ＝８を使用した。組換えタンパク質を用いた処置から２週間後、マウスを秤量し　殺した。プロトロンビン時間測定のために血漿を収集した。肝臓を秤量し、組織学的解析のために肝臓試料を収集した。

【０３１３】

Ｒ２Ｍ３－２６及びＲｓｐｏ２を用いた処置は、抗βガラクトシダーゼ陰性対照を用いた処置と比較した場合に、肝臓対体重比の有意な増加をもたらした（図４２Ｂ）。Ｒｓｐｏ２（１０ｍｇ／ｋｇ）またはＲ２Ｍ３－２６とＲｓｐｏ２との組合せを用いた処置は、プロトロンビン時間の有意な減少をもたらした（４２Ｃ）。Ｒｓｐｏ２（１０ｍｇ／ｋｇ）またはＲ２Ｍ３－２６とＲｓｐｏ２との組合せを用いた処置は、ＣＣｌ４によって誘発された線維性領域の有意な回復をもたらした（図４２Ｄ）。

【０３１４】

この試験からは、Ｒｓｐｏ２及びＲ２Ｍ３－２６が肝臓重量の増加を誘発し、プロトロンビン時間などの肝細胞の機能的活性を改善し、ＣＣｌ４誘発性肝硬変モデルにおける線維化マーカーを低減し得ることが示された。これらの結果は、Ｒｓｐｏ２及びＲ２Ｍ３－２６が、慢性肝疾患における肝臓組織修復を促進し得ることを示唆するものである。

【０３１５】

実施例２６

組換え産生Ｗｎｔサロゲートのｉｎ　ｖｉｖｏ急性肝損傷モデル及びキャラクタリゼーション

急性肝損傷のアセトアミノフェン誘発性マウスモデルを用いて、マウスに対し、組換え産生した抗ｅＧＦＰ、Ｒ２Ｍ３－２６、及びＲｓｐｏ２タンパク質を用いて処置することによってｉｎ　ｖｉｖｏ実験を行った。

【０３１６】

８週齢のＣ５７ＢＬ／６オスマウスをケージ当たり５頭収容した。群当たりｎ＝１０を使用した。マウスを終夜１２時間絶食させた。アセトアミノフェン（ＡＰＡＰ）を致死量以下の用量（３００ｍｇ／ｋｇ）でｉ．ｐ．投与した。

【０３１７】

第１の試験では、ＡＰＡＰ注射の直後または３もしくは６時間後に抗ｅＧＦＰ（０．３ｍｐｋ）またはＲ２Ｍ３－２６（０．３ｍｐｋ）をｉ．ｐ．注射した（図４３）。ＡＬＴ測定のために、ＡＰＡＰ注射の２４及び４８時間後に血清試料を収集した。ＡＰＡＰ注射の４８時間後にマウスを　　殺し、ｍＲＮＡ解析のために肝臓試料を収集した。

【０３１８】

Ｒ２Ｍ３－２６処置はＡＬＴレベルに有意な影響を及ぼさなかった（図４３Ｂ）。Ｒ２Ｍ３－２６を用いた処置は、サイクリンＤ１（図４３Ｃ）及びＫｉ６７（図４３Ｄ）ｍＲＮＡを有意に誘発し、ＡＰＡＰ処置単独が誘発したレベルを上回った。

【０３１９】

第２の試験では、ＡＰＡＰ注射の直後または３もしくは６時間後にヒトＦｃ（０．４６ｍｇ／ｋｇ）またはＲｓｐｏ２（０．４６ｍｇ／ｋｇ）をｉ．ｐ．注射した（図４４）。ＡＰＡＰ注射の２４及び４８時間後に血清試料を収集した。ＡＰＡＰ注射の４８時間後に肝臓試料を収集した。Ｒｓｐｏ２処置はＡＬＴ血清中レベルに有意な影響を及ぼさなかった（図４４Ｂ）。Ｒｓｐｏ２を用いた処置は、サイクリンＤ１（図４４Ｃ）及びＫｉ６７（図４３Ｄ）ｍＲＮＡを有意に誘発し、ＡＰＡＰ処置単独が誘発したレベルを上回った。

【０３２０】

第３の試験では、ＡＰＡＰ投与の３時間後に抗ｅＧＦＰ（０．５６ｍｇ／ｋｇ）またはＲ２Ｍ３－２６（０．１ｍｇ／ｋｇ）とＲｓｐｏ２（０．４６ｍｇ／ｋｇ）との組合せをｉ．ｐ．注射した。ＡＬＴ測定及びｍＲＮＡ解析のために、ＡＰＡＰ注射の２４、３６、４８、及び６０時間後に血清及び肝臓試料を収集した。

【０３２１】

Ｒ２Ｍ３－２６とＲｓｐｏ２との組合せ処置はＡＬＴレベルに有意な影響を及ぼさなかった（図４５Ｂ）。Ｒ２Ｍ３－２６及びＲｓｐｏ２を用いた処置は、サイクリンＤ１（図４５Ｃ）及びＫｉ６７（図４５Ｄ）ｍＲＮＡを有意に誘発し、ＡＰＡＰ処置単独が誘発したレベルを上回った。

【０３２２】

さらなる試験を実施して、Ｒｓｐｏ２及びＲ２Ｍ３－２６が、６００ｍｇ／ｋｇのアセトアミノフェンの用量で処置したマウスの生存期間に及ぼす効果を評価した（図４６）。ＡＰＡＰ投与から３時間後に、抗ｅＧＦＰ（０．３ｍｇ／ｋｇ）、Ｒ２Ｍ３－２６（０．３ｍｇ／ｋｇ）、Ｒｓｐｏ２（０．４６ｍｇ／ｋｇ）、またはＲ２Ｍ３－２６（０．１ｍｇ／ｋｇ）とＲｓｐｏ２（０．４６ｍｇ／ｋｇ）との組合せをｉ．ｐ．注射した。次の９６時間にわたり１日数回マウスをモニターした。Ｒ２Ｍ３－２６（図４６Ｂ）、Ｒｓｐｏ２（図４６Ｃ）、またはＲ２Ｍ３－２６とＲｓｐｏ２との組合せ（図４６Ｄ）を用いて処置した群において、一貫した生存期間改善の傾向が観察された。

【０３２３】

これらの試験からは、Ｒｓｐｏ２及びＲ２Ｍ３－２６が増殖マーカーを、ＡＰＡＰ誘発性急性損傷モデルで自発的に誘発されるものを上回って誘発し得ることが示される。これらの結果は、Ｒｓｐｏ２及びＲ２Ｍ３－２６が、急性肝損傷後の肝臓組織修復を強化し得ることを示唆するものである。

【０３２４】

上記の様々な実施形態は、組み合わせてさらなる実施形態をもたらすことができる。本明細書で参照されている、及び／または出願データシートに列挙されている全ての米国特許、米国特許出願公開、米国特許出願、外国特許、外国特許出願、及び非特許刊行物は、その全体が参照により本明細書に援用される。実施形態の態様は、なおさらなる実施形態を提供するために様々な特許、出願、及び刊行物の概念を用いる必要がある場合、修正することができる。これら及びその他の変更は、上記の詳細な説明に照らして、実施形態に対し行われ得る。

【０３２５】

概して、以下の請求項において、使用されている用語は、請求項を明細書及び請求項で開示されている特定の実施形態に限定するように解釈されるべきではなく、このような用

語は、請求項が権利を有する全ての範囲の等価物と共に、全ての可能な実施形態を含むように解釈されるべきである。したがって、請求項は本開示による限定を受けない。

【図面】

【図１】

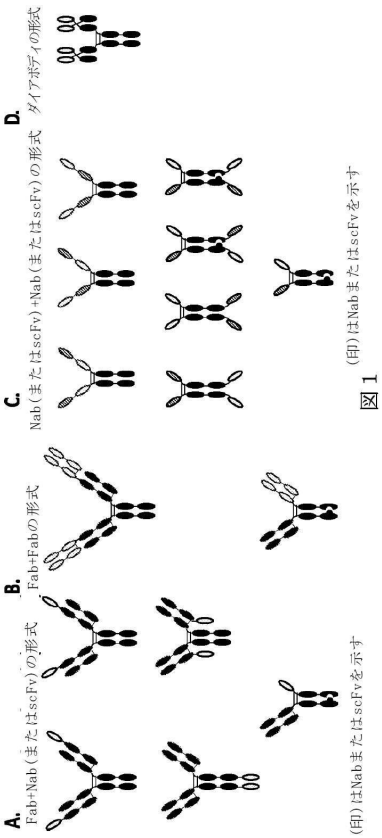


図１

【図２－１】

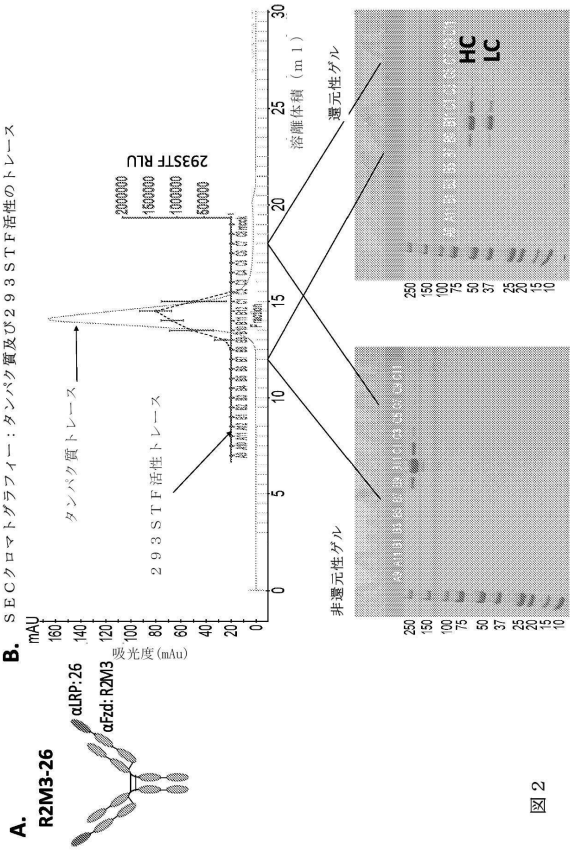


図２

【図２－２】

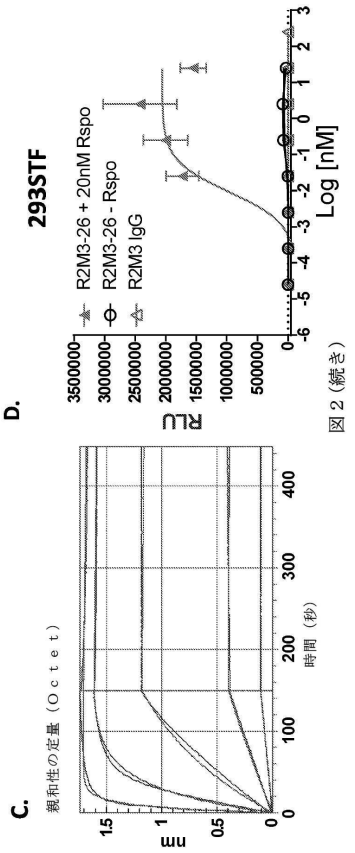


図２（続き）

【図３－１】

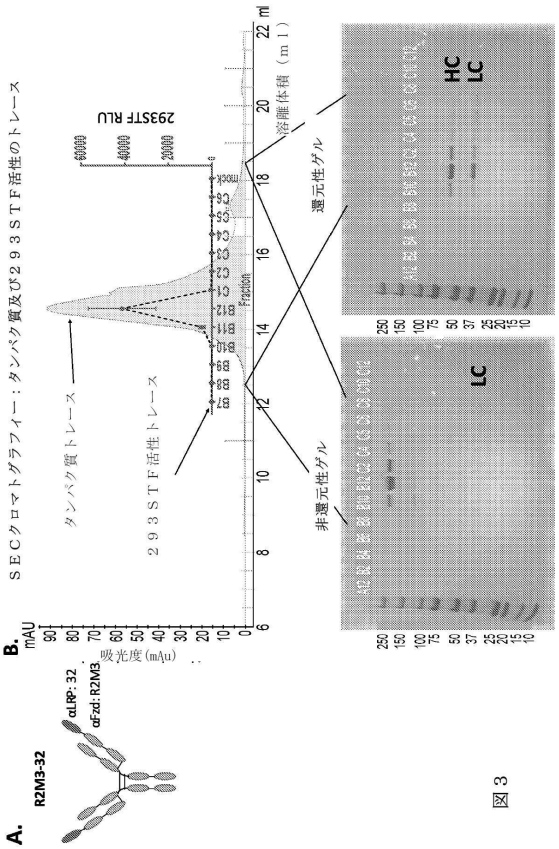


図３

【図３－２】

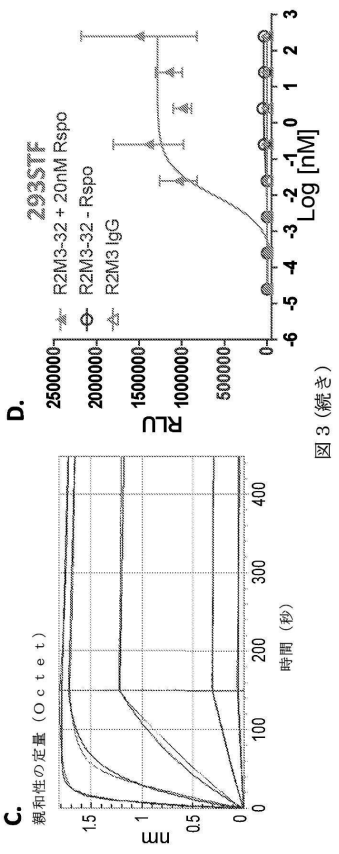


図３（続き）

【図４】

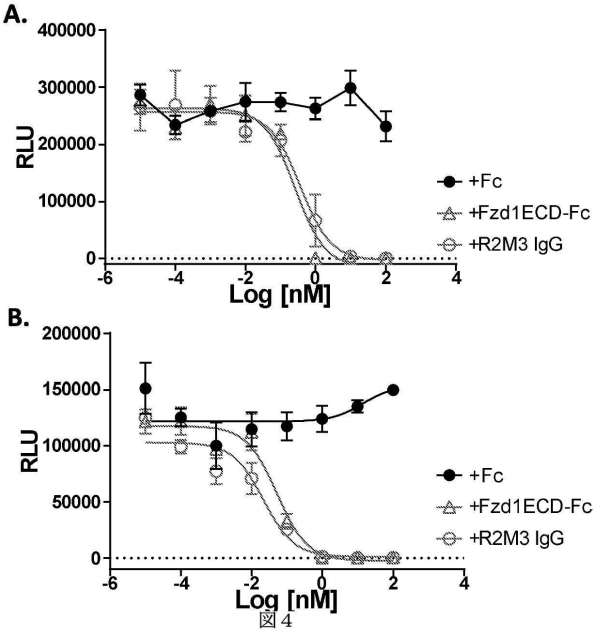


図４

【図５－１】

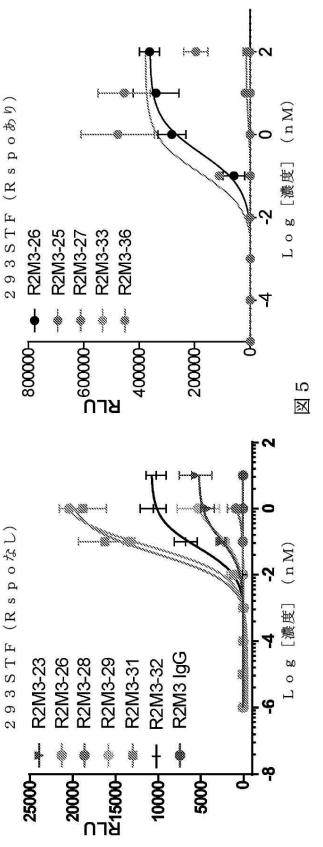


図５

【図５－２】

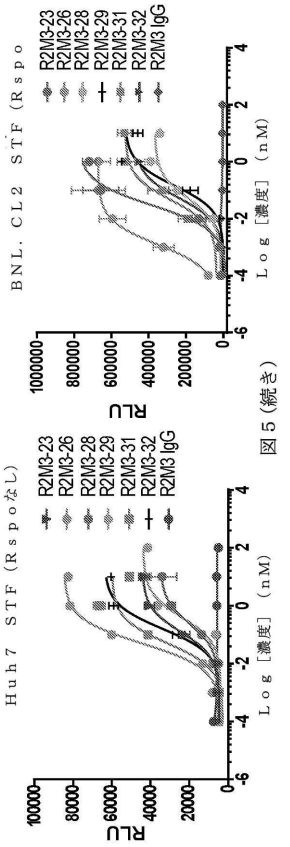


図５（続き）

【図５－３】

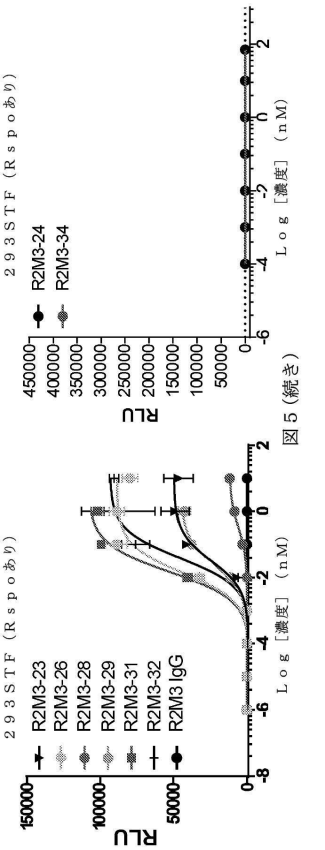


図５（続き）

【図５－４】

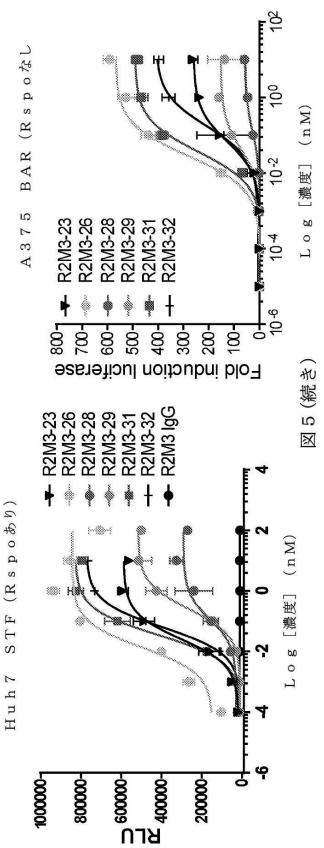


図５（続き）

【図６－１】

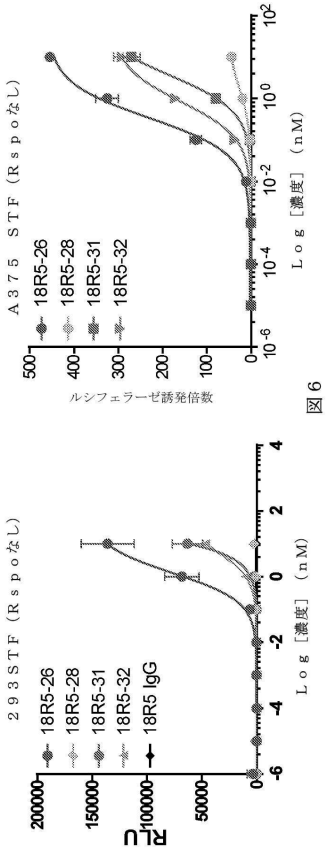


図６

【図６－２】

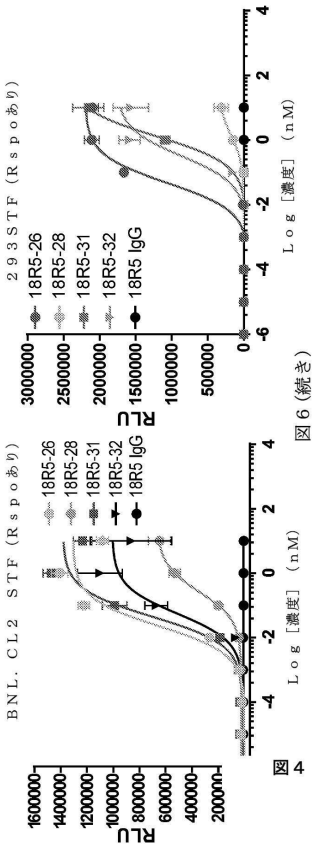


図６（続き）

図４

【図７】

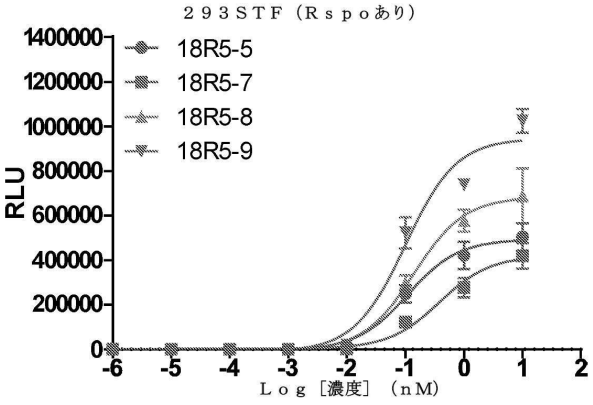


図７

【図８】

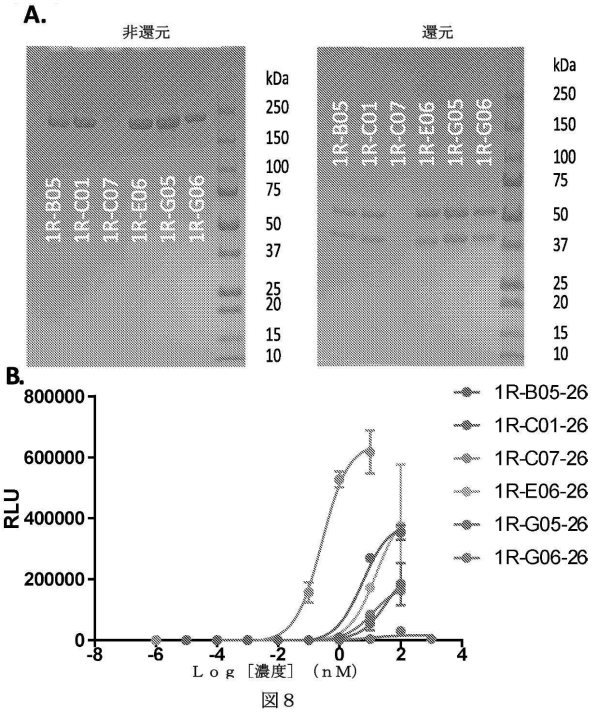


図８

【図９】

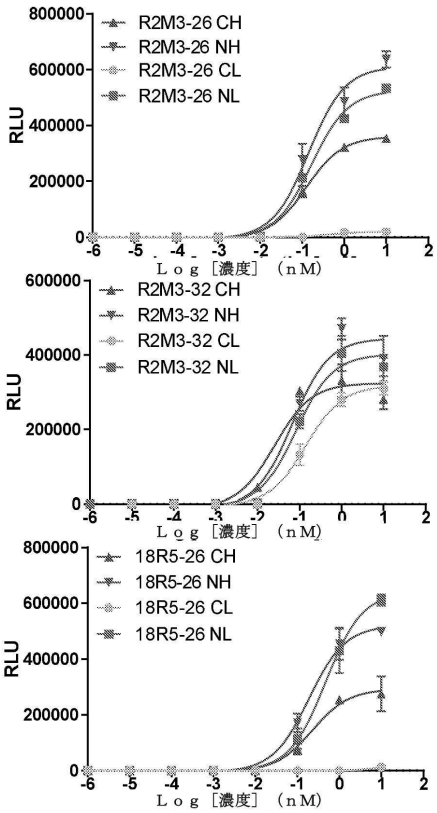


図９

【図１０】

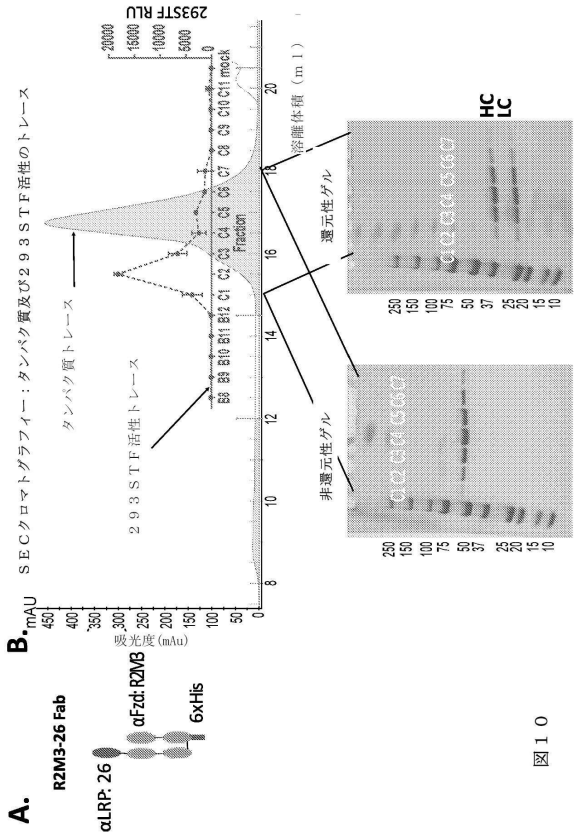


図１０

【図１１】

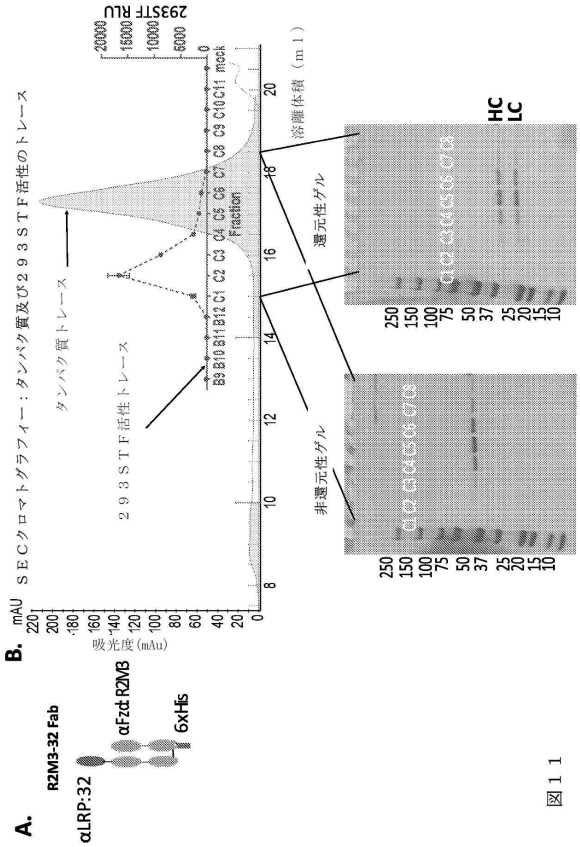


図１１

【図１２】

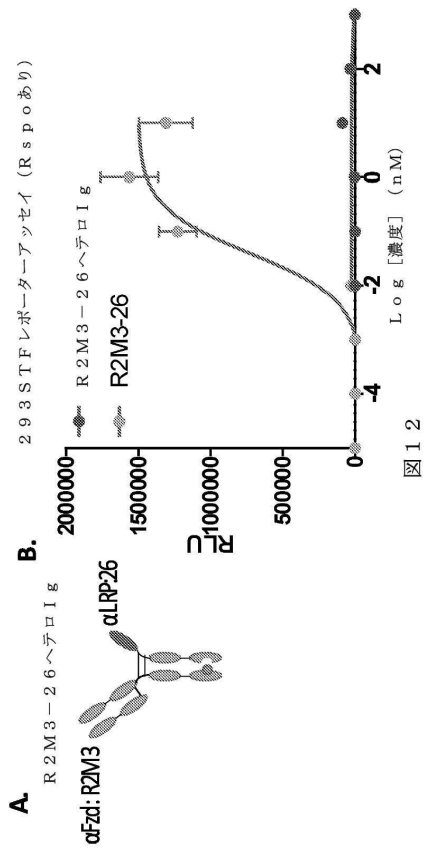


図１２

【図１３－１】

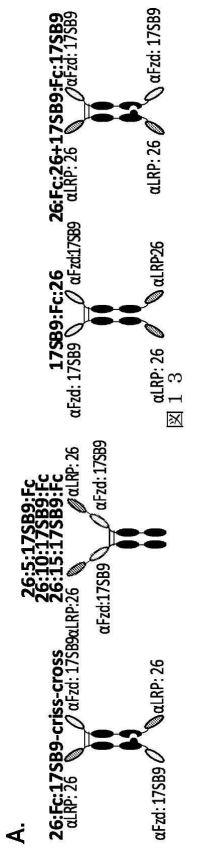


図１３

【図１３－２】

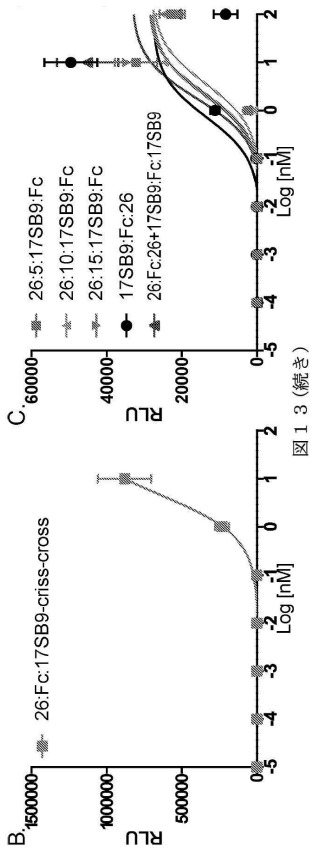


図１３（続き）

【図１３－３】

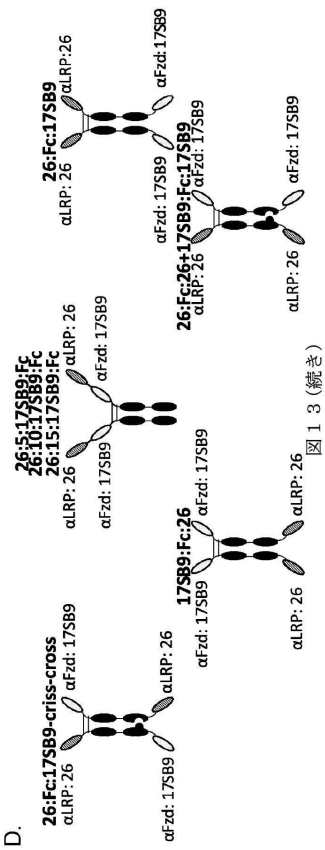


図１３（続き）

【図１３－４】

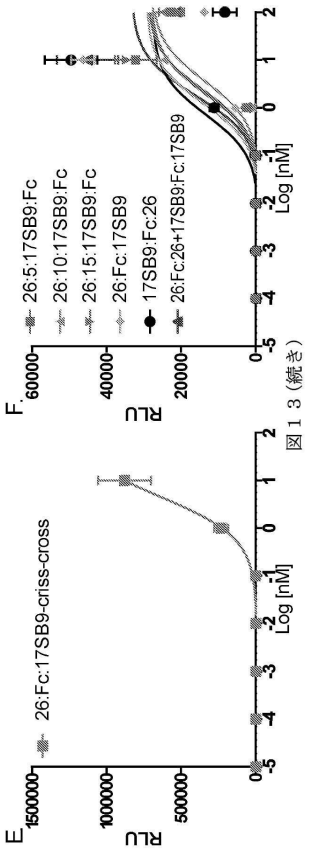


図１３（続き）

【図１４－１】

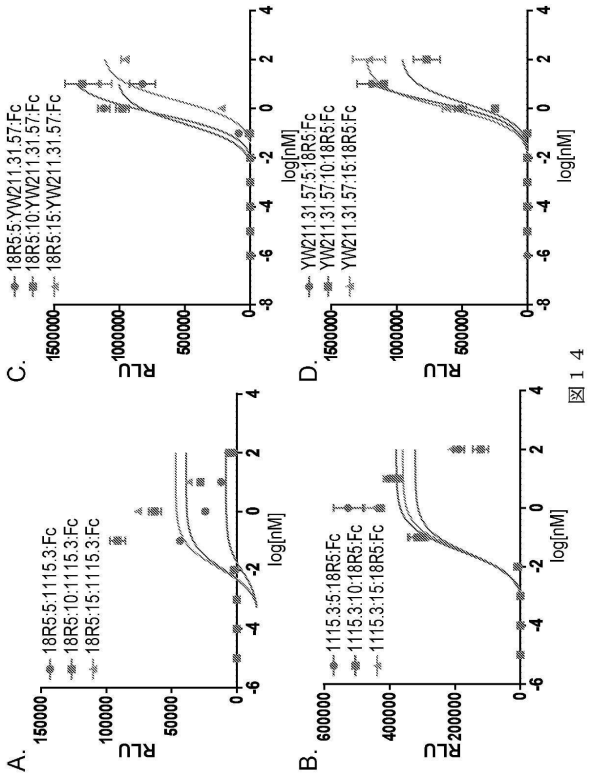


図１４

【図１４－２】

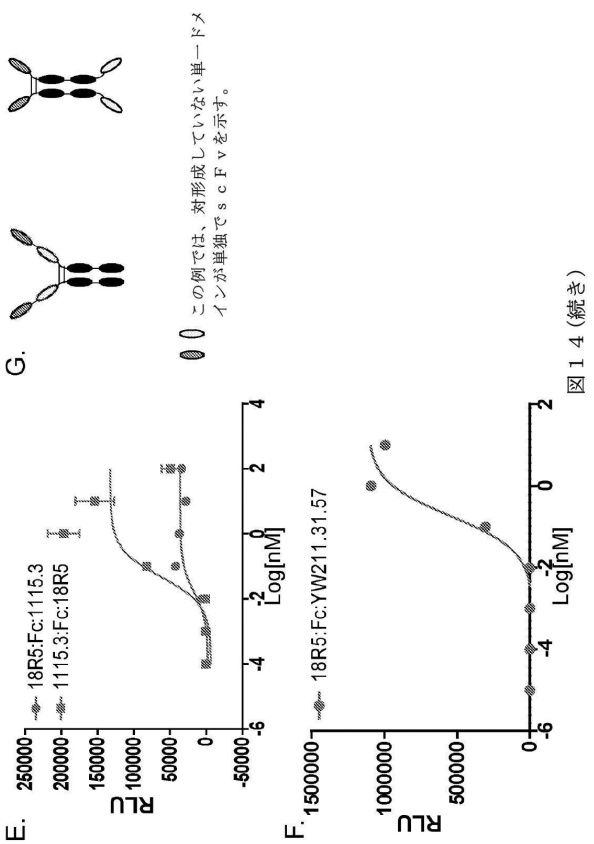


図１４（続き）

【図１４－３】

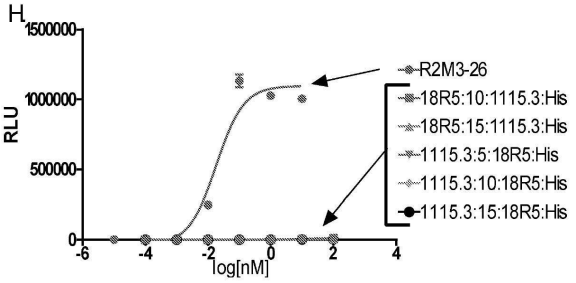


図１４（続き）

【図１５－１】

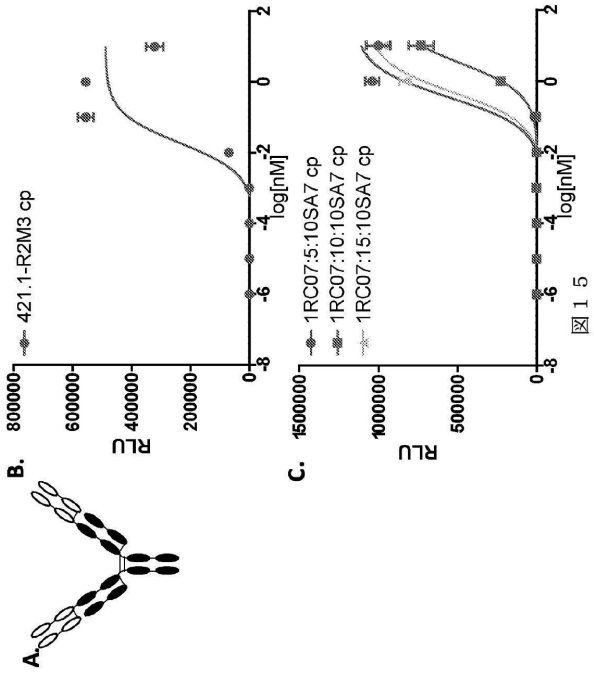


図１５

【図１５－２】

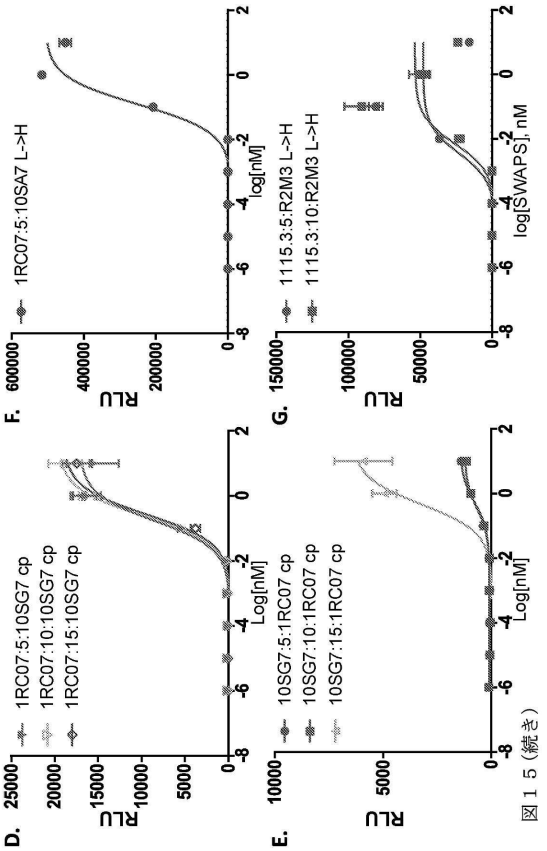


図１５（続き）

【図１６】

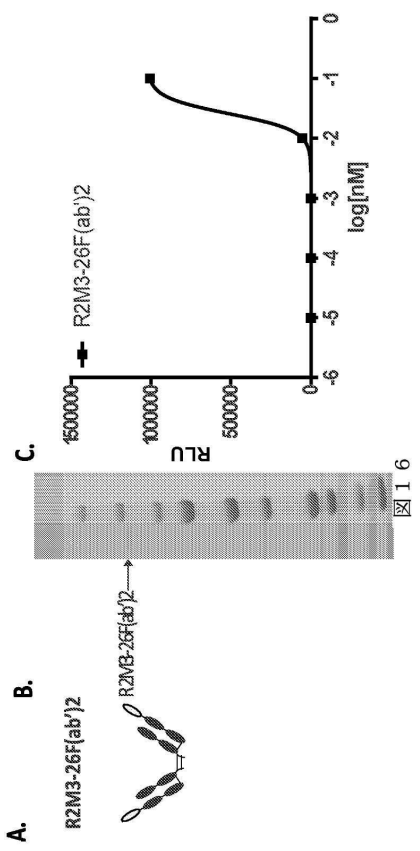


図１６

【図１７－１】

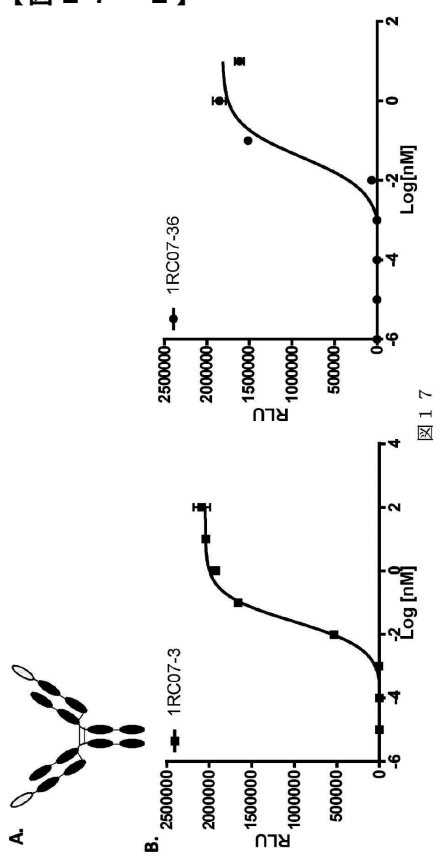


図１７

【図１７－２】

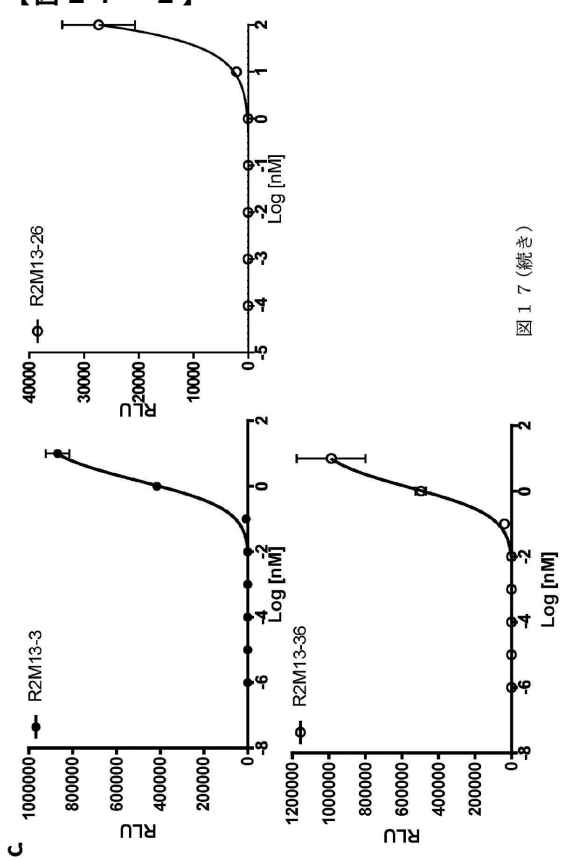


図１７（続き）

【図１７－３】

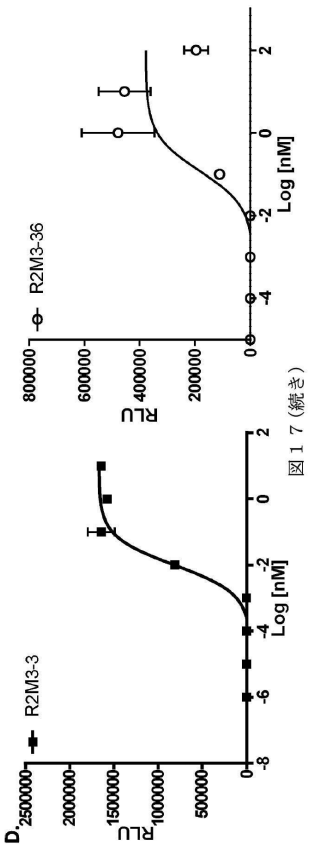


図１７（続き）

【図１７－４】

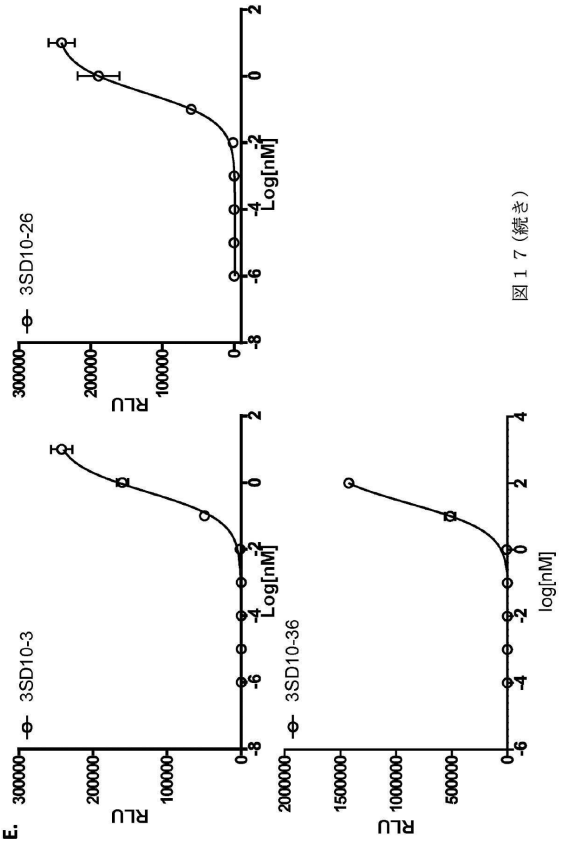


図１７（続き）

【図１７－５】

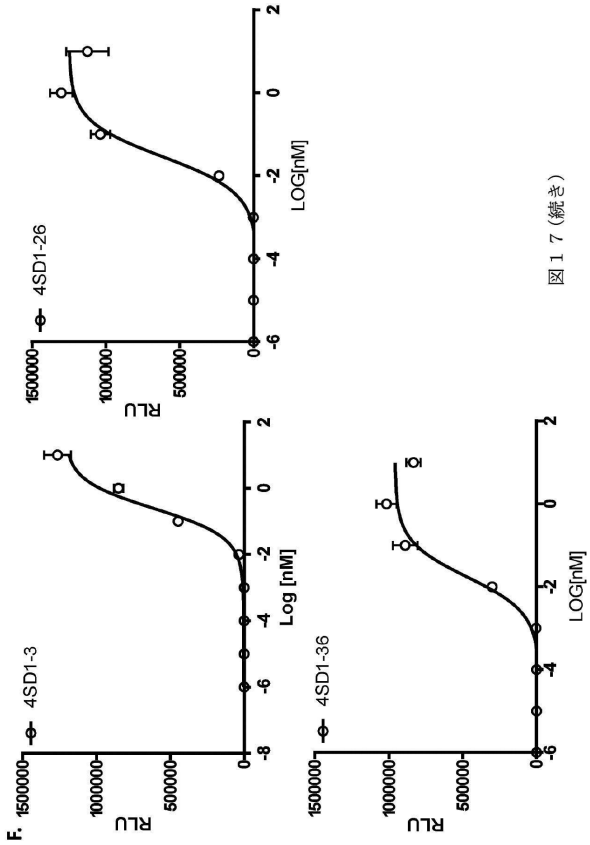


図１７（続き）

【図１７－６】

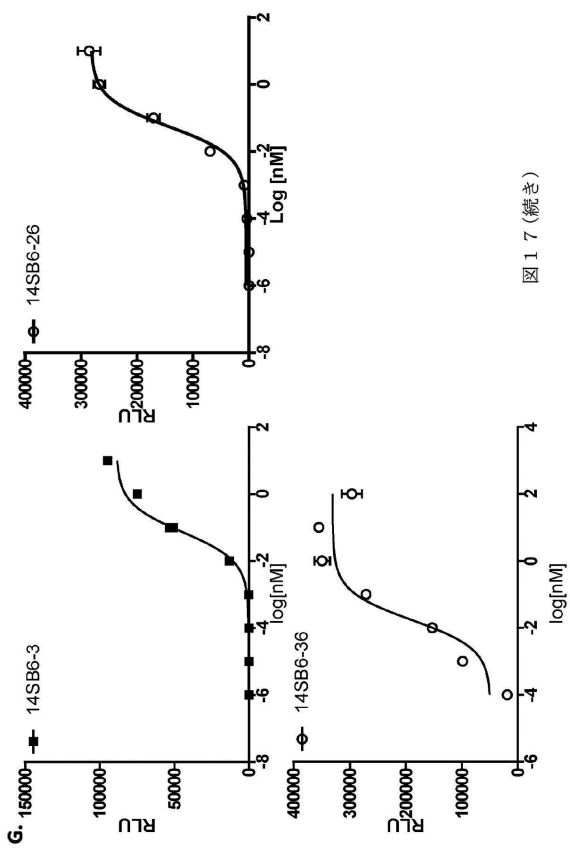


図１７（続き）

【図１７－７】

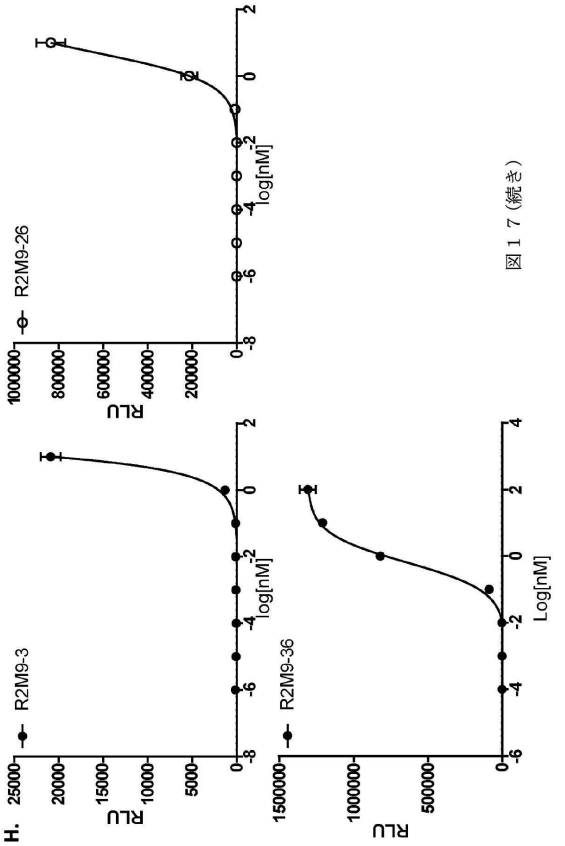


図１７（続き）

【図１８】

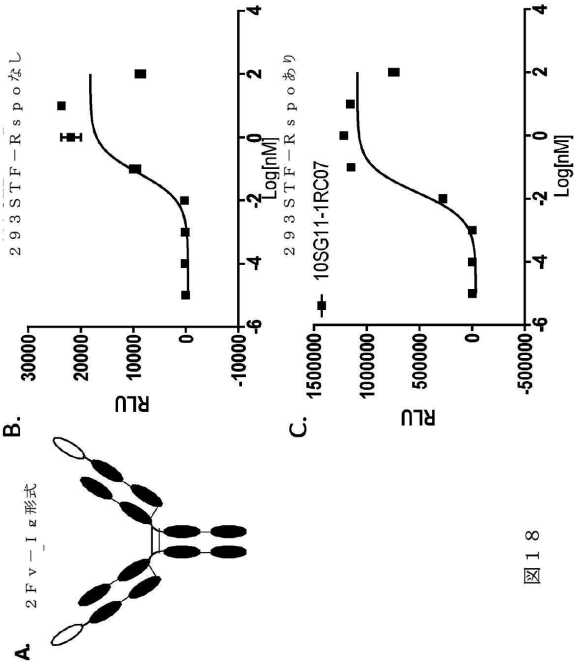


図１８

【図１９－１】

図１９

リーダー＝イタリック体
リンカー＝下線
ＶＨＨ／ｓｄＡｂまたはＶＨもしくはＶＬ＝太字

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFMINTMAWYRQAPGNQRE LVATIRPVVSETTYADAVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKSEDTAIYYCNAKRPWGTRDEYWGQG TLVTVSS**GSGGSQTVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQAPRTLIYYTNT RSSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFP PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:89)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQREL VAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWGQG TQVTVSS**GSGGSQTVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQAPRTLIYYTNT RSSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFP PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQID NO:90)

MYRMQLLSCIALSLALVTNSEVQLVESGGGLVQAGGSLRVSCAASGGTFSRYHMGWFRQAPGKER **EFVSAITWSGGRTYYADFVKGRFTISRDDARNTVYLQMSSLKPEDTAVYYCALTWAPTPTNRRSDY AYWGQGTQVTVSS**GSGGSQTVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQAPR TLIYYTNTRSSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSL TPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:91)

MYRMQLLSCIALSLALVTNSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDMAWYRQAPGNQRE **LVATIRPVVSETTYADAVKGRFTISRSNAMKTVYLQMNSLKSEDTAIYYCNAKRPWGTRDEYWGQG TLVTVSS**GSGGSQTVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQAPRTLIYYTNT RSSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFP PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:92)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***AVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRQAPGNQREL VATIRPVVSETTYADAVKGRFTISRSNAMKTVYLQMNSLKSEDTAIYYCNAKRPWGTRDEYWGQGT LVTVSS**GSGGSQTVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQAPRTLIYYTNTR SSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:93)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***AVQLVDSGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSMYDMGWFRQAPGKER EFVASIRWSSGNTWYADSMKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCYANIYYTRRAPEEYW GQGTLVTVSS**GSGGSQTVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQAPRTLIY YTNTRSSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSV TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:94)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS*EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASSKEKATYYYGMDVW GQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK* (SEQ ID NO:95)

【図１９－２】

図１９（続き）

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTSSANINSIETLGWYRQAPGKQRELI ANMRGGGYMKYAGSLKGRFTMSTESAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCYARTQRMGVVNSYWGQ GTLVTVSS**GSGGSDIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDKSNRP SGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSH RSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:96)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTSSANINSIETLGWYRQAPGKQREL IANMRGGGYMKYAGSLKGRFTMSTESAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYFCNAVTYDGYTIRGQGTLVT VSS**GSGGSDIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDKSNRPSGIPER FSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQA NKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:97)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTSSANINSIETLGWYRQAPGKQRELI ANMRGGGYMKYADSVQGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAQFRNDYGLRYQSTNN YWGQGTLVTVSS**GSGGSDIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDK SNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:98)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTSSANINSIETLGWYRQAPGKQREL IANMRGGGYMKYAGSLKGRFTMSTESAKNTVYLQMNSLKPEDSAVYYCNANYRGNRYWGQGTLV TVSS**GSGGSDIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDKSNRPSGIPE RFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQ ANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:99)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQREL VAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWGQG TQVTVSS**GSGGSDIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDKSNRPS GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:100)

MYRMQLLSCIALSLALVTNSEVQLVESGGGLVQAGGSLRVSCAASGGTFSRYHMGWFRQAPGKER **EFVSAITWSGGRTYYADFVKGRFTISRDDARNTVYLQMSSLKPEDTAVYYCALTWAPTPTNRRSDY AYWGQGTQVTVSS**GSGGSDIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIY DKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSV TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:101)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***AVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRQAPGNQREL VATIRPVVSETTYADAVKGRFTISRSNAMKTVYLQMNSLKSEDTAIYYCNAKRPWGTRDEYWGQGT LVTVSS**GSGGSDIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDKSNRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEE LQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:102)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS***AVQLVDSGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSMYDMGWFRQAPGKER EFVASIRWSSGNTWYADSMKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCYANIYYTRRAPEEYW GQGTLVTVSS**GSGGSDIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDKSN RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFP PSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWK SHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:103)

【図１９－３】

図１９（続き）

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS*EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGKGLE
WVSVISGDGSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K* (SEQ ID NO:104)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ
RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG
QGTQVTVSSGSGSGDVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSRSLLDTDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLI
YLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:105)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ
RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG
QGTQVTVSSGSGSGDIVMTHTPLSLSVTPGEPASISCRSSRSLLDTDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLI
HTLSHRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQSIQLPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:106)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ
RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG
QGTQVTVSSGSGSGSYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQQKPGQSPVLVIYEDSQ
RPSGIPVRFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLF
PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQW
KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:107)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ
RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG
QGTQVTVSSGSGSGEIVLTQSPATLSLSPGEGATLSCRASQSVGTYLTWYRQKPGQAPRLLIYDASN
RATGIPARFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATQFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK
KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:109)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ
RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG
QGTQVTVSSGSGSGDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRSISSYFNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL
QSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQADTFPPTFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:110)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISGNNYYWGWIRQPPG
KGLEWIGSIYFTGGTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVMLITDAFDIWGQ
GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV

【図１９－４】

図１９（続き）

EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GKGSGSGHHHHHH** (SEQ ID NO:111)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*QLQLQESGSGLVKPSQTLSLTCAVSGGSISSGGYSWSWIRQPP
GKGLEWIGSIYHSGSTYYNPSLKSRLTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARFYYDILTGYSYF
DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK153HHHHHH** (SEQ ID NO:112)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRQPPGK
GLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTISVDTSKNQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYH
GLDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGKGSGSGHHHHHH* (SEQ ID NO:113)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQHPG
KGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCARATYGGDAFDIWG
QGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL
SPGKGSGSGHHHHHH* (SEQ ID NO:114)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*QLQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPG
KGLEWIGSIYYTGNTYYNPSLKSRLTVSVDTSKNQFSLNLNSVTAADTAYYCARIGIAVAAPVDHW
GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL
SPGKGSGSGHHHHHH* (SEQ ID NO:115)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*QLQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPG
KGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRDYYDSSGYYY
DYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:116)

【図１９－５】

図１９（続き）

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG
LEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASSKEKATYYYGMD
VWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK*
(SEQ ID NO:117)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ
RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG
QGTQVTVSSGSGSGEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWI
SAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASSKEKATYYYGMDVWGQGTT
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
(SEQ ID NO:118)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*QAVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQ
APRTLIYYTNTRSSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQP
KAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSY
LSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSGSGSGDVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGS
GRIFAIYDIAWYRHPPGNQRELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAV
YYCNAKRPWGSRDEYWGQGTQVTVSS* (SEQ ID NO:119)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ
RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG
QGTQVTVSSGSGSGQAVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQAPRTLIYY
TNTRSSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVT
LFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ
WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:120)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQ
GLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASSKEKATYYYG
MDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCSGSGSGHHHHHH* (SEQ
ID NO:122)

*MYRMQLLSCIALSLALVTNS*AVQLVDSGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSMYDMGWFRQAPGKER
EFVASIRWSSGNTWYADSMKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAANIYTRRAPEEYW
GQGTLVTVSSGSGSGSQTVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQAPRTLIY
YTNTRSSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSV
TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPE
QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:123)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQ
GLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASSKEKATYYYG
MDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCSGSGSGHHHHHH* (SEQ
ID NO:124)

【図１９－６】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*QAVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPG
QAPRTLIYYTNTRSSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLG
QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAAS
SYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:125)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQ
GLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASSKEKATYYYG
MDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:126)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ
RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG
QGTQVTVSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGSGHHHHH* (SEQ ID NO:127)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ
RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG
QGTQVTVSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGSGHHHHH* (SEQ ID NO:134)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRIFSIYDMGWFRQAPGK
EREFVSGIRWSGGTSYADSVKGRFTISKDNAKNTIYLQMNNLKAEDTAVYYCGSRGYWGQGTLVTV
SSGSGSGSYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQQKPGQSPVLVIYEDSQRPSGIPVR
FSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQ
ANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSC
QVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:135)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTSSANINSIETLGWYRQAPGKQ
RELIANMRGGGYMKYAGSLKGRFTMSTESAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCYVKLRDDDYVYRGQ
GTQVTVSSGGSGSGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:136)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ
RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTMSRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCGKRPWGSRDEYWG
QGTQVTVSSGSGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL
QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:137)

【図１９－７】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRIFSIYDMGWFRQAPGK EREFVSGIRWSGGTSYADSVKGRFTISKDNAKNTIYLQMNNLKAEDTAVYYCGSRGYWGQGTLVTV SSGSGSGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:138)*

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTSSANINSIETLGWYRQAPGKQ RELIANMRGGGYMKYAGSLKGRFTMSTESAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCYVKLRDDDYVYRGQ GTQVTVSSGSGSGQAVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQAPRTLIYYT NTRSSDVPERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTL FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:139)*

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRIFSIYDMGWFRQAPGK EREFVSGIRWSGGTSYADSVKGRFTISKDNAKNTIYLQMNNLKAEDTAVYYCGSRGYWGQGTLVTV SSGSGSGQAVVLQEPSLSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTNYYPSWYQQTPGQAPRTLIYYTNTRSSDV PERFSGSIVGNKAALTITGAQPDDESVYFCLLYLGRGIWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEEL QANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:140)*

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTSSANINSIETLGWYRQAPGKQ RELIANMRGGGYMKYAGSLKGRFTMSTESAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCYVKLRDDDYVYRGQ GTQVTVSSGSGSGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNL GGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYSTPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:141)*

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG QGTQVTVSSGSGSGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNL LGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYSTPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:142)*

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRIFSIYDMGWFRQAPGK EREFVSGIRWSGGTSYADSVKGRFTISKDNAKNTIYLQMNNLKAEDTAVYYCGSRGYWGQGTLVTV SSGGSGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNLLGGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:143)*

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTSSANINSIETLGWYRQAPGKQ RELIANMRGGGYMKYAGSLKGRFTMSTESAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCYVKLRDDDYVYRGQ GTQVTVSSGSGSGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASNL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:144)*

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG QGTQVTVSSGSGSGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:145)*

【図１９－８】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRIFSIYDMGWFRQAPGK EREFVSGIRWSGGTSYADSVKGRFTISKDNAKNTIYLQMNNLKAEDTAVYYCGSRGYWGQGTLVTV SSGGSGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:146)*

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTSSANINSIETLGWYRQAPGKQ RELIANMRGGGYMKYAGSLKGRFTMSTESAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCYVKLRDDDYVYRGQ GTQVTVSSGGSGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:147)*

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG QGTQVTVSSGGSGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:148)*

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRIFSIYDMGWFRQAPGK EREFVSGIRWSGGTSYADSVKGRFTISKDNAKNTIYLQMNNLKAEDTAVYYCGSRGYWGQGTLVTV SSGGSGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:149)**

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTSSANINSIETLGWYRQAPGKQ RELIANMRGGGYMKYAGSLKGRFTMSTESAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCYVKLRDDDYVYRGQ GTQVTVSSGSGSGQDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:150)**

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG QGTQVTVSSGSGSGQDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:151)**

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRIFSIYDMGWFRQAPGK EREFVSGIRWSGGTSYADSVKGRFTISKDNAKNTIYLQMNNLKAEDTAVYYCGSRGYWGQGTLVTV SSGSGSGQDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:152)**

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***CEVQLLQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFTYRYLHWVRQAPGQ GLEWMGGIIPIFGTGNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSMVRVPYYYGMD VWGQGTLVTVSS***ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK* (SEQ ID NO:153)**

【図１９－９】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFNFGIYSMTWVRQAPGK GLEWISYISGDSGYTNYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARVGPGGWFDPWG QGTLVTVSS***ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:154)**

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFTNYAMSWVRQAPGK GLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARATGFGTVVFDY WGQGTLVTVSS***ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK* (SEQ ID NO:155)**

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSYIENDGSITTYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARAPYYYGSGSLF RLDYWGQGTLVTVSS***ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:156)**

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNNFMHWVRQAPG QGLEWMGWINPNSGGTKYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSVGEVGATM LGIGVWYWFDPWGQGTLVTVSS***ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:157)**

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG QGTQVTVSS***DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGS***AVQQVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFTLDYYAISWFRQAPGKKRELVADITSGGSTNYADSVKGRFTISRDNAKNTIYLQMNSLKPEDTA VYFCNAVTYNGYTIWGQGTQVTVSS***GSGSGHHHHHH* (SEQ ID NO:2192)**

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARA***VQQVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAISWFRQAPGKK RELVADITSGGSTNYADSVKGRFTISRDNAKNTIYLQMNSLKPEDTAVYFCNAVTYNGYTIWGQGTQ VTVSS***DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGS***AVQQVESGGGLVQPGGSLRLACAGSGRIF AIYDIAWYRHPPGNQRELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYC NAKRPWGSRDEYWGQGTQVTVSS*** (SEQ ID NO:2193)

【図１９－１０】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG QGTQVTVSSGGSGSAVQQVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAISWFRQAPGKKR ELVADITSGGSTNYADSVKGRFTISRDNAKNTIYLQMNSLKPEDTAVYFCNAVTYNGYTIWGQGTQV TVSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:158)**

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGRIFAIYDIAWYRHPPGNQ RELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYYCNAKRPWGSRDEYWG QGTQVTVSSGSGSGSGGGSGSGSAVQQVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAISWFRQA PGKKRELVADITSGGSTNYADSVKGRFTISRDNAKNTIYLQMNSLKPEDTAVYFCNAVTYNGYTIWG QGTQVTVSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGSAVQQVESGGGLVQAGGSLRLACAGSGR IFAIYDIAWYRHPPGNQRELVAMIRPVVTEIDYADSVKGRFTISRNNAMKTVYLQMNNLKPEDTAVYY CNAKRPWGSRDEYWGQGTQVTVSS***

【図１９－１１】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGK GLEWVSVISGDGSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWG QGTLVTVSS**GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQ APVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLG** SGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGS

【図１９－１５】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRKPPGK GLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTISVDTSKNQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYH GLDVWGKGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGSGG**EVQLVESGGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRDAPGKGLEWVASISSTSGSKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYSCAKTYYDFWSGYYTFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2219)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQDKPGQDP VLVIYEDSQRPSGIPVRFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTV**LGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAAKS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:2220)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQKKPGKKP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK**RTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:2221)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRKPPGK GLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTISVDTSKNQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYH GLDVWGKGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGSGSGSGG**EVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRDAPGKGLEWVASISSTSGSKYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYSCAKTYYDFWSGYYTFDYWGDGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2222)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQDKPGQDP VLVIYEDSQRPSGIPVRFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTV**LGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAAKS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:2223)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQKKPGKKP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK**RTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:2224)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRKPPGK GLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTISVDTSKNQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYH GLDVWGKGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGSGSGSGG **EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRDAPGKGLEWVASISSTSGSKYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYSCAKTYYDFWSGYYTFDYWGDGTLVTVSS**ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLKSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2225)

【図１９－１６】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQDKPGQDP VLVIYEDSQRPSGIPVRFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTV**LGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAAKS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:2226)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DIQMTQSPSSLSAYVGDRVTITCRVSQGISSYLNWYQKKPGKKP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYTIPFTFGPGTKVDIK**RTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLESTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:2227)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRKPPGK GLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTISVDTSKNQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYH GLDVWGKGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLESVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGSG**EVQLVESGG LVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRDAPGKGLEWISTISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYSCARAGYGRYYYGMDVWGDGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLKSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2228)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQDKPGQDP VLVIYEDSQRPSGIPVRFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTV**LGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAAKS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:2229)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DIQMTQSPSSLSAYVGDRVTITCRVSQGISSYLNWYQKKPGKKP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYTIPFTFGPGTKVDIK**RTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLESTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:2230)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRKPPGK GLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTISVDTSKNQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYH GLDVWGKGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGSGSGSGSG**EVQLV ESVGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRDAPGKGLEWISTISGSGGSTYYADSVKGRFTIS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGYGRYYYGMDVWGDGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLKSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2231)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQDKPGQDP VLVIYEDSQRPSGIPVRFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTV**LGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAAKS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:2232)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DIQMTQSPSSLSAYVGDRVTITCRVSQGISSYLNWYQKKPGKKP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYTIPFTFGPGTKVDIK**RTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLESTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:2233)

【図１９－１７】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRKPPGK GLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTISVDTSKNQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYH GLDVWGKGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLESVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGSGSGSGSGSGG **EVQLVESVGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRDAPGKGLEWISTISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYSCARAGYGRYYYGMDVWGDGTTVTVSS**ASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLKSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2234)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DIQMTQSPSSLSAYVGDRVTITCRVSQGISSYLNWYQKKPGKKP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYTIPFTFGPGTKVDIK**RTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLESTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:2235)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQDKPGQDP VLVIYEDSQRPSGIPVRFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTV**LGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAAKS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:2236)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESVGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRDAPGK GLEWISTISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGYGRYYYGMD VWGDGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLKSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGS**QVQLQQWGAGLLK PSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRKPPGKGLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTISVDTSKNQFSL NLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYHGLDVWGKGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLESVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2237)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DIQMTQSPSSLSAYVGDRVTITCRVSQGISSYLNWYQKKPGKKP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYTIPFTFGPGTKVDIK**RTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLESTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:2238)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQDKPGQDP VLVIYEDSQRPSGIPVRFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTV**LGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAAKS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:2239)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESVGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRDAPGK GLEWISTISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGYGRYYYGMD VWGDGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLKSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGSGSGSGSG**QVQLQQWG AGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRKPPGKGLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTISVDTSK NQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYHGLDVWGKGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLESVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2240)

【図１９－１８】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DIQMTQSPSSLSAYVGDRVTITCRVSQGISSYLNWYQKKPGKKP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYTIPFTFGPGTKVDIK**RTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLESTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:2241)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQDKPGQDP VLVIYEDSQRPSGIPVRFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTV**LGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS* (SEQ ID NO:2242)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESVGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRDAPGK GLEWISTISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGYGRYYYGMD VWGDGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLKSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGSGSGSGSGSGG**QVQ LQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRKPPGKGLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTIS VDTSKNQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYHGLDVWGKGTTVTVSS**ASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLESVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALG APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2243)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRQPPGK GLEWIGEIDHTGSTNYEPSLRSRVTISVDTSKNQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYH GLDVWGQGTTVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGSGHHHHHH* (SEQ ID NO:2244)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK**RTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:2245)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQQKPGQSP VLVIYEDSQRPSGIPVRFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTV**LGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSGSGSG**EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVASISSTSGSKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYSCAKTYYDFWSGYYTFDYWGQGTLVTVSS**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2246)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVKLVESGGGLVKLGGSLRLSCAASGFSFSTSYMSWVRQTPEK RLELVAAINLNGGSTYYSDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAFYYCASELAGYGTPFAYW GQGTLVTVSA**ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGSGSGHHHHHH* (SEQ ID NO:2247)

【図１９－１９】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*AAA**DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCKASQSISYNLHWYQQKSHE**
SPRLLIKYTSQSISGIPSRFSGSGSGTDFTLTINNVETEDFGMYFCQQSNSWPLTFGAGTKLEVKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS
TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC**GGGGS**GGGGS**EVQLVQSGAEVKKPGASV**
ASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRS
DDTAVYYCASSKEKATYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP
KSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**GSGSG** HHHHHH* (SEQ ID NO:2248)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*AAA**DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCKASQSISYNLHWYQQKSHE**
SPRLLIKYTSQSISGIPSRFSGSGSGTDFTLTINNVETEDFGMYFCQQSNSWPLTFGAGTKLEVKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS
TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGGS**EVQLVQSGAEVKKPGASV**
KVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMEL
RSLRSDDTAVYYCASSKEKATYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**GSGSG**HHHHHH* (SEQ ID NO:2249)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGK**
GLEWVSVISGDGSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWG
QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQ**
APVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLG
SGSGDKHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**GSGSG****EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFT**
SYYISWVRQAPGKGLEWVAEISPYSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC
ALRARPPIRLHPRGSVMDYWGQGTLVTVSSGSAASGSSGGSSSSGA**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI**
TCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQSYTTPPTFGQGTKVEIK* (SEQ ID 2250)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQ**
GLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASSKEKATYYYG
MDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG*
(SEQ ID 2251)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPK
LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKGSGSGSY
VLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKVGHKYASWYQQKPGQSPVLVIYEDSQRPSGIPVRFSGSNSGNT
ATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTDVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLI
SDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTV
EKTVAPTECS* (SEQ ID 2252)

【図１９－２０】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC*QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTYRYLHWVRQAPGQ
GLEWMGRIIPVLKITNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAVVDDAFDIWGQGTM
VTVSSGSGSGQVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVSGASFSGHYWTWIRQPPGKGLEWIGEIDHTGS
TNYEPSLRSRVTISVDTSKNQFSLNLKSVTAADTAVYYCARGGQGGYDWGHYHGLDVWGQGTTVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
(SEQID 2253)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQ**
GLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCASSKEKATYYYG
MDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:2254)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGK**
GLEWVSVISGDGSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWG
QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQ**
APVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLG
SGSGDVKLVESGGGLVKLGGSLRLSCAASGFSFSTSYMSWVRQTPEKRLELVAAINLNGGSTYYSDTV
KGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAFYYCASELAGYGTPFAYWGQGTLVTVSSAGS
AASGSSGGSSSSGA**DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCKASQSISYNLHWYQQKSHESPRLLIKYTSQSI**
SGIPSRFSGSGSGTDFTLTINNVETEDFGMYFCQQSNSWPLTFGAGTKLEVKGSGSG HHHHHH*
(SEQ ID NO:2255)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGK**
GLEWVSVISGDGSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWG
QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQ**
APVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLG
SGSGGSGSGGSSGGDVKLVESGGGLVKLGGSLRLSCAASGFSFSTSYMSWVRQTPEKRLELVAAI
NLNGGSTYYSDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAFYYCASELAGYGTPFAYWGQGTLVT
VSAGSAASGSSGGSSSSGA**DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCKASQSISYNLHWYQQKSHESPRLLIK**
YTSQSISGIPSRFSGSGSGTDFTLTINNVETEDFGMYFCQQSNSWPLTFGAGTKLEVKGSGSG HHHH
HH* (SEQ ID NO:2257)

【図１９－２１】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVKLVESGGGLVKLGGSLRLSCAASGFSFSTSYMSWVRQTPEK**
RLELVAAINLNGGSTYYSDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAFYYCASELAGYGTPFAYW
GQGTLVTVSAGSAASGSSGGSSSSGA**DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCKASQSISYNLHWYQQKSH**
ESPRLLIKYTSQSISGIPSRFSGSGSGTDFTLTINNVETEDFGMYFCQQSNSWPLTFGAGTKLEVKGS
GSGGSGSGGSGGGSGGGSGGGS**EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGKGLEWVSVISGDGS**
YTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWGQGTLVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSGGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDKSNRPS**
GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGSGSGHHHHHH*
(SEQ ID NO:2259)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***DVKLVESGGGLVKLGGSLRLSCAASGFSFSTSYMSWVRQTPEK**
RLELVAAINLNGGSTYYSDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAFYYCASELAGYGTPFAYW
GQGTLVTVSAGSAASGSSGGSSSSGA**DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCKASQSISYNLHWYQQKSH**
ESPRLLIKYTSQSISGIPSRFSGSGSGTDFTLTINNVETEDFGMYFCQQSNSWPLTFGAGTKLEVKGS
GSGGSGSGGSSGG**EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGKGLEWVSVI**
SGDGSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWGQGTLVTVS
SGGGGSGGGGSGGGGS*DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYD
KSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGSGSGHHHH
HH* (SEQ ID NO:2260)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGK**
GLEWVSVISGDGSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWG
QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQ**
APVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLG
SGSG**EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYISWVRQAPGKGLEWVAEISPYSGSTYYAD**
SVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCALRARPPIRLHPRGSVMDYWGQGTLVTVSSGS
AASGSSGGSSSSGA**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF**
LYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVEIKGSGSGHHHHHH*
(SEQ ID NO:2261)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGK**
GLEWVSVISGDGSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWG
QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQ**
APVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLG
SGSGGSGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYYISWVRQAPGKGLEWVAEISPYSG
STYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCALRARPPIRLHPRGSVMDYWGQGTLV
TVSSGSAASGSSGGSSSSGA**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLL**
IYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVEIKGSGSGHHH
HHH* (SEQ ID NO:2262)

【図１９－２２】

図１９（続き）

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGK**
GLEWVSVISGDGSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWG
QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQ**
APVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLG
SGSGGSGSGGSSGG**EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGKGLEWVAEI**
SPYSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCALRARPPIRLHPRGSVMDYWG
QGTLVTVSSGSAASGSSGGSSSSGA**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPG**
KAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQGTKVEIKGS
GSGHHHHHH* (SEQ ID NO:2263)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYISWVRQAPGK**
GLEWVAEISPYSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCALRARPPIRLHPRG
SVMDYWGQGTLVTVSSGSAASGSSGGSSSSGA**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVA**
WYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQG
TKVEIKGSGSGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGKGLEWVSVISGD
GSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWGQGTLVTVSSGG
GGSGGGGSGGGGSGGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDKSNR**
PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLGSGSGHHHHHH*
(SEQ ID NO:2264)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYISWVRQAPGK**
GLEWVAEISPYSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCALRARPPIRLHPRG
SVMDYWGQGTLVTVSSGSAASGSSGGSSSSGA**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVA**
WYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQG
TKVEIKGSGSGGSGSGGSSGGSGGE**VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYTLSWVRQAPGK**
GLEWVSVISGDGSYTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNFIKYVFANWG
QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNIGSFYVHWYQQKPGQ**
APVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSYANTLSLVFGGGTKLTVLG
SGSGHHHHHH* (SEQ ID NO:2266)

*MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARC***EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYYISWVRQAPGK**
GLEWVAEISPYSGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCALRARPPIRLHPRG
SVMDYWGQGTLVTVSSGSAASGSSGGSSSSGA**DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVA**
WYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPPTFGQG
TKVEIKGSGSGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**GSGSG****EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA**
ASGFTFSHYTLSWVRQAPGKGLEWVSVISGDGSYTYYADSVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAE
DTAVYYCARNFIKYVFANWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS**DIELTQPPSVSVAPGQTARIS**
CSGDNIGSFYVHWYQQKPGQAPVLVIYDKSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCQ
SYANTLSLVFGGGTKLTVL* (SEQ ID NO:2267)

【図２０】

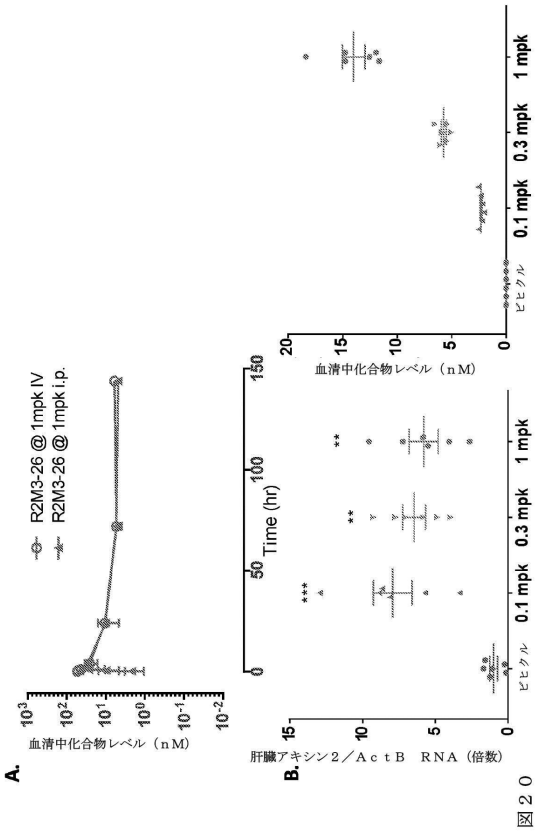


図２０

【図２１－１】

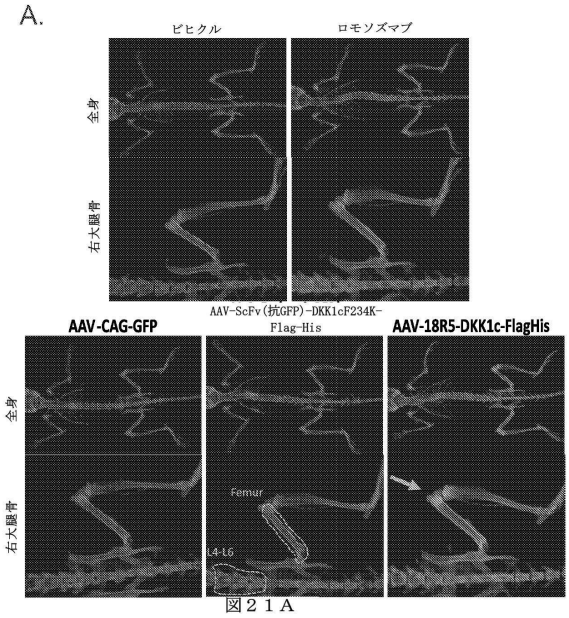


図２１Ａ

【図２１－２】

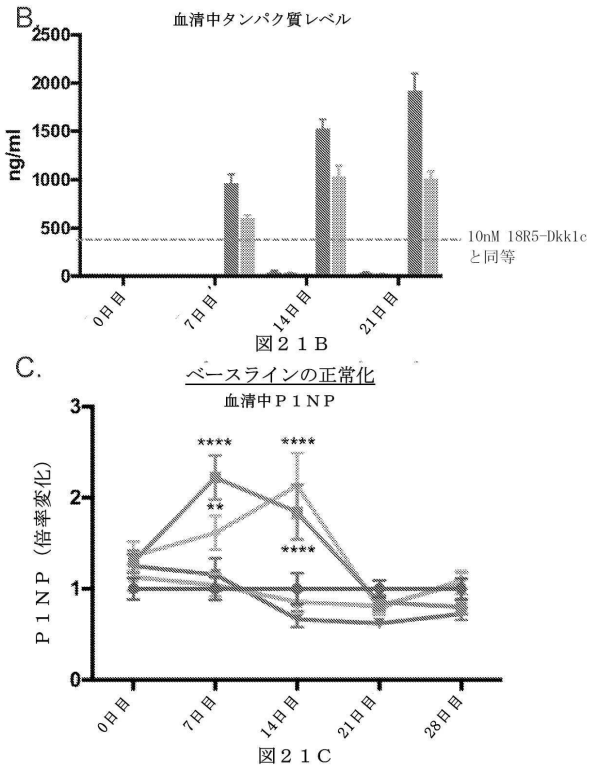


図２１Ｂ

図２１Ｃ

【図２１－３】

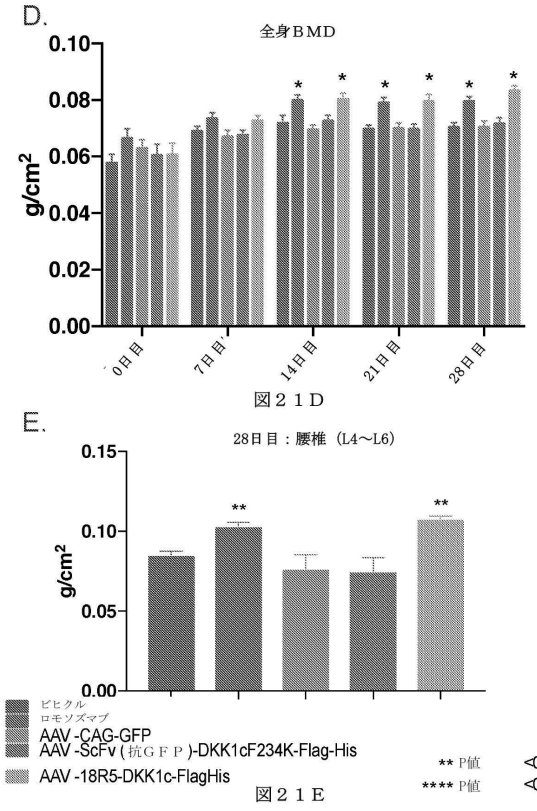


図２１Ｄ

図２１Ｅ

【図２２－１】

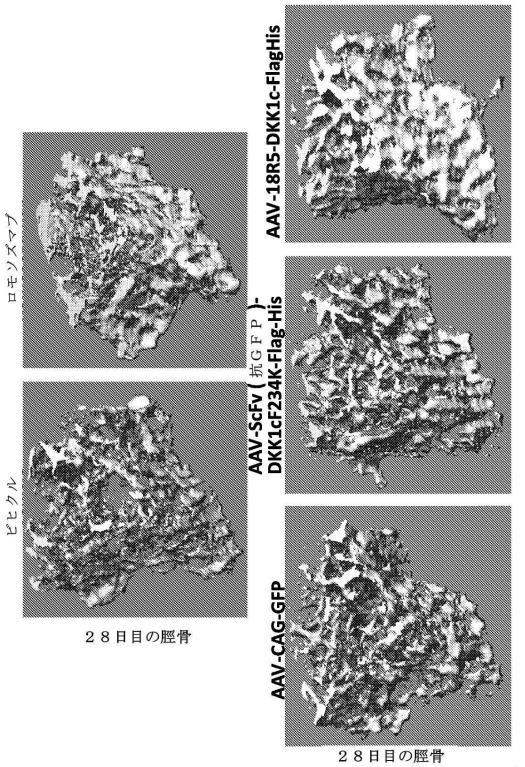


図２２Ａ

【図２２－２】

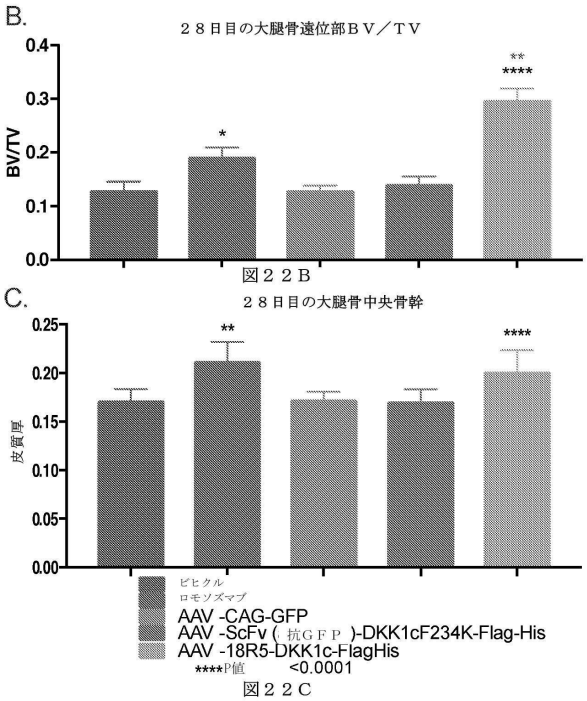


図２２Ｂ

図２２Ｃ

【図２２－３】

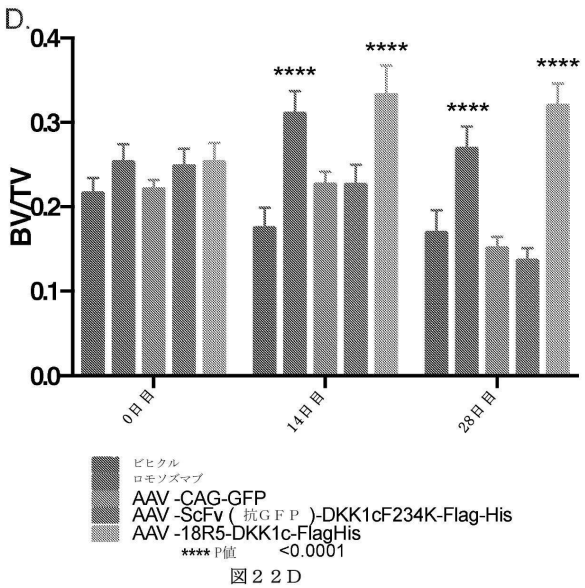


図２２Ｄ

【図２３】

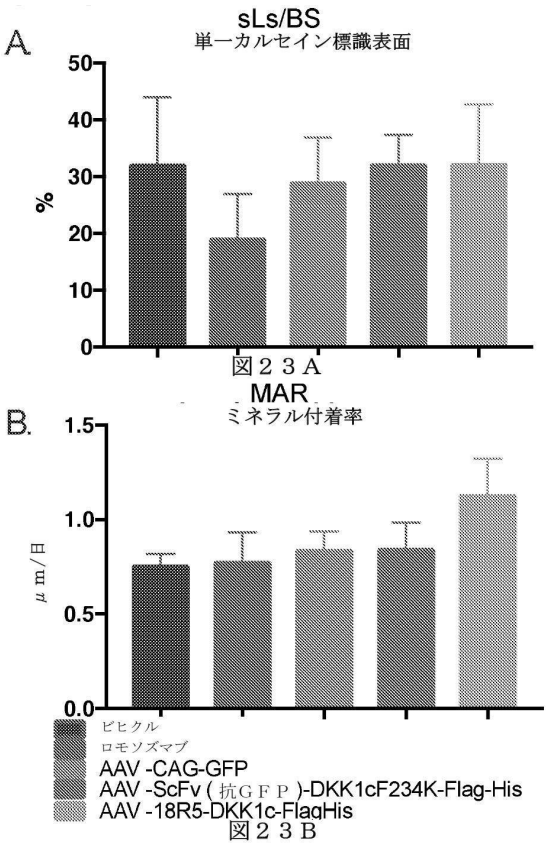
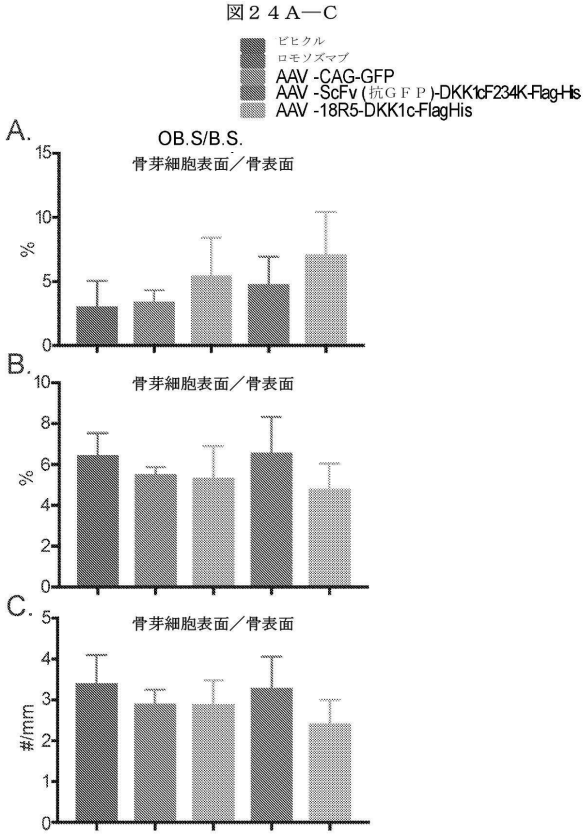


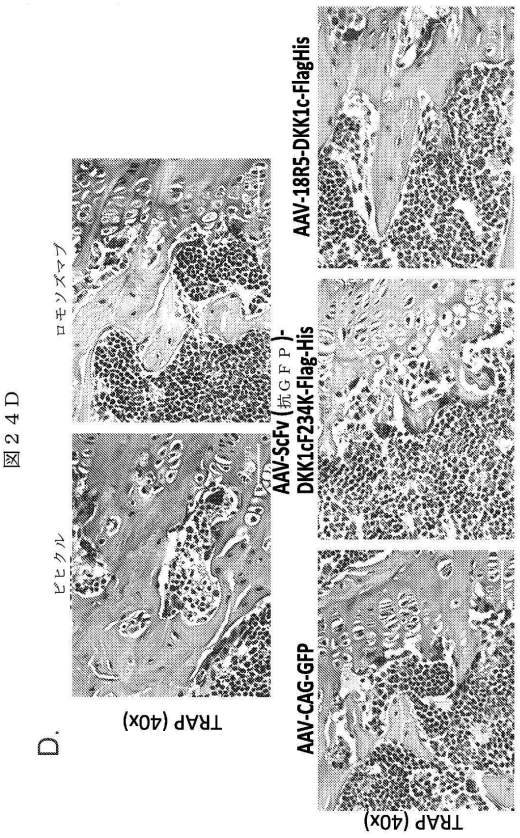
図２３Ａ

図２３Ｂ

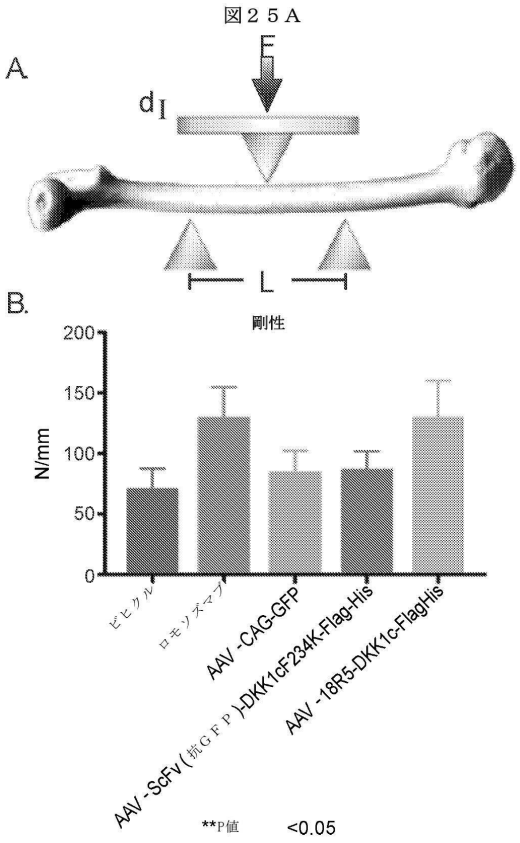
【図２４－１】



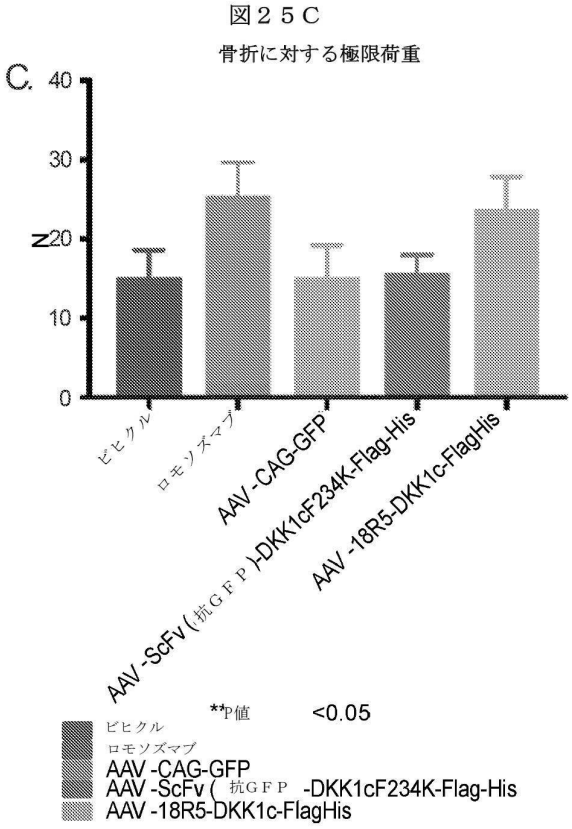
【図２４－２】



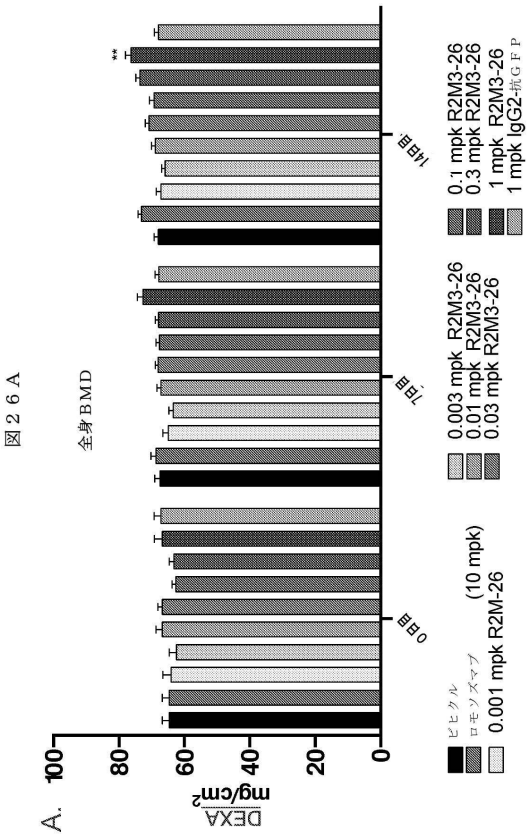
【図２５－１】



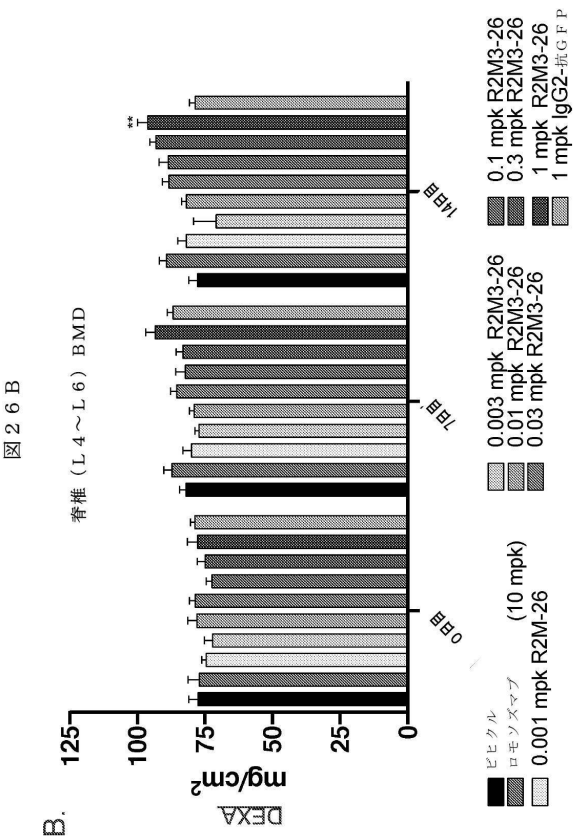
【図２５－２】



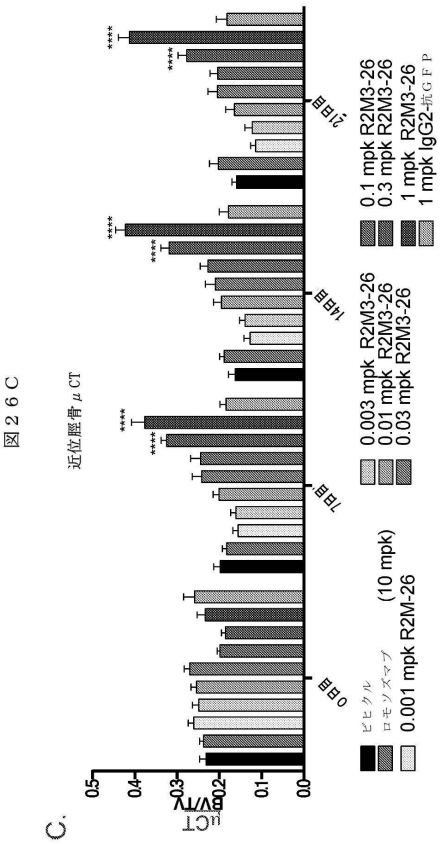
【図２６－１】



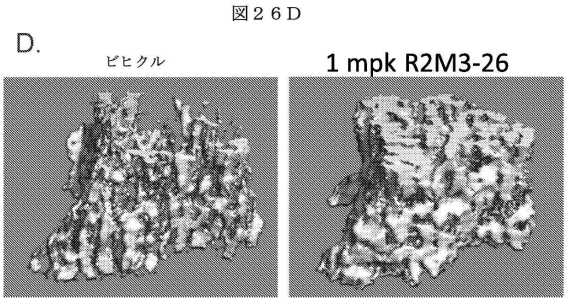
【図２６－２】



【図２６－３】

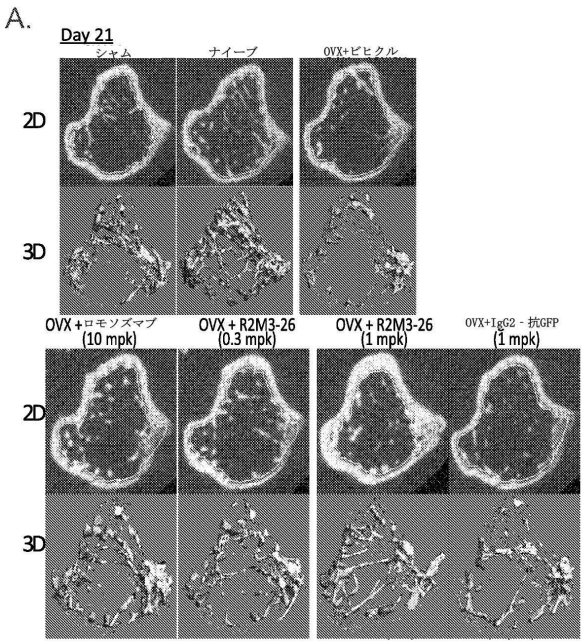


【図２６－４】



【図２７－１】

図２７Ａ



【図２７－２】

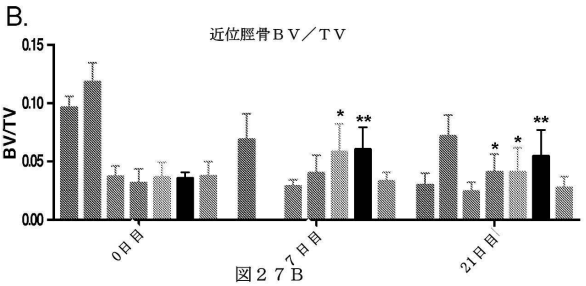


図２７Ｂ

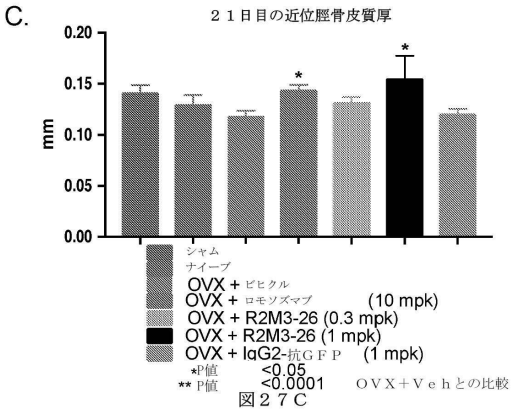


図２７Ｃ

【図２８－１】

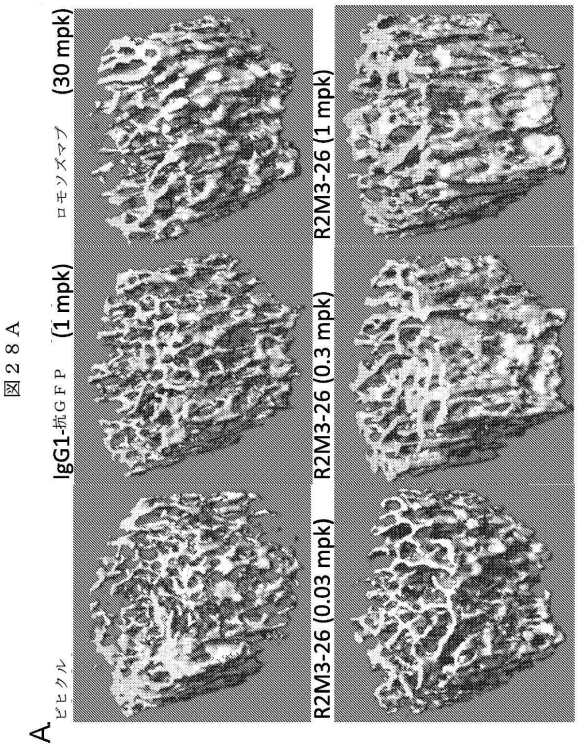


図２８Ａ

【図２８－２】

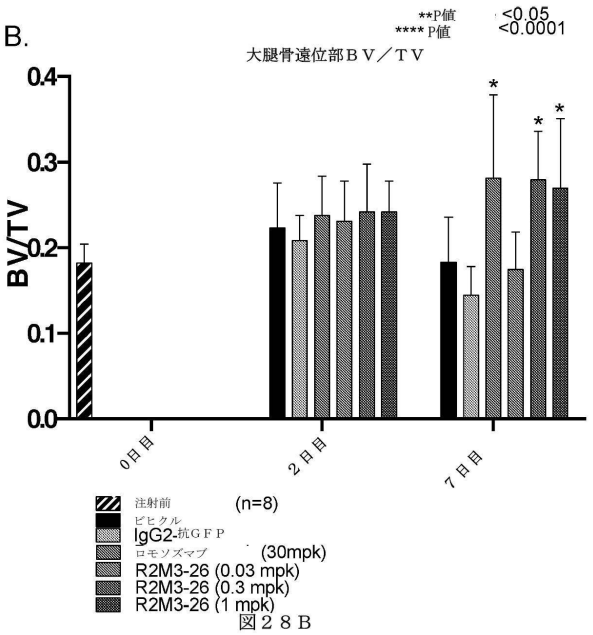


図２８Ｂ

【図２８－３】

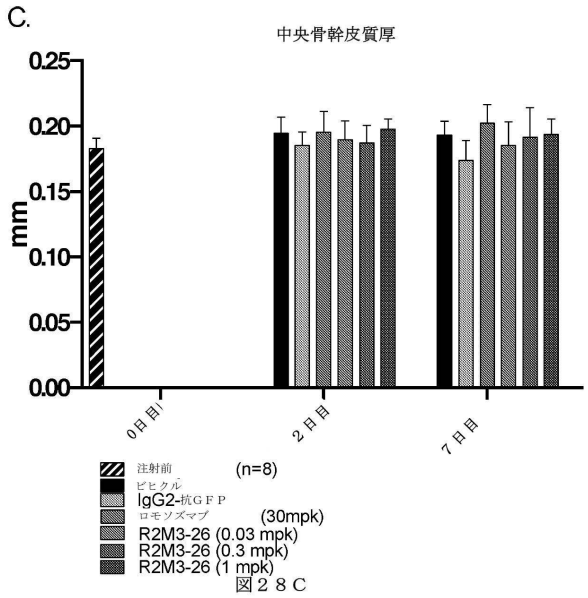


図２８Ｃ

【図２９－１】

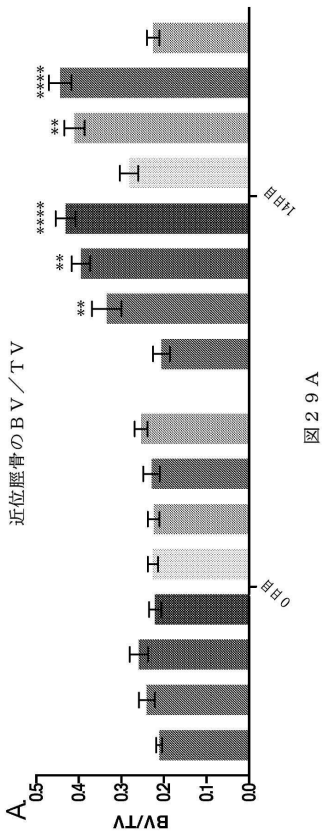


図２９Ａ

【図２９－２】

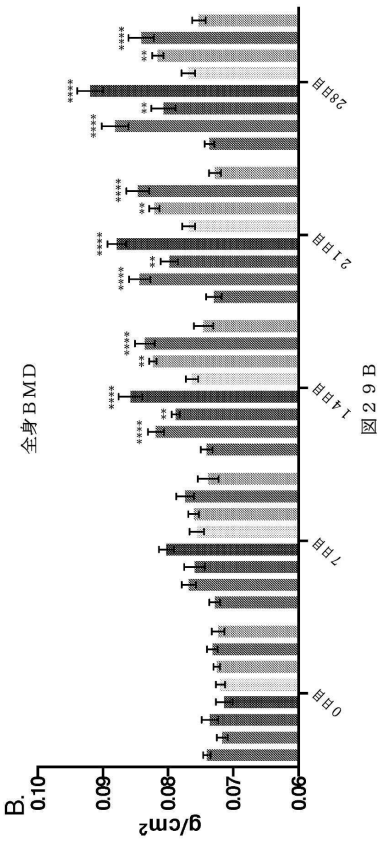


図２９Ｂ

【図２９－３】

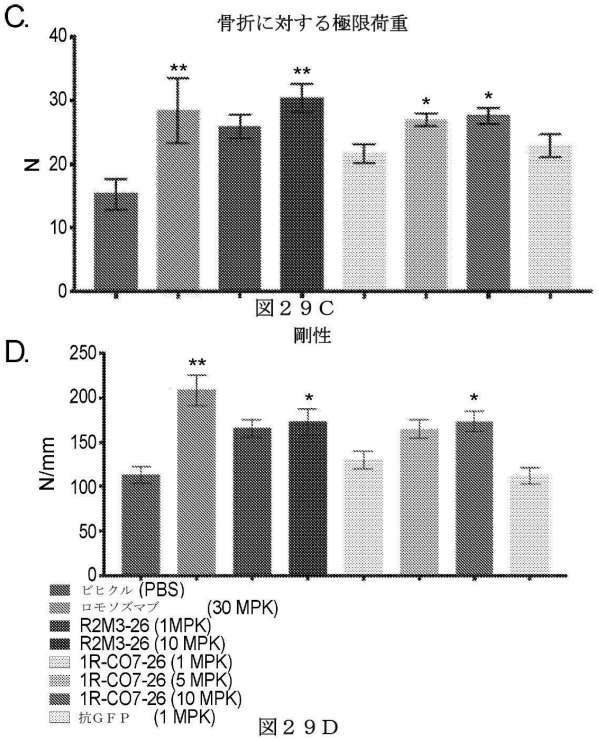


図２９Ｃ

図２９Ｄ

【図３０】

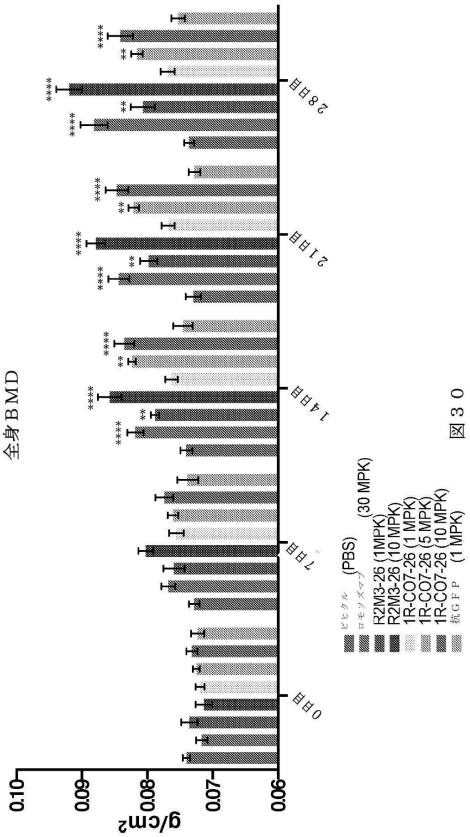


図３０

【図３１】

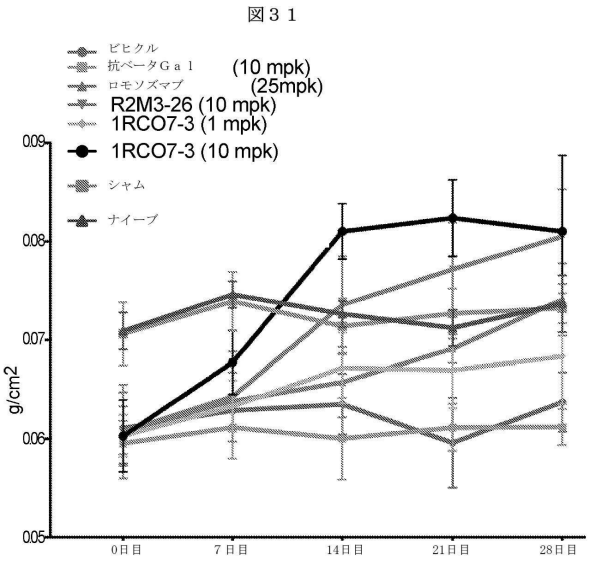


図３１

【図３２】

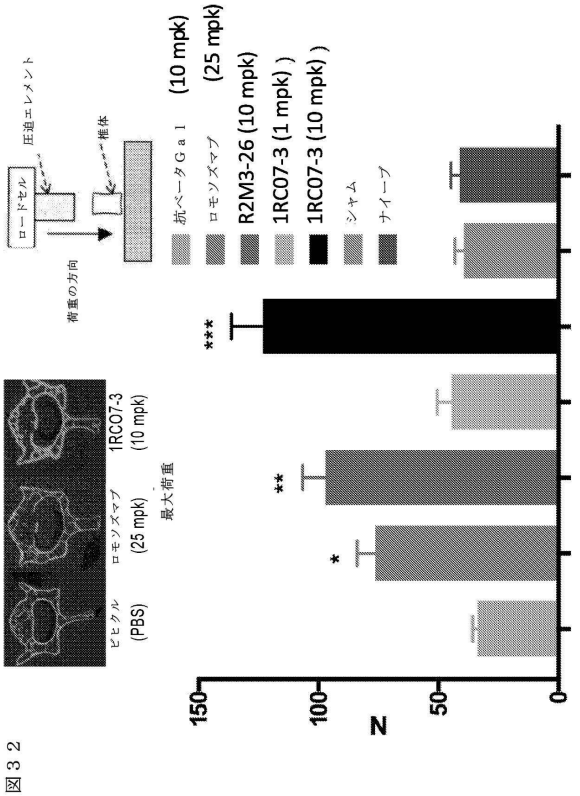
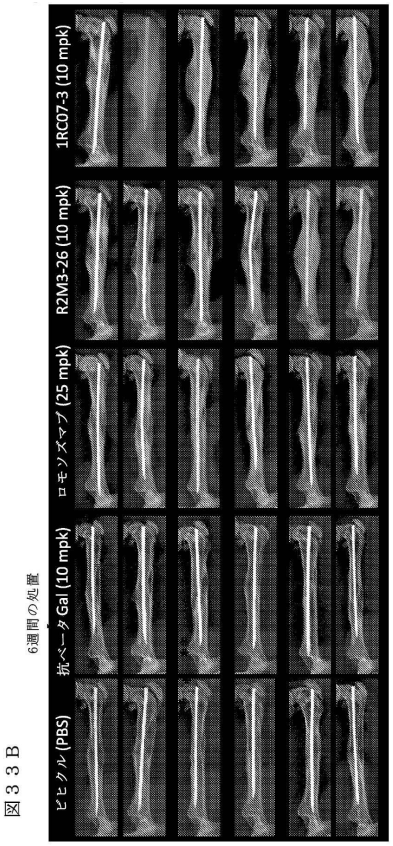


図３２

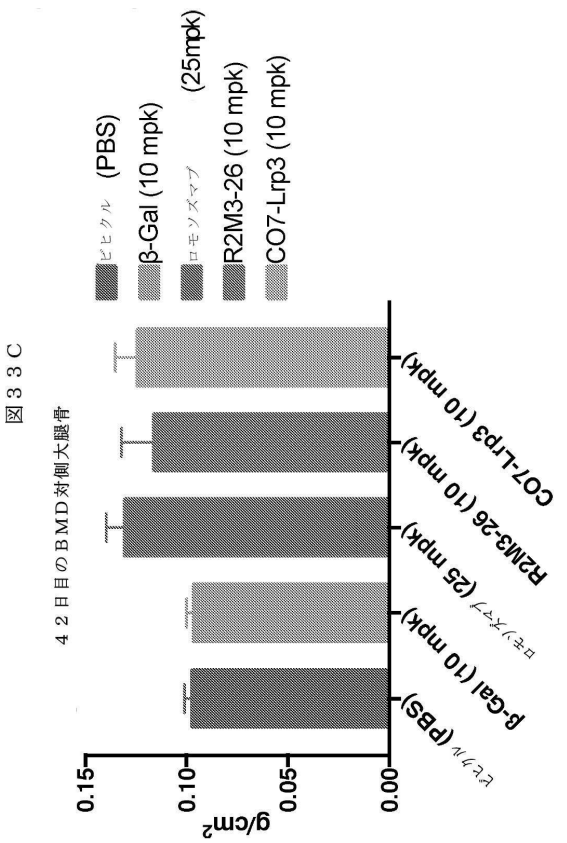
【図３３－１】

図３３Ａ

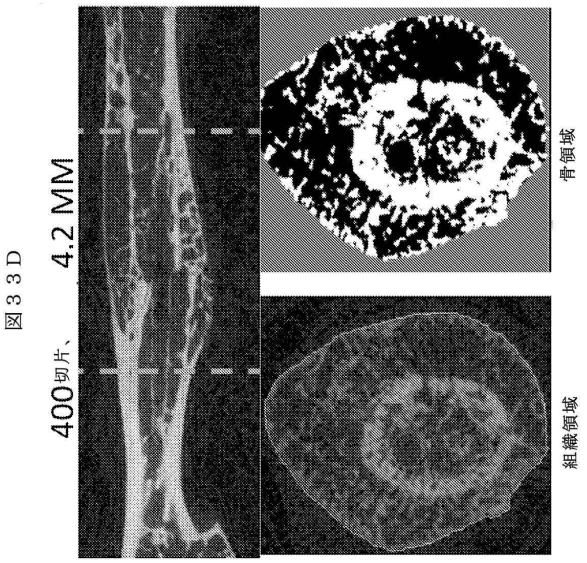
【図３３－２】



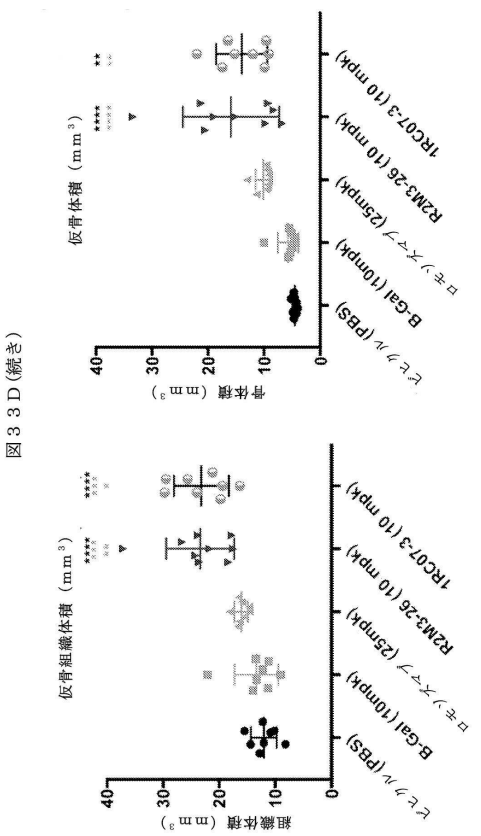
【図３３－３】



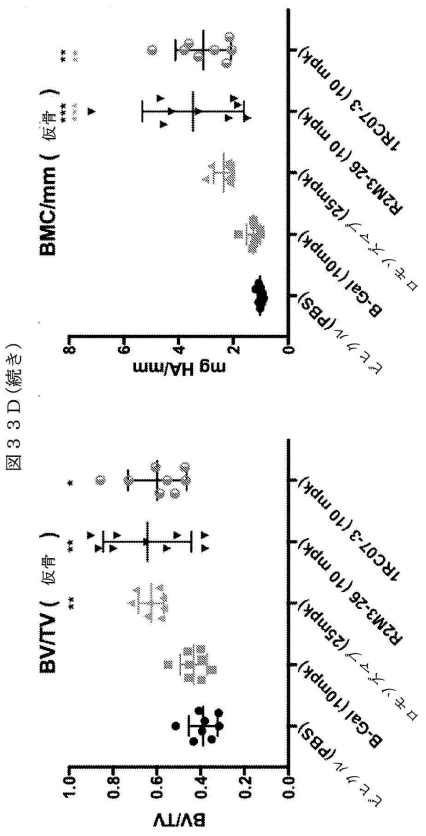
【図３３－４】



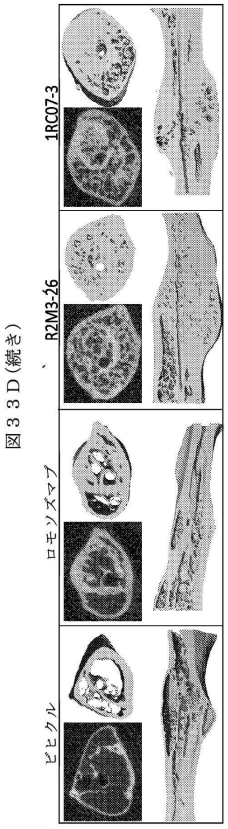
【図３３－５】



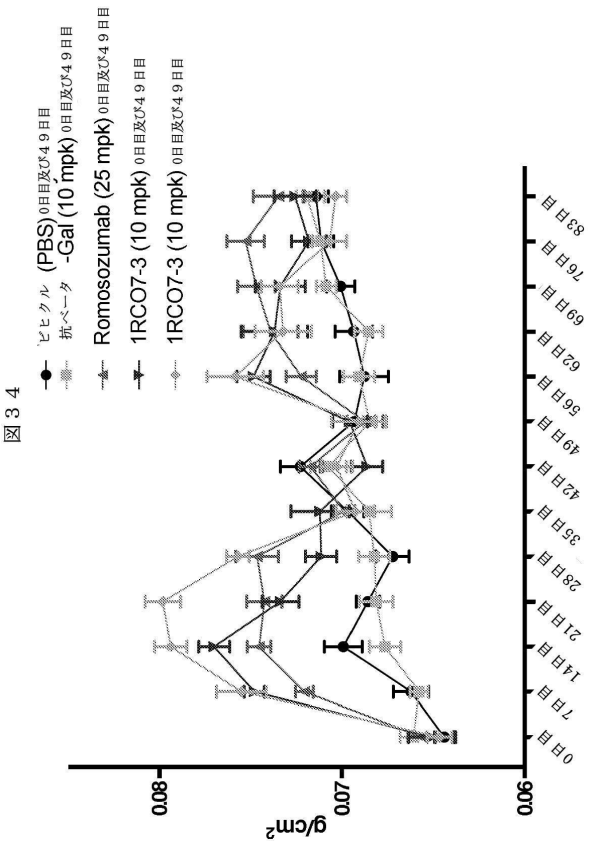
【図３３－６】



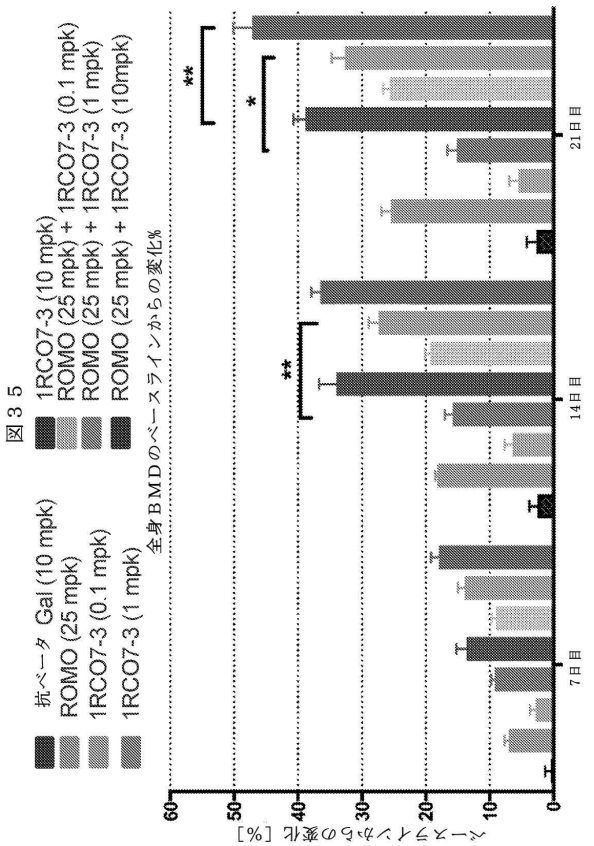
【図３３－７】



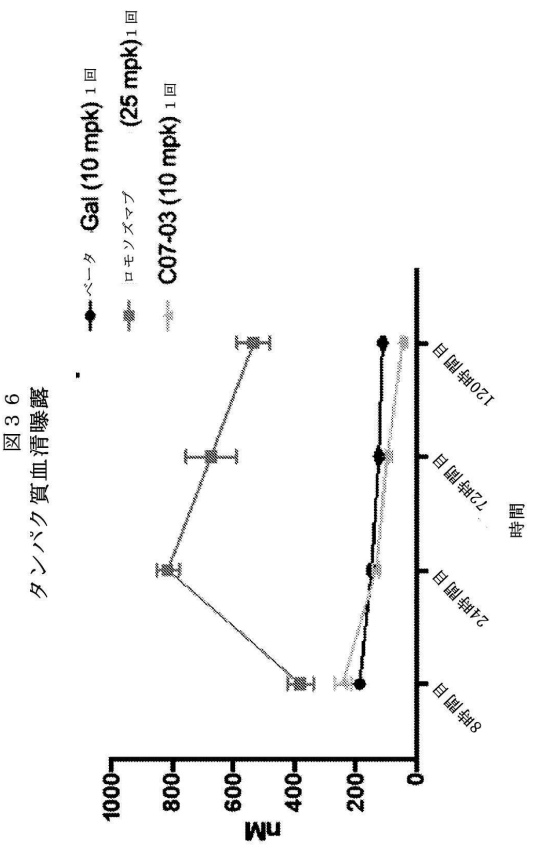
【図３４】



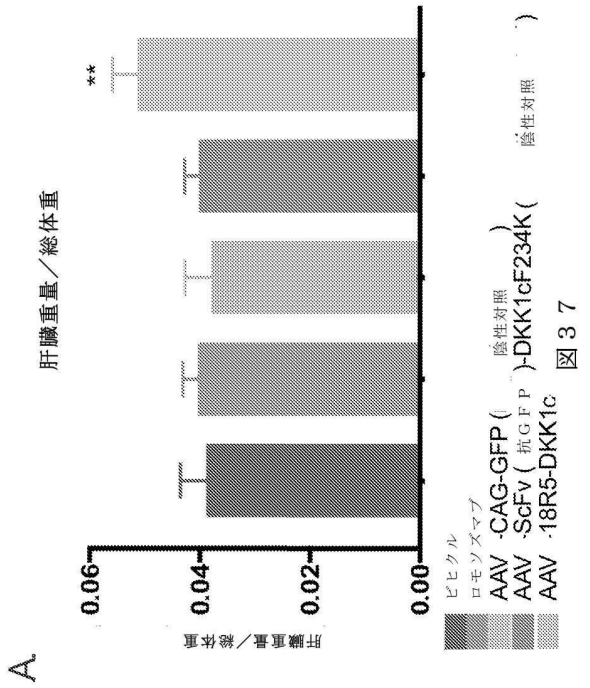
【図３５】



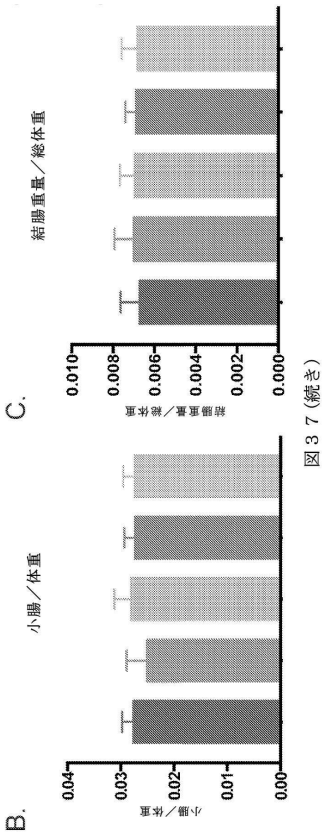
【図３６】



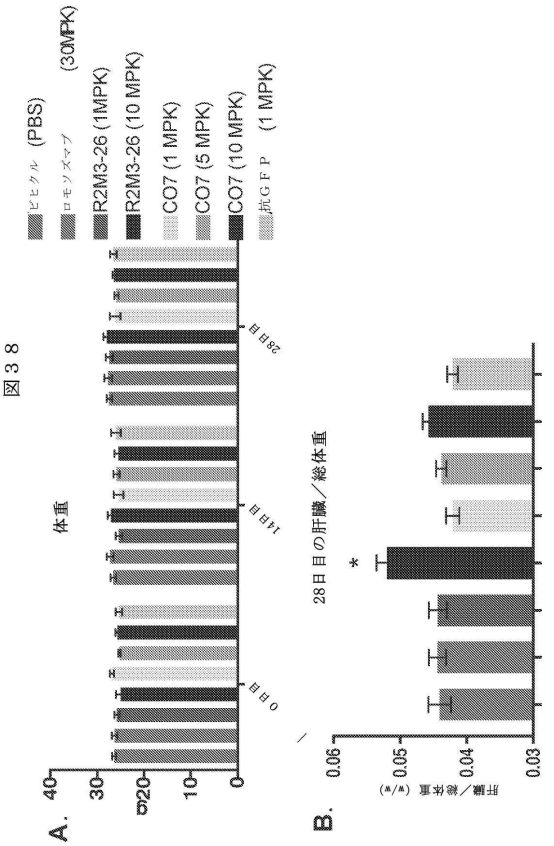
【図３７－１】



【図３７－２】



【図３８】



【図３９－１】

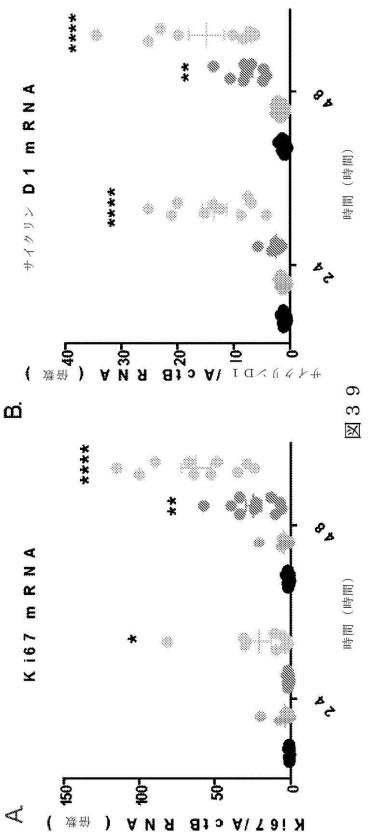


図３９

【図３９－２】

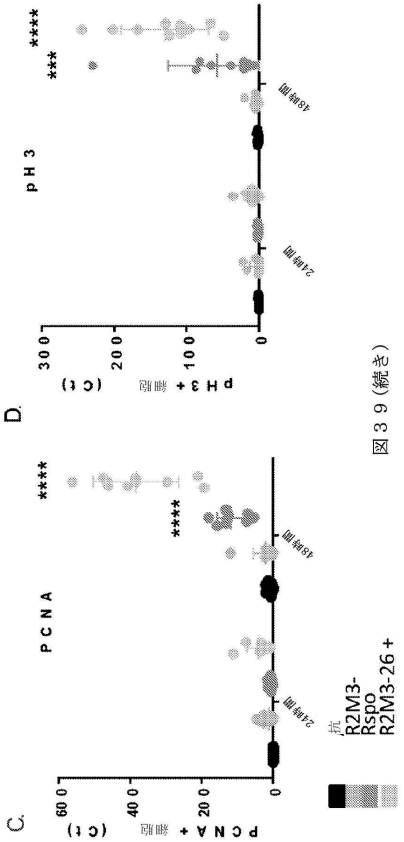


図３９（続き）

【図４０－１】

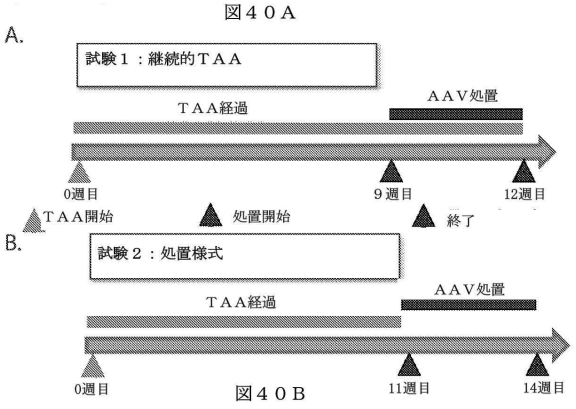
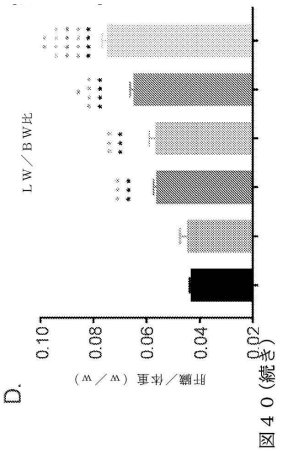


図４０Ａ

図４０Ｂ

【図４０－２】



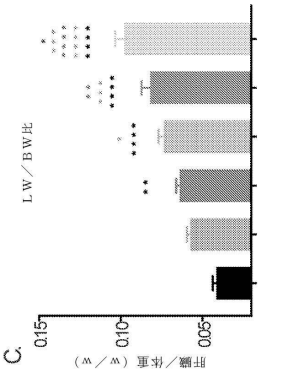


図４０（続き）

【図４０－３】

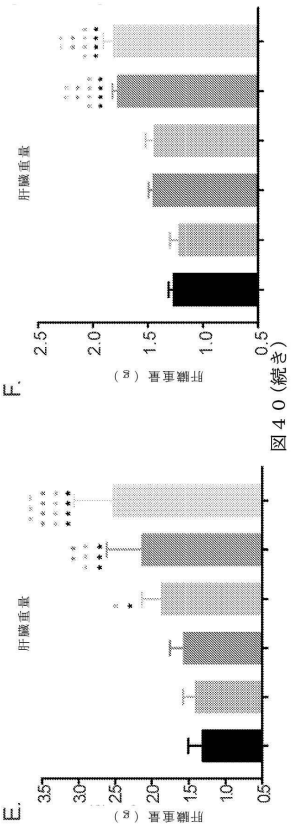


図４０（続き）

【図４０－４】

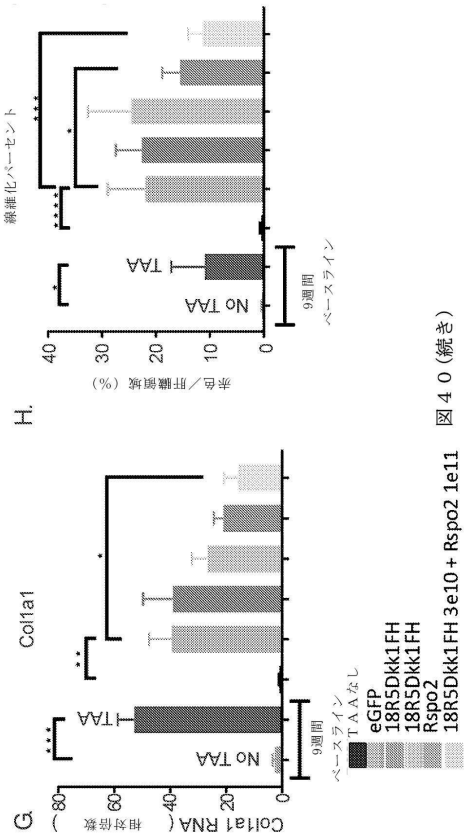


図４０（続き）

【図４１－１】

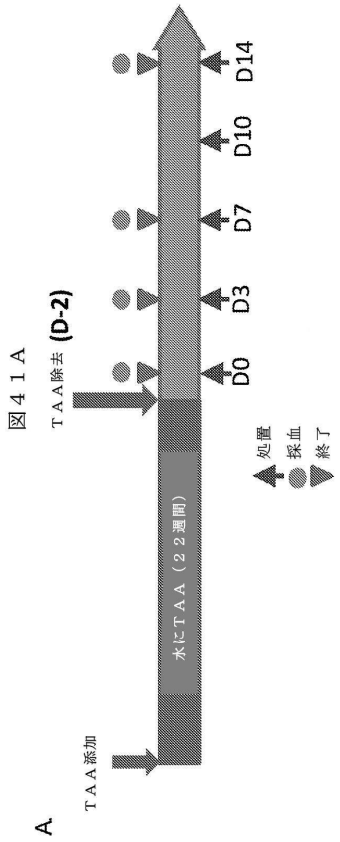


図４１Ａ

【図４１－２】

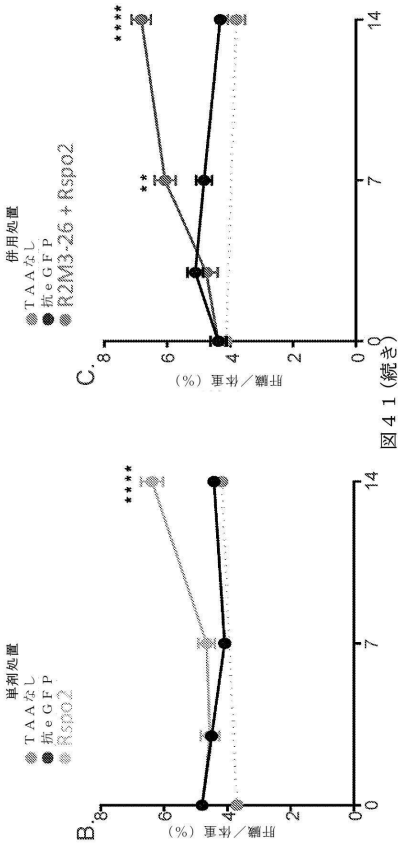


図４１（続き）

【図４１－３】

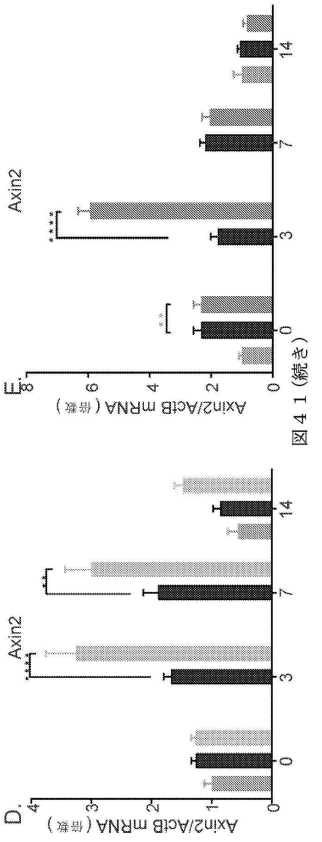


図４１（続き）

【図４１－４】

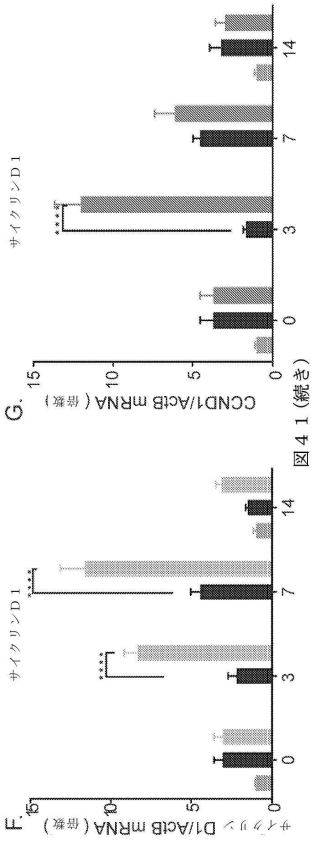


図４１（続き）

【図４１－５】

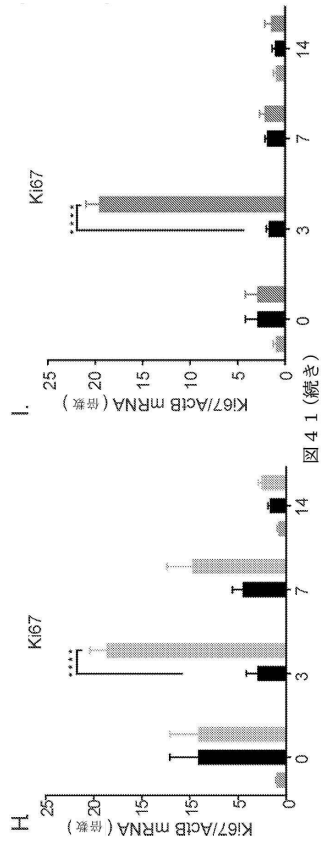


図４１（続き）

【図４１－６】

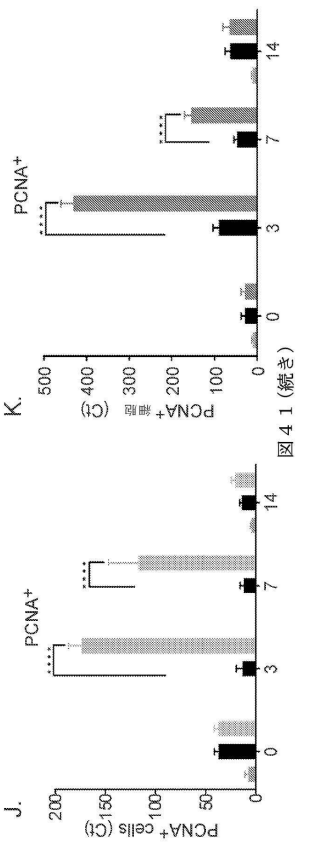


図４１（続き）

【図４１－７】

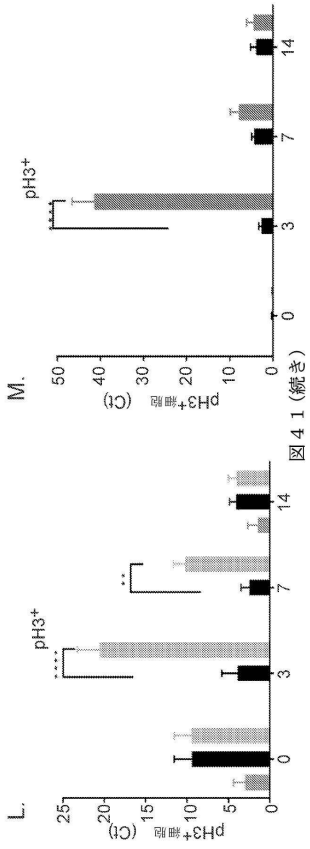


図４１（続き）

【図４１－８】

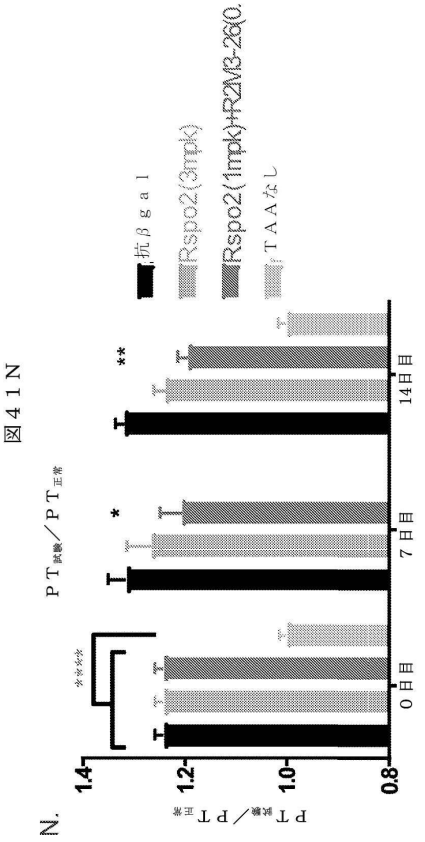


図４１Ｎ

【図４２－１】

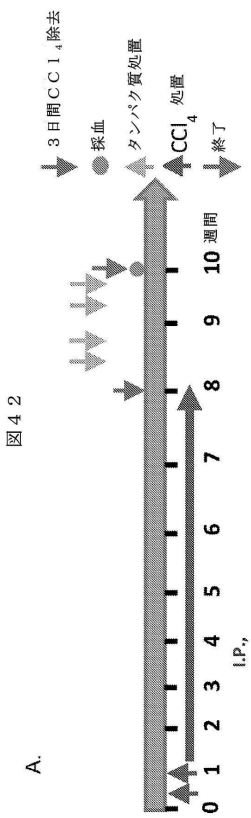
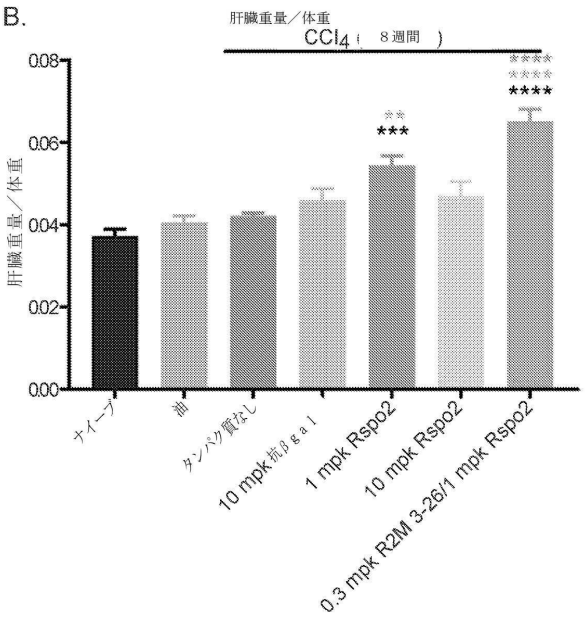


図４２

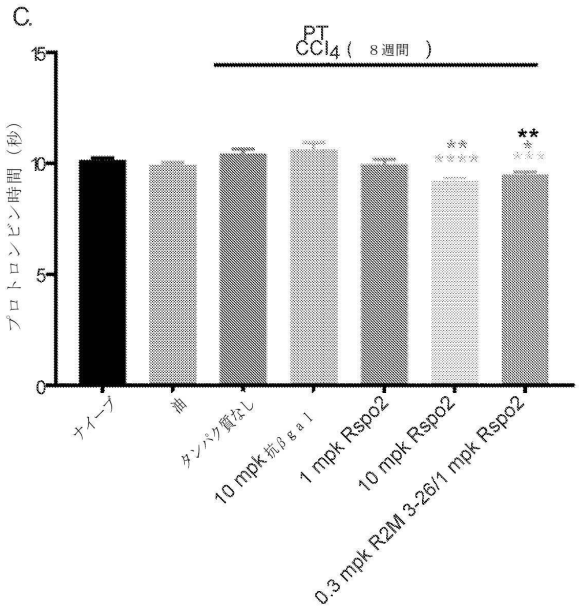
【図４２－２】

図４２（続き）



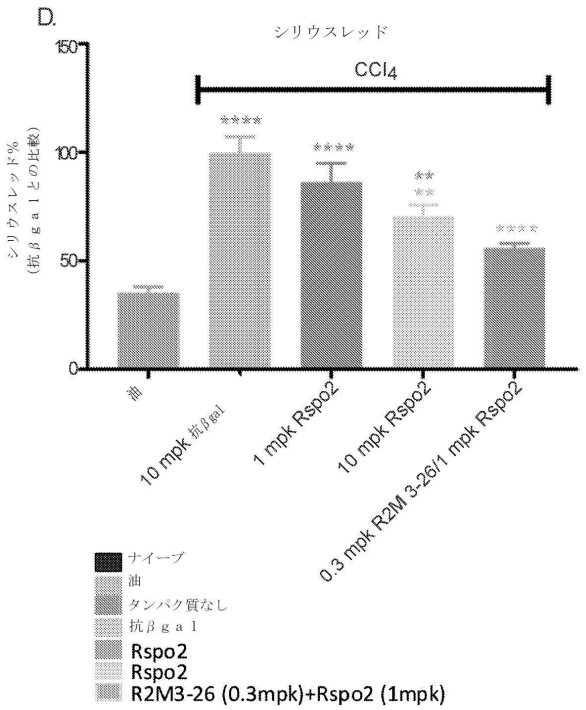
【図４２－３】

図４２（続き）

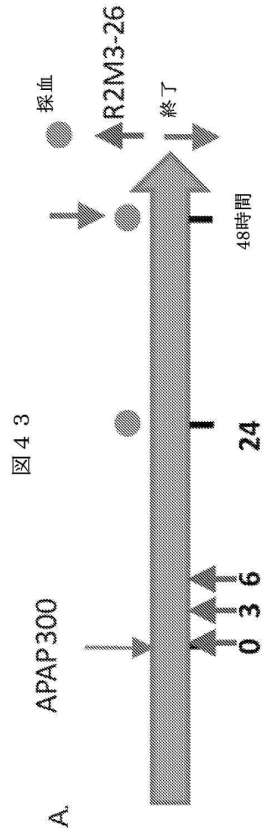


【図４２－４】

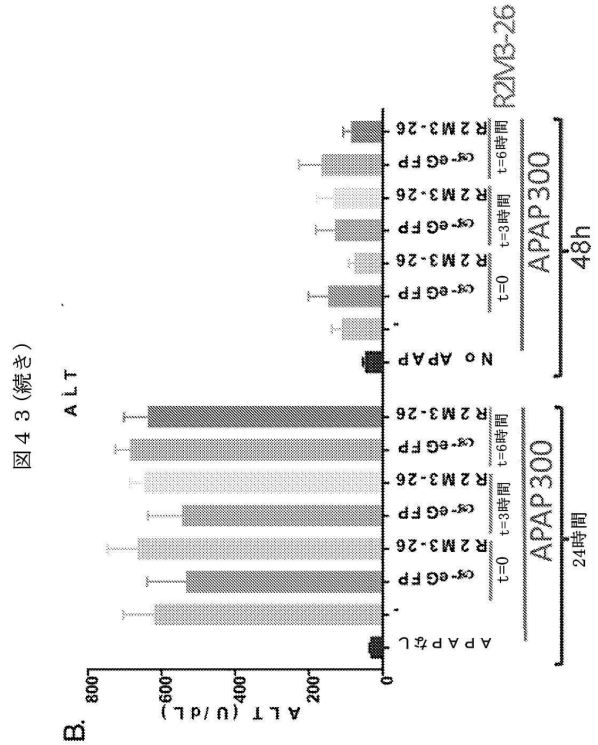
図４２（続き）



【図４３－１】



【図４３－２】



【図４３－３】

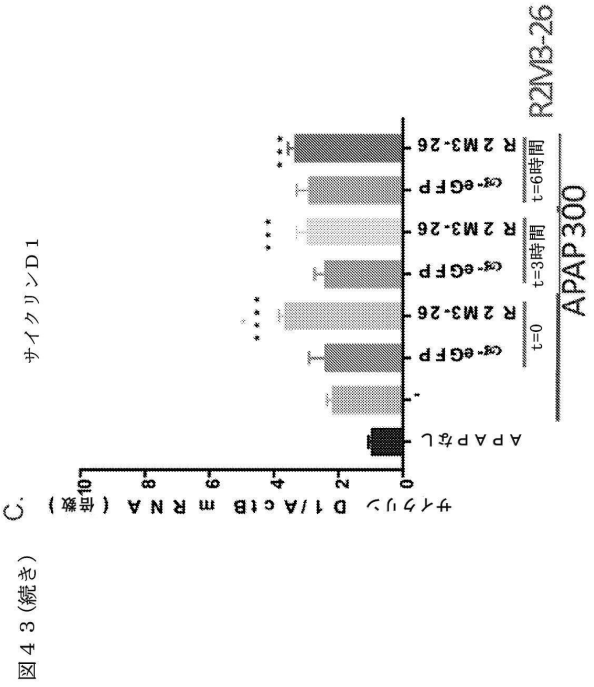


図４３（続き）

【図４３－４】

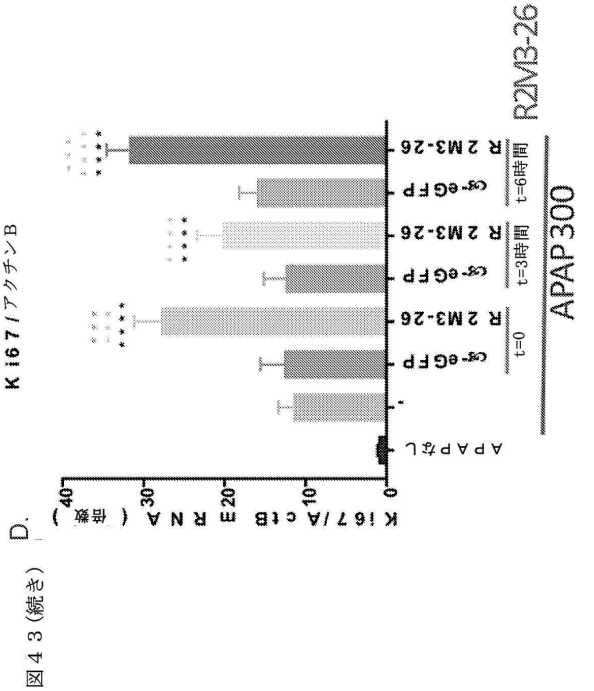


図４３（続き）

【図４４－１】

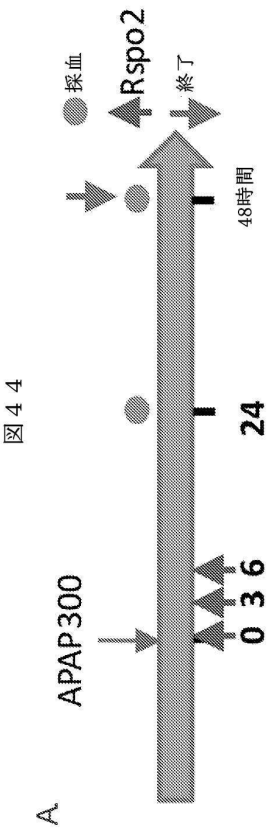


図４４

【図４４－２】

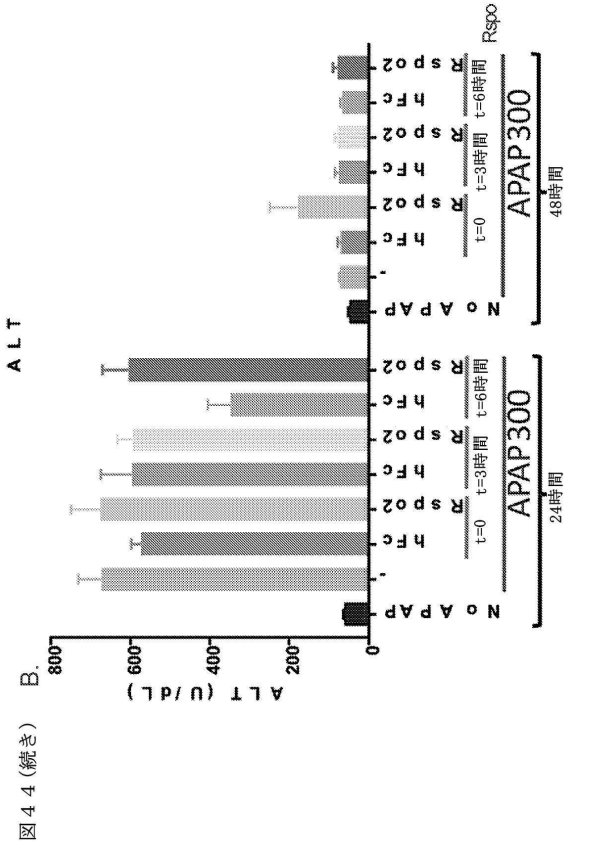


図４４（続き）

【図４４－３】

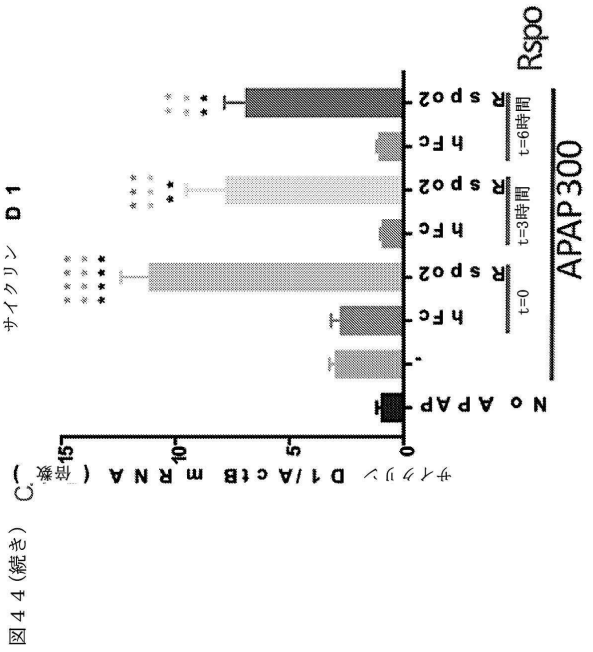


図４４（続き）

【図４４－４】

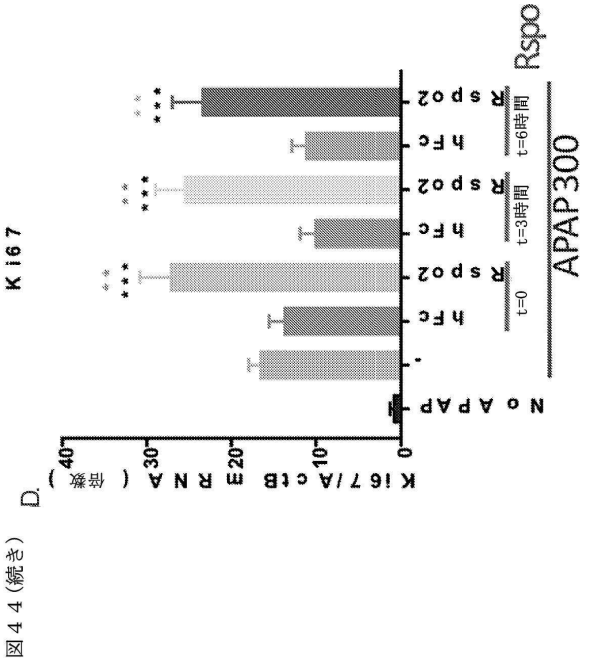


図４４（続き）

【図４５－１】

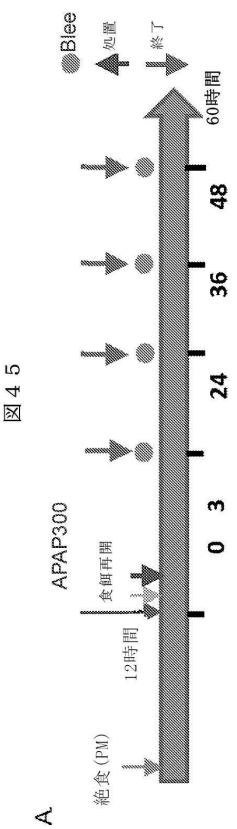


図４５

【図４５－２】

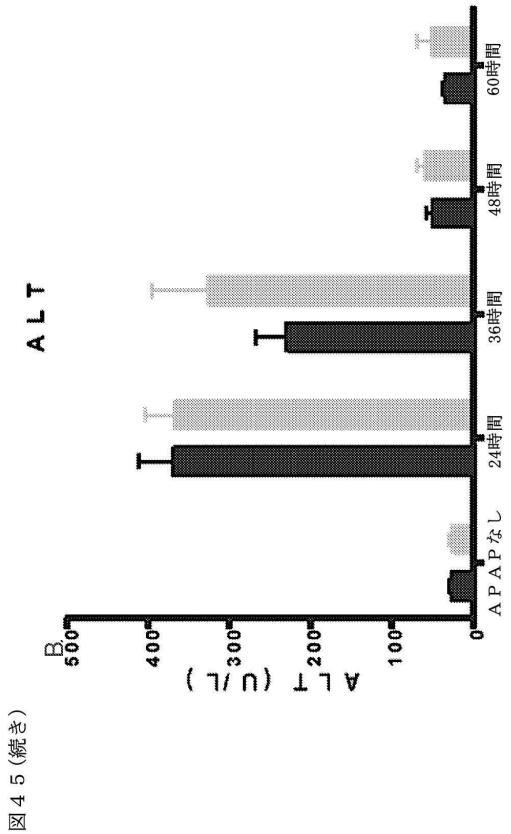


図４５（続き）

【図４５－３】

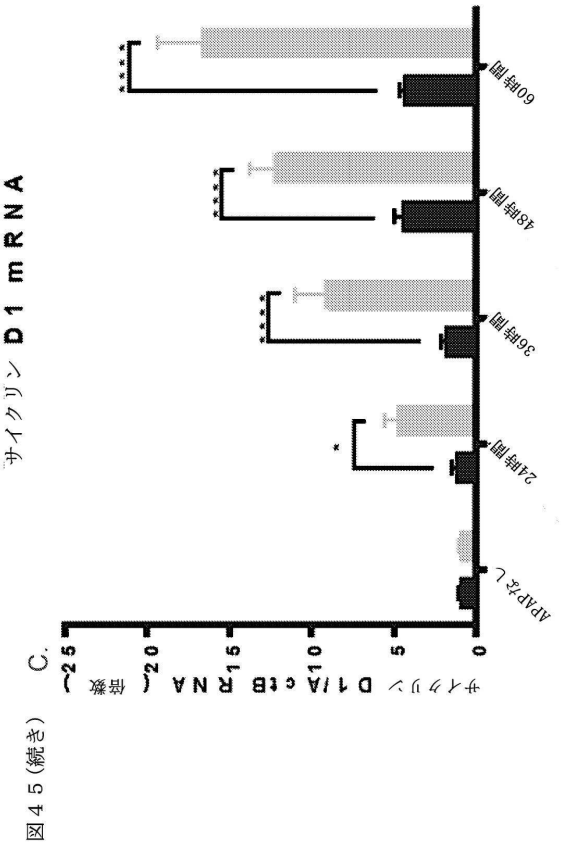


図４５（続き）

【図４５－４】

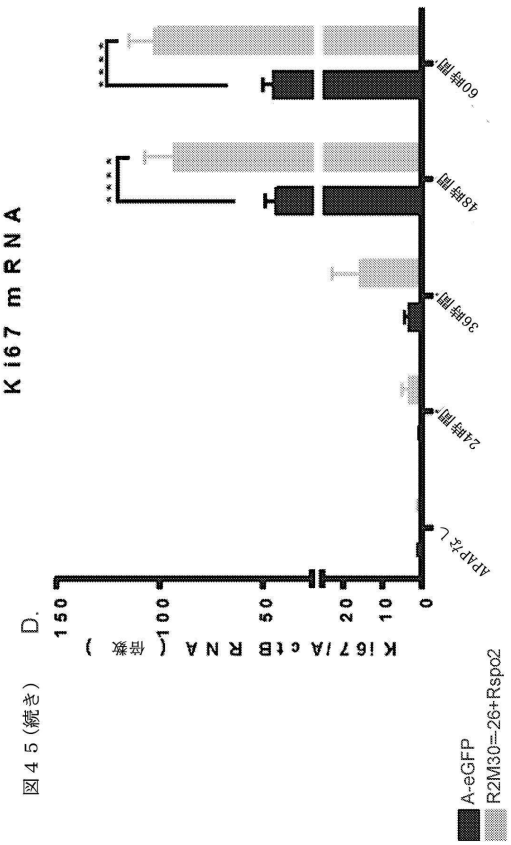


図４５（続き）

【図４６－１】

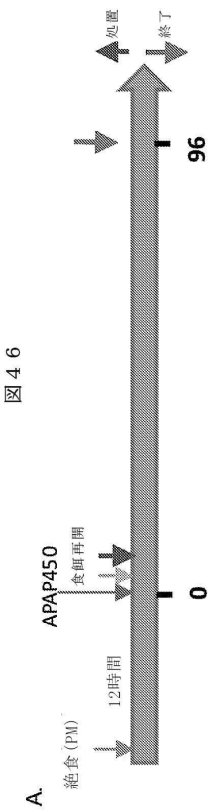


図４６

【図４６－２】

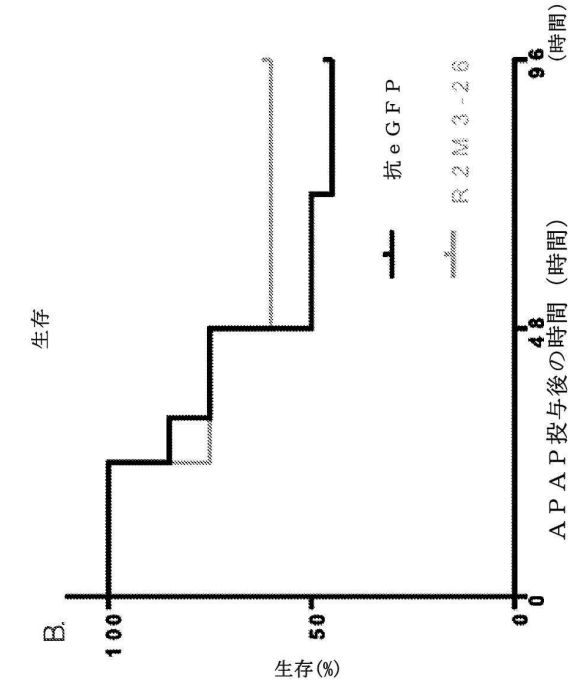


図４６（続き）

【図４６－３】

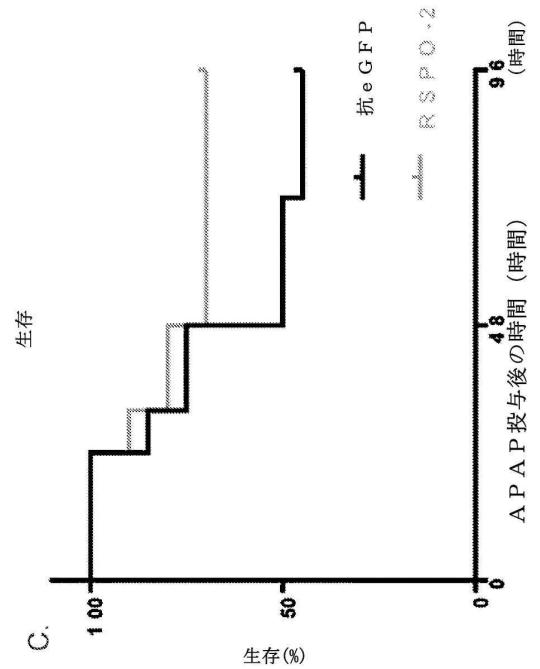


図４６（続き）

【図４６－４】

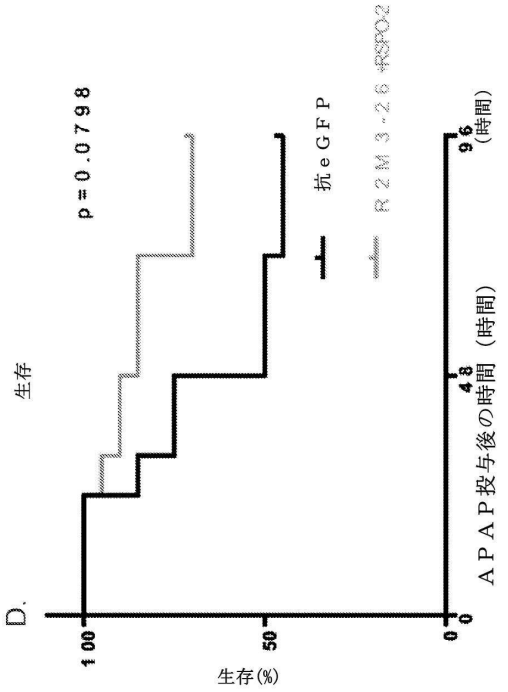


図４６（続き）

【配列表】

0007330977000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		
C12N 1/15 (2006.01)		C12N	1/15	
C12N 1/19 (2006.01)		C12N	1/19	
C12N 1/21 (2006.01)		C12N	1/21	
C12N 5/10 (2006.01)		C12N	5/10	
A61K 39/395 (2006.01)		A61K	39/395	N
A61K 35/76 (2015.01)		A61K	35/76	
A61K 35/12 (2015.01)		A61K	35/12	
A61K 48/00 (2006.01)		A61K	48/00	
A61P 43/00 (2006.01)		A61P	43/00	111
A61P 19/08 (2006.01)		A61P	19/08	
A61P 19/10 (2006.01)		A61P	19/10	
A61P 1/02 (2006.01)		A61P	1/02	
A61P 17/14 (2006.01)		A61P	17/14	
A61P 27/16 (2006.01)		A61P	27/16	
A61P 27/02 (2006.01)		A61P	27/02	
A61P 25/28 (2006.01)		A61P	25/28	
A61P 25/00 (2006.01)		A61P	25/00	
A61P 21/02 (2006.01)		A61P	21/02	
A61P 21/04 (2006.01)		A61P	21/04	
A61P 17/02 (2006.01)		A61P	17/02	
A61P 3/10 (2006.01)		A61P	3/10	
A61P 3/06 (2006.01)		A61P	3/06	
A61P 1/18 (2006.01)		A61P	1/18	
A61P 1/04 (2006.01)		A61P	1/04	
A61P 17/00 (2006.01)		A61P	17/00	
A61P 9/10 (2006.01)		A61P	9/10	
A61P 9/00 (2006.01)		A61P	9/00	
A61P 9/04 (2006.01)		A61P	9/04	
A61P 37/02 (2006.01)		A61P	37/02	
A61P 37/06 (2006.01)		A61P	37/06	
A61P 13/12 (2006.01)		A61P	13/12	
A61P 11/00 (2006.01)		A61P	11/00	
A61P 1/16 (2006.01)		A61P	1/16	

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/680,522
(32)優先日 平成30年6月4日(2018.6.4)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(74)代理人 230113332
弁護士 山本 健策
(72)発明者 リー， ヤン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者 ユアン， トム ジイェ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者 サト， アーロン ケン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者 イェー， ウェン－チェン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付

(72)発明者　ジャンダ， クラウディア イボンヌ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　ファウラー， トリスタン ウィリアム
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　バリボールト， ヘレン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　ライ， クオ－パオ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　シェ， リチン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　ブレズスキ， ランドール ジェイ．
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付
(72)発明者　ルー， チェンガン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０， サウス サンフランシスコ， オイスター ポイント ブールバード １７１， スイート ４００， スロゼン， インコーポレイテッド 気付
審査官　太田 雄三

(56)参考文献　特表２０１７－５３００９９（ＪＰ，Ａ）
MABS，2017年01月10日，Vol. 9, No. 2，p. 182-212，doi:10.1080/19420862.2016.1268307

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ　１５／００
Ｃ０７Ｋ　１６／００
Ｃ１２Ｎ　５／００
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）