(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2013-56884
(P2013-56884A)
(43)公開日　平成25年3月28日(2013.3.28)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28	ZNA	4B024
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4C084
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4H045
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	105	
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00		

審査請求 有　請求項の数 1　ＯＬ　外国語出願　（全 105 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2012-220833 (P2012-220833)
(22)出願日　平成24年10月2日 (2012.10.2)
(62)分割の表示　特願2008-547904 (P2008-547904)の分割
原出願日　平成18年12月29日 (2006.12.29)
(31)優先権主張番号　60/755,103
(32)優先日　平成17年12月30日 (2005.12.30)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　507107992
ウー３・フアルマ・ゲー・エム・ベー・ハー
Ｕ３　ＰＨＡＲＭＡ
ドイツ国、８２１５２・マルテインスリート、フラウンホーフアーシユトラーセ・２２
(71)出願人　500049716
アムジエン・インコーポレーテツド
アメリカ合衆国　シーエー　９１３２０，サウザンド　オークス，ワン　アムジエン　センター　ドライブ
(74)代理人　100062007
弁理士　川口　義雄

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＨＥＲ－３に対して誘導された抗体及びその使用

(57)【要約】　（修正有）
【課題】ＨＥＲ－３に結合する結合タンパク質及び該タンパク質をコードするポリヌクレオチドを提供する。
【解決手段】抗ヒトＨＥＲ－３抗体に由来する特定のアミノ酸配列およびそれをコードするＤＮＡ配列であって、該結合タンパク質を作製するための発現ベクター及び該ベクターを含む宿主細胞も提供される。さらに、本発明は、ＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達及び／又はそのリガンドであるヘレグリンに関連する疾病を診断及び治療するための組成物及び方法を提供する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＨＥＲ－３に結合する単離された結合タンパク質であり、
（ａ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＨＲ１；（ｂ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ２；並びに（ｃ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ３からなる群から選択されるＣＤＲの少なくとも１つを含む重鎖アミノ酸配列を含む、前記タンパク質。
【請求項２】
ＨＥＲ－３に結合する単離された結合タンパク質であり、
（ｄ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ１；（ｅ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ２；並びに（ｆ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ３からなる群から選択されるＣＤＲの少なくとも１つを含む軽鎖アミノ酸配列を含む、前記タンパク質。
【請求項３】
請求項１又は２に記載の単離された結合タンパク質であり、前記結合タンパク質が、
（ａ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＨＲ１；（ｂ）配列番号

２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ２；並びに（ｃ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ３からなる群から選択されるＣＤＲの少なくとも１つを含む重鎖アミノ酸配列、並びに

（ｄ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ１；（ｅ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ２；並びに（ｆ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ３からなる群から選択されるＣＤＲの少なくとも１つを含む軽鎖アミノ酸配列を含む、前記タンパク質。

【請求項４】

前記結合タンパク質が、配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０の何れかのＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２及びＣＤＲＨ３を含む重鎖アミノ酸配列、又は配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２の何れかのＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２及びＣＤＲＬ３を含む軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項１又は２に記載の単離された結合タンパク質。

【請求項５】

前記結合タンパク質が、配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、

１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０の何れかのＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２及びＣＤＲＨ３を含む重鎖アミノ酸配列、並びに配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２の何れかのＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２及びＣＤＲＬ３を含む軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項３に記載の単離された結合タンパク質。

【請求項６】

配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０からなる群から選択される重鎖アミノ酸配列を含む、請求項１に記載の単離された結合タンパク質。

【請求項７】

配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２からなる群から選択される軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項２に記載の単離された結合タンパク質。

【請求項８】

配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０からなる群から選択される重鎖アミノ酸配列、並びに

配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２からなる群から選択される軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項１に記載の単離された結合タンパク質。

【請求項９】

配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０の何れかのＣＤＲＨ３を含む、請求項１に記載の単離された結合タンパク質。

【請求項１０】
配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２の何れかの軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項９に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項１１】
配列番号４２の重鎖アミノ酸配列及び配列番号４４の軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項１から９の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項１２】
配列番号５４の重鎖アミノ酸配列及び配列番号５６の軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項１から９の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項１３】
配列番号７０の重鎖アミノ酸配列及び配列番号７２の軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項１から９の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項１４】
成熟ＨＥＲ－３、特に、成熟ヒトＨＥＲ－３のアミノ酸残基１から１６０、１６１から３５８、３５９から５７５、１から３５８、３５９から６０４によって形成される三次元構造に結合する単離された結合タンパク質。
【請求項１５】
結合タンパク質が、ＨＥＲ－３の細胞外ドメインに対して誘導される、請求項１から１４の何れかに記載の単離された結合タンパク質。
【請求項１６】
ＨＥＲ－３への結合タンパク質の結合が、ＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達を低下させる、請求項１から１５の何れかに記載の単離された結合タンパク質。
【請求項１７】
ＨＥＲ－３への結合タンパク質の結合が、ＨＥＲ－３のリン酸化を低下させる、請求項１から１５の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項１８】
ＨＥＲ－３への結合タンパク質の結合が、細胞増殖を低下させる、請求項１から１５の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項１９】
ＨＥＲ－３への結合タンパク質の結合が、細胞の遊走を低下させる、請求項１から１５の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項２０】
ＨＥＲ－３への結合タンパク質の結合が、ＨＥＲ－３の下方制御を増加させる、請求項１から１５の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項２１】
抗体である、請求項１から２０の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項２２】
抗体が、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体、多重特異的抗体又はこれらの抗体断片である、請求項２１に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項２３】
抗体断片が、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ’断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、Ｆｖ断片、ダイアボディ又は一本鎖抗体分子である、請求項２２に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項２４】
前記単離された結合タンパク質が、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３又はＩｇＧ４型であ

る、請求項１から２３の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項２５】
結合タンパク質が、標識基に連結されている、請求項１から２４の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項２６】
標識基が、放射性同位体若しくは放射性核種、蛍光基、酵素基、化学発光基、ビオチニル基又は所定のポリペプチドエピトープである、請求項２５に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項２７】
結合タンパク質が、エフェクター基に連結されている、請求項１から２４の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項２８】
エフェクター基が、放射性同位体若しくは放射性核種、毒素又は治療基若しくは化学療法基である、請求項２７に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項２９】
治療基若しくは化学療法基が、カリチアマイシン、アウリスタチンＰＥ、ゲルダナマイシン、マイタンシン及びこれらの誘導体からなる群から選択される、請求項２８に記載の単離された結合タンパク質。
【請求項３０】
請求項１から２９の何れか１項に記載の結合タンパク質をコードする単離された核酸分子。
【請求項３１】
核酸分子が、調節配列に作用可能に連結されている、請求項３０に記載の単離された核酸分子。
【請求項３２】
請求項３０に記載の核酸分子を含むベクター。
【請求項３３】
請求項３１に記載の核酸分子を含むベクター。
【請求項３４】
請求項３２に記載のベクターで形質転換された宿主細胞。
【請求項３５】
請求項３３に記載のベクターで形質転換された宿主細胞。
【請求項３６】
宿主細胞から前記結合タンパク質を単離する工程を含む、請求項１から２９の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質を調製する方法。
【請求項３７】
宿主細胞が、哺乳動物細胞、植物細胞、真菌細胞又は原核細胞である、請求項３６に記載の方法。
【請求項３８】
請求項１か２９の何れか一項に記載の少なくとも１つの単離された結合タンパク質を活性因子として含み、及び医薬として許容される、担体、希釈剤又は佐剤を含む医薬組成物。
【請求項３９】
治療的使用のための請求項３７又は３８に記載の組成物。
【請求項４０】
診断的使用のための請求項３７又は３８に記載の組成物。
【請求項４１】
請求項３８又は３９に記載の医薬組成物の医薬有効量を、ＨＥＲ－３と関連する疾病の治療又は予防を必要としている対象に投与することを含む、患者中のＨＥＲ－３に関連する疾病を治療又は予防する方法。

【請求項４２】
疾病が過剰増殖性疾患である、請求項４１に記載の方法。
【請求項４３】
前記過剰増殖性疾患が、乳癌、胃腸癌、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、胃癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、肺癌、腎臓癌、大腸癌、直腸結腸癌、甲状腺癌、膀胱癌、神経膠腫、悪性黒色腫、精巣癌、軟部組織肉腫、頭部及び頸部癌、ＨＥＲ－３を発現又は過剰発現する他の癌並びに腫瘍転移の形成からなる群から選択される、請求項４２に記載の方法。
【請求項４４】
前記過剰増殖性疾患が、増加したＨＥＲ－３のリン酸化、増加したＨＥＲ－２／ＨＥＲ－３のヘテロ二量体化又はPI_3－キナーゼ、ｃ－ｊｕｎ末端キナーゼ、ＡＫＴ、ＥＲＫ２及び／又はＰＹＫ２の増加した活性を伴う、請求項４２又は４３に記載の方法。
【請求項４５】
ＨＥＲ－３に関連する疾病を診断する方法であり、
（ａ）請求項１から２６の何れか一項に記載の結合タンパク質のＨＥＲ－３への結合を可能とするのに適した条件下で、請求項１から２６の何れか一項に記載の結合タンパク質と試料を接触させること、及び
（ｃ）ＨＥＲ－３への前記結合タンパク質の結合を同定すること、
を含む、前記方法。
【請求項４６】
疾病が過剰増殖性疾患である、請求項４５に記載の方法。
【請求項４７】
前記過剰増殖性疾患が、乳癌、胃腸癌、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、胃癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、肺癌、腎臓癌、大腸癌、直腸結腸癌、甲状腺癌、膀胱癌、神経膠腫、悪性黒色腫、ＨＥＲ－３を発現又は過剰発現する他の癌、精巣癌、軟部組織肉腫、頭部及び頸部癌並びに腫瘍転移の形成からなる群から選択される、請求項４６に記載の方法。
【請求項４８】
前記過剰増殖性疾患が、増加したＨＥＲ－３のリン酸化、増加したＨＥＲ－２／ＨＥＲ－３のヘテロ二量体化又はPI_3－キナーゼ、ｃ－ｊｕｎ末端キナーゼ、ＡＫＴ、ＥＲＫ２及び／又はＰＹＫ２の増加した活性を伴う、請求項４６又は４７に記載の方法。
【請求項４９】
請求項１から２８の何れか一項に記載の単離された結合タンパク質を含むキット。
【請求項５０】
さらなる治療剤を含む、請求項４９に記載のキット。
【請求項５１】
さらなる治療剤が抗新生物剤である、請求項５０に記載のキット。
【請求項５２】
抗新生物剤が、抗腫瘍抗体又は化学療法剤である、請求項５１に記載のキット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、抗体及びその結合断片を含む、ＨＥＲ－３に結合する結合タンパク質及び該タンパク質をコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の結合タンパク質を作製するための発現ベクター及び該ベクターを含む宿主細胞も提供される。さらに、本発明は、ＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達及び／又はそのリガンドであるヘレグリンに関連する疾病を診断及び治療するための組成物及び方法を提供する。
【背景技術】
【０００２】
ヒト上皮増殖因子受容体３（ＨＥＲ－３、ＥｒｂＢ３としても知られる。）は、受容体タンパク質チロシンキナーゼであり、ＨＥＲ－１（ＥＧＦＲとしても知られる。）、ＨＥＲ－２及びＨＥＲ－４（Ｐｌｏｗｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａ

ｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８７（１９９０），４９０５－４９０９；Ｋｒａｕｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８６（１９８９），９１９３－９１９７；ａｎｄ Ｋｒａｕｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９０（１９９３），２９００－２９０４）も含まれる、受容体タンパク質チロシンキナーゼの上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）サブファミリーに属する。原型の上皮成長因子受容体と同様、膜貫通受容体であるＨＥＲ－３は、細胞外リガンド結合ドメイン（ＥＣＤ）、ＥＣＤ内の二量体化ドメイン、膜貫通ドメイン、細胞内タンパク質チロシンキナーゼ（ＴＫＤ）及びＣ末端リン酸化ドメインからなる。

【０００３】

リガンドであるヘレグリン（ＨＲＧ）は、ＨＥＲ－３の細胞外ドメインに結合し、他のヒト上皮増殖因子受容体（ＨＥＲ）ファミリーのメンバーとの二量体化及びその細胞内ドメインのトランスリン酸化を促進することによって、受容体媒介性シグナル伝達経路を活性化する。ＨＥＲファミリーのメンバー間での二量体形成は、ＨＥＲ－３のシグナル伝達能力を拡張し、シグナルの多様化のみならず、シグナルの増幅のための手段でもある。例えば、ＨＥＲ－２／ＨＥＲ－３ヘテロ二量体は、ＨＥＲファミリーメンバーの中で最も重要な有糸分裂促進シグナルの１つを誘導する。

【０００４】

ＨＥＲ－３は、乳癌、胃腸癌及び膵臓癌など、癌の幾つかの種類において過剰発現されることが見出されている。興味深いことに、ＨＥＲ－２／ＨＥＲ－３の発現と非浸潤性段階から浸潤性段階への進行との間に相関が示されている（Ａｌｉｍａｎｄｉ ｅｔ ａｌ．，Ｏｎｃｏｇｅｎｅ １０，１８１３－１８２１；ｄｅＦａｚｉｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ ８７，４８７－４９８；Ｎａｉｄｕ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ７８，１３８５－１３９０）。従って、ＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達を妨害する因子は望ましい。マウス又はキメラＨＥＲ－３抗体が、ＵＳ５９６８５１１、ＵＳ５４８０９６８及びＷＯ０３０１３６０２などに報告されている。

【０００５】

最近、ＨＥＲ－２に対するヒト化されたモノクローナル抗体であるＨｅｒｃｅｐｔｉｎ（Ｒ）は、ＨＥＲ－２によって媒介されるシグナル伝達を妨害し、ヒトにおいて、治療的に有効であることが示された（Ｆｅｎｄｌｙ ｅｔ ａｌ．，Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ ６，３５９－３７０；Ｈｕｄｚｉａｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．９，１１６５－１１７２；Ｓｔｅｂｂｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｔｒｅａｔ．Ｒｅｖ．２６，２８７－２９０）。Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（Ｒ）は、２つの異なる機序、すなわち、免疫系のエフェクター細胞の関与及び直接的な細胞傷害性アポトーシス誘導効果を通じて作用することが示されている。

【０００６】

しかしながら、高度に増幅されたＨＥＲ－２を有する患者のみが、Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（Ｒ）治療に有意に応答するので、治療に適した患者の数を限定される。さらに、薬物に対する耐性の発生又は腫瘍細胞上のＨＥＲ－２の発現若しくはエピトープ配列の変化のために、治療を適用することが可能な患者でさえ、抗体に対して非反応性となり、従って、その治療的な利点が喪失する場合があり得る。従って、ＨＥＲ－３などのＨＥＲファミリーのさらなるメンバーにアプローチする、標的をベースとする療法のためのさらなる薬物が必要とされている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００７】

【特許文献１】米国特許第５９６８５１１号明細書

【特許文献２】米国特許第５４８０９６８号明細書

【特許文献３】国際公開第０３０１３６０２号

【非特許文献】

【０００８】

【非特許文献１】Ｐｌｏｗｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８７（１９９０），４９０５－４９０９
【非特許文献２】Ｋｒａｕｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８６（１９８９），９１９３－９１９７
【非特許文献３】Ｋｒａｕｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９０（１９９３），２９００－２９０４
【非特許文献４】Ａｌｉｍａｎｄｉ ｅｔ ａｌ．，Ｏｎｃｏｇｅｎｅ １０，１８１３－１８２１
【非特許文献５】ｄｅＦａｚｉｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ ８７，４８７－４９８
【非特許文献６】Ｎａｉｄｕ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ７８，１３８５－１３９０
【非特許文献７】Ｆｅｎｄｌｙ ｅｔ ａｌ．，Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ ６，３５９－３７０
【非特許文献８】Ｈｕｄｚｉａｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．９，１１６５－１１７２
【非特許文献９】Ｓｔｅｂｂｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｔｒｅａｔ．Ｒｅｖ．２６，２８７－２９０

【発明の概要】

【０００９】

本発明の第一の態様は、ＨＥＲ－３に結合する単離された結合タンパク質に関する。

【００１０】

本発明の一実施形態において、本発明の単離された結合タンパク質は、（ａ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ１；（ｂ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ２；並びに（ｃ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ３からなる群から選択されるＣＤＲの少なくとも１つを含む重鎖アミノ酸配列、及び／又は（ｄ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ１；（ｅ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、

１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ２；並びに（ｆ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ３からなる群から選択されるＣＤＲの少なくとも１つを含む軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００１１】

本発明の別の実施形態において、本発明の単離された結合タンパク質は、配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０からなる群から選択される重鎖アミノ酸配列、及び／又は配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２からなる群から選択される軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００１２】

本発明のさらに別の実施形態において、本発明の単離された結合タンパク質は、配列番号２及び４、６及び８、１０及び１２、１４及び１６、１８及び２０、２２及び２４、２６及び２８、３０及び３２、３６及び３８、４２及び４４、４６及び４８、５０及び５２、５４及び５６、６０及び５８、６２及び６４、６６及び６８、７０及び７２、７４及び７６、７８及び８２、８０及び８２、８４及び８６、８８及び９０、９２及び９４、９６及び９８、１００及び１０２、１０４及び１０６、１０８及び１１０、１１２及び１１４、１１６及び１１８、１２２及び１２４、１２６及び１２８、１３０及び１３２、１３４及び１３６、１３８及び１４０、１４２及び１４４、１４６及び１４８、１５０及び１５２、１５４及び１５６、１５８及び１６０、１６２及び１６４、１６６及び１６８、１７０及び１７２、１７４及び１７６、１７８及び１８０、１８２及び１８４、１８６及び１８８、１９０及び１９２、１９４及び１９６、１９８及び２００、２０２及び２０４、２０６及び２０８、２１０及び２１２、２１４及び２１６、２１８及び２２０、２２２及び２２４、２２６及び２２８、２３０及び２３２に示されている重鎖アミノ酸配列及び軽鎖アミノ酸配列、又は配列番号３４、４０、６０、６２若しくは１２０に示されている重鎖アミノ酸配列又は配列番号５８若しくは６４に示されている軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００１３】

本発明によれば、ＨＥＲ－３に結合することができる単離された結合タンパク質は、ＨＥＲ－３の細胞外部分中の少なくとも１つのエピトープと相互作用する。エピトープは、好ましくは、アミノ末端ドメインであるドメインＬ１（アミノ酸１９から１８４）、システインに富む２つのドメインであるドメインＳ１（アミノ酸１８５から３２７）及びＳ２（アミノ酸５００から６３２）、又はシステインに富む２つのドメインに隣接しているドメインＬ２（３２８から４９９）の中に位置する。エピトープは、Ｌ１及びＳ１の一部によって含まれるエピトープなど（但し、これに限定されない。）のドメインの組み合わせ中にも位置し得る。さらに好ましいのは、成熟ＨＥＲ－３、特に、成熟ヒトＨＥＲ－３のアミノ酸残基１から１６０、１６１から３５８、３５９から５７５、１から３５８及び／又は３５９から６０４によって形成される三次元構造に結合する単離された結合タンパク

質である。

【００１４】

好ましくは、本発明の単離された結合タンパク質は、抗体様結合活性を有する足場タンパク質又は抗体、例えば、抗ＨＥＲ－３抗体である。特に、抗ＨＥＲ－３抗体は、Ｕ１－１抗体、Ｕ１－２抗体、Ｕ１－３抗体、Ｕ１－４抗体、Ｕ１－５抗体、Ｕ１－６抗体、Ｕ１－７抗体、Ｕ１－８抗体、Ｕ１－９抗体、Ｕ１－１０抗体、Ｕ１－１１抗体、Ｕ１－１２抗体、Ｕ１－１３抗体、Ｕ１－１４抗体、Ｕ１－１５抗体、Ｕ１－１６抗体、Ｕ１－１７抗体、Ｕ１－１８抗体、Ｕ１－１９抗体、Ｕ１－２０抗体、Ｕ１－２１抗体、Ｕ１－２２抗体、Ｕ１－２３抗体、Ｕ１－２４抗体、Ｕ１－２５抗体、Ｕ１－２６抗体、Ｕ１－２７抗体、Ｕ１－２８抗体、Ｕ１－２９抗体、Ｕ１－３０抗体、Ｕ１－３１抗体、Ｕ１－３２抗体、Ｕ１－３３抗体、Ｕ１－３４抗体、Ｕ１－３５抗体、Ｕ１－３６抗体、Ｕ１－３７抗体、Ｕ１－３８抗体、Ｕ１－３９抗体、Ｕ１－４０抗体、Ｕ１－４１抗体、Ｕ１－４２抗体、Ｕ１－４３抗体、Ｕ１－４４抗体、Ｕ１－４５抗体、Ｕ１－４６抗体、Ｕ１－４７抗体、Ｕ１－４８抗体、Ｕ１－４９抗体、Ｕ１－５０抗体、Ｕ１－５１抗体、Ｕ１－５２抗体、Ｕ１－５３抗体、Ｕ１－５５．１抗体、Ｕ１－５５抗体、Ｕ１－５７．１抗体、Ｕ１－５７抗体、Ｕ１－５８抗体、Ｕ１－５９抗体、Ｕ１－６１．１抗体、Ｕ１－６１抗体、Ｕ１－６２又は前記抗体の１つの少なくとも１つの重鎖若しくは軽鎖を有する抗体からなる群から選択される。特に好ましくは、抗体Ｕ１－４９（配列番号４２／４４）、Ｕ１－５３（配列番号５４／５６）及びＵ１－５９（配列番号７０／７２）又は前記抗体の１つの少なくとも１つの重鎖若しくは軽鎖を有する抗体である。

【００１５】

さらに、本発明のさらなる実施形態は、標識基又はエフェクター基に連結された、単離された結合タンパク質を提供する。好ましくは、このような結合タンパク質は、過剰増殖性疾患、特に、乳癌、胃腸癌、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、胃癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、肺癌、腎臓癌、大腸癌、直腸結腸癌、甲状腺癌、膀胱癌、神経膠腫、悪性黒色腫、精巣癌、軟部組織肉腫、頭部及び頸部癌などの腫瘍疾患又はＨＥＲ－３を発現若しくは過剰発現する他の癌並びに腫瘍転移の形成の治療に対して有用である。

【００１６】

本発明の別の態様は、本発明の結合タンパク質をコードする単離された核酸分子、本発明の結合タンパク質をコードする核酸分子を有するベクター、並びに、このような核酸分子又はベクターで形質転換された宿主細胞、例えばＣＨＯ細胞、ＮＳ／０骨髄腫細胞を提供する。

【００１７】

本発明のさらなる態様は、結合タンパク質を分泌する宿主細胞から前記結合タンパク質を調製することによって、本発明の結合タンパク質を作製する方法に関する。好ましくは、本発明の結合タンパク質は、結合タンパク質を分泌するハイブリドーマ細胞株又は本発明の結合タンパク質をコードする核酸分子で形質転換されたＣＨＯ若しくは他の細胞種から調製される。

【００１８】

本発明の別の態様は、本発明の結合タンパク質をコードする１又は複数の核酸分子に関して遺伝子導入された動物、植物又は真菌の組織、産物又は分泌物から前記結合タンパク質を調製することによって、本発明の結合タンパク質を製造する方法に関する。好ましくは、本発明の結合タンパク質は、ウシ、ヒツジ、ウサギ、ニワトリ若しくは他の哺乳動物又は鳥類などのトランスジェニック動物、トウモロコシ、タバコ若しくは他の植物などのトランスジェニック植物又はアスペルギルス、ピチア又は他の真菌種などのトランスジェニック真菌の組織、産物又は分泌物から調製される。

【００１９】

本発明の別の態様は、医薬として許容される担体、希釈剤及び／又は佐剤と混合された、本発明の少なくとも１つの結合タンパク質を活性因子として含む医薬組成物に関する。本発明の別の好ましい実施形態において、本発明の医薬組成物は、少なくとも１つの他の

活性因子、例えば、少なくとも１つの抗新生物因子をさらに含有する。本発明のさらに別の態様は、医薬組成物の調製のための、医薬として許容される担体、希釈剤及び／又は佐剤と混合された、本発明の少なくとも１つの結合タンパク質、及び、場合によって使用される少なくとも１つの他の活性因子（例えば、少なくとも１つの抗新生物因子）の使用に関する。前記医薬組成物は、、過剰増殖性疾患、特に、乳癌、胃腸癌、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、胃癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、肺癌、腎臓癌、大腸癌、直腸結腸癌、甲状腺癌、膀胱癌、神経膠腫、悪性黒色腫又はＨＥＲ－３を発現若しくは過剰発現する他の癌並びに腫瘍転移の形成を診断し、予防し、又は治療するのに適している。

【００２０】

さらに、本発明は、さらなる態様において、ＨＥＲ－３の発現を伴う疾病又は症状を診断するための方法であり、試料を少なくとも１つの本発明の結合タンパク質と接触させること、及びＨＥＲ－３の存在を検出することを含む、前記方法に関する。好ましい疾病又は症状には、上記過剰増殖性疾患が含まれる。

【００２１】

本発明のさらに別の態様は、ＨＥＲ－３の発現を伴う疾病又は症状の予防又は治療を必要としている患者において、ＨＥＲ－３の発現を伴う疾病又は症状を予防又は治療する方法であり、少なくとも１つの本発明の結合タンパク質の有効量、及び、場合によって、少なくとも１つの他の活性因子（例えば、少なくとも１つの抗新生物因子）を前記患者に投与することを含む、前記方法である。好ましくは、患者は、哺乳動物患者、より好ましくは、ヒト患者である。ＨＥＲ－３の発現を伴う好ましい疾病又は症状は、上記過剰増殖性疾患である。

【００２２】

本発明のさらなる態様は、ＨＥＲ－３の発現を伴う疾病又は症状を診断し、予防し、又は治療するためのキットであり、少なくとも１つの本発明の結合タンパク質及び／又は核酸分子及び／又はベクターを含む前記キットに関する。場合によって、本発明のキットは、少なくとも１つの他の活性因子、例えば、少なくとも１つの抗新生物因子をさらに含むことができる。好ましくは、ＨＥＲ－３の発現を伴う好ましい疾病又は症状は、上記過剰増殖性疾患である。

【図面の簡単な説明】

【００２３】

【図１】図１は、ヒト癌細胞株の群におけるＨＥＲ－３発現の程度を示しており、ＨＥＲ－３が様々なヒト癌内で発現されていることを示す。

【図２】図２は、ＨＥＲファミリーの異なるメンバー又は空のベクターのみを安定に発現しているＲａｔ１細胞の何れかへのＨＥＲ－３抗体結合のＦＡＣＳ分析の結果を示している。

【図３】図３は、ＨＥＲ３ドメインにマッピングされた抗体結合競合ビンを示している。

【図４】図４は、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施された間接ＦＡＣＳＳｃａｔｈｃａｒｄ抗体親和性分析の結果を示している。本分析は、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体が、細胞表面上に発現されたＨＥＲ－３に対して、高い親和性と強い結合定数を有することを示している。

【図５】図５は、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体によって誘導された、ＨＥＲ－３の加速された飲食細胞運動を示している。

【図６ａ】図６ａからｅは、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施されたリガンド競合アッセイの結果を示している。結果は、本発明の抗体が、内在性ＨＥＲ－３を発現する細胞への、［^{125}Ｉ］－α－ＨＲＧ／［^{125}Ｉ］－β－ＨＲＧの結合を特異的に低下させることを示している。

【図６ｂ】図６ａからｅは、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施されたリガンド競合アッセイの結果を示している。結果は、本発明の抗体が、内在性ＨＥＲ－３を発現する細胞への、［^{125}Ｉ］－α－ＨＲＧ／［^{125}Ｉ］－β－ＨＲＧの結合を特異的に低下させることを示している。

【図６ｃ】図６ａからｅは、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施されたリガンド競合アッセイの結果を示している。結果は、本発明の抗体が、内在性ＨＥＲ－３を発現する細胞への、［^{125}Ｉ］－α－ＨＲＧ／［^{125}Ｉ］－β－ＨＲＧの結合を特異的に低下させることを示している。

【図６ｄ】図６ａからｅは、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施されたリガンド競合アッセイの結果を示している。結果は、本発明の抗体が、内在性ＨＥＲ－３を発現する細胞への、［^{125}Ｉ］－α－ＨＲＧ／［^{125}Ｉ］－β－ＨＲＧの結合を特異的に低下させることを示している。

【図６ｅ】図６ａからｅは、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施されたリガンド競合アッセイの結果を示している。結果は、本発明の抗体が、内在性ＨＥＲ－３を発現する細胞への、［^{125}Ｉ］－α－ＨＲＧ／［^{125}Ｉ］－β－ＨＲＧの結合を特異的に低下させることを示している。

【図７ａ】図７ａは、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施された、ＨＥＲ－３ホスホチロシンＥＬＩＳＡの結果を示している。本発明の抗体は、増加された受容体チロシンリン酸化によって示されたように、β－ＨＲＧによって媒介されたＨＥＲ－３の活性化を阻害することができた。

【図７ｂ】本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施された、ＨＥＲ－３ホスホチロシンＥＬＩＳＡの結果を示している。本発明の抗体は、増加された受容体チロシンリン酸化によって示されたように、β－ＨＲＧによって媒介されたＨＥＲ－３の活性化を阻害することができた。さらに、図７ｂは、滴定された抗体を用いた本実験の代表的な結果を示している。

【図８】図８は、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施された、ｐ４２／ｐ４ＭＡＰキナーゼＥＬＩＳＡの結果を示している。本発明の抗体は、増加されたＭＡＰ－キナーゼのリン酸化によって示されたように、β－ＨＲＧによって媒介されたｐ４２／ｐ４４ＭＡＰ－キナーゼの活性化を低下させることができた。

【図９】図９は、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施された、ホスホ－ＡＫＴＥＬＩＳＡの結果を示している。本発明の抗体は、ＡＫＴのリン酸化によって示されたように、β－ＨＲＧによって媒介されるＡＫＴの活性化を低下することができた。

【図１０】図１０は、本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体による、ＭＣＦ７細胞の増殖の阻害を示している。本発明の抗体は、ヒト癌細胞中でのＨＲＧ誘導性細胞増殖を阻害する。

【図１１】図１１は、本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体によって阻害された、ＭＣＦ７細胞の遊出を示している。

【図１２ａ】図１２ａからｉは、本発明のヒトＨＥＲ－３抗体による、足場非依存性細胞増殖の阻害を示している。

【図１２ｂ】図１２ａからｉは、本発明のヒトＨＥＲ－３抗体による、足場非依存性細胞増殖の阻害を示している。

【図１２ｃ】図１２ａからｉは、本発明のヒトＨＥＲ－３抗体による、足場非依存性細胞増殖の阻害を示している。

【図１２ｄ】図１２ａからｉは、本発明のヒトＨＥＲ－３抗体による、足場非依存性細胞増殖の阻害を示している。

【図１２ｅ】図１２ａからｉは、本発明のヒトＨＥＲ－３抗体による、足場非依存性細胞増殖の阻害を示している。

【図１２ｆ】図１２ａからｉは、本発明のヒトＨＥＲ－３抗体による、足場非依存性細胞増殖の阻害を示している。

【図１２ｇ】図１２ａからｉは、本発明のヒトＨＥＲ－３抗体による、足場非依存性細胞増殖の阻害を示している。

【図１２ｈ】図１２ａからｉは、本発明のヒトＨＥＲ－３抗体による、足場非依存性細胞増殖の阻害を示している。

【図１２ｉ】図１２ａからｉは、本発明のヒトＨＥＲ－３抗体による、足場非依存性細胞増殖の阻害を示している。

【図１３】図１３は、本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体による、Ｔ４７Ｄヒト乳癌細胞の異種移植片増殖の阻害を示している。
【図１４】図１４は、抗Ｈｅｒ３（Ｕ１－５９及びＵ１－５３）又は抗ＥＧＦＲ（Ｅｒｂｉｔｕｘ）抗体の投与後における、マウス中のＢｘＰＣ３ヒト膵臓癌細胞の低下を示している。
【図１５】図１５は、本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体及び抗ＥＧＦＲ（Ｅｒｂｉｔｕｘ）抗体との組み合わせによる、ＢｘＰＣ３ヒト膵臓癌細胞の異種移植片増殖の低下を示している。
【図１６】図１６は、本発明の抗体が、ｎｕ／ｎｕマウス中でのヒト悪性黒色腫（ＨＴ１４４）細胞の増殖を遅延させることを示す。
【図１７】図１７は、本発明のヒトＨＥＲ－３抗体（Ｕ１－５３、Ｕ１－５９及びＵ１－７）による、ＨＴ－２９ヒト大腸癌細胞の異種移植片増殖の低下を示している。
【図１８】図１８は、本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体（Ｕ１－５９、Ｕ１－５３及びＵ１－７）抗体による、Ｃａｌｕ－３ヒト肺癌細胞の異種移植片増殖の低下を示している。
【図１９】図１９は、本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体（Ｕ１－７、Ｕ１－５９及びＵ１－５３）抗体による、ＢｘＰＣ－３ヒト膵臓癌細胞の異種移植片増殖の低下を示している。
【図２０】図２０は、本発明の抗体（Ｕ１－５９）が、ＢｘＰＣ３ヒト膵臓癌異種移植片中でＨＥＲ－３の抑制を引き起こすことを示す。
【発明を実施するための形態】
【００２４】
本発明の第一の態様は、ＨＥＲ－３に結合する単離された結合タンパク質に関する。
【００２５】
本発明の一実施形態において、本発明の単離された結合タンパク質は、（ａ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ１；（ｂ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ２；並びに（ｃ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ３からなる群から選択されるＣＤＲの少なくとも１つを含む重鎖アミノ酸配列、及び／又は（ｄ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ１；（ｅ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、

１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ２；並びに（ｆ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ３からなる群から選択されるＣＤＲの少なくとも１つを含む軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００２６】

本発明の別の実施形態において、本発明の単離された結合タンパク質は、配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０からなる群から選択される重鎖アミノ酸配列、及び／又は配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２からなる群から選択される軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００２７】

本発明のさらに別の実施形態において、本発明の単離された結合タンパク質は、配列番号２及び４、６及び８、１０及び１２、１４及び１６、１８及び２０、２２及び２４、２６及び２８、３０及び３２、３６及び３８、４２及び４４、４６及び４８、５０及び５２、５４及び５６、６０及び５８、６２及び６４、６６及び６８、７０及び７２、７４及び７６、７８及び８２、８０及び８２、８４及び８６、８８及び９０、９２及び９４、９６及び９８、１００及び１０２、１０４及び１０６、１０８及び１１０、１１２及び１１４、１１６及び１１８、１２２及び１２４、１２６及び１２８、１３０及び１３２、１３４及び１３６、１３８及び１４０、１４２及び１４４、１４６及び１４８、１５０及び１５２、１５４及び１５６、１５８及び１６０、１６２及び１６４、１６６及び１６８、１７０及び１７２、１７４及び１７６、１７８及び１８０、１８２及び１８４、１８６及び１８８、１９０及び１９２、１９４及び１９６、１９８及び２００、２０２及び２０４、２０６及び２０８、２１０及び２１２、２１４及び２１６、２１８及び２２０、２２２及び２２４、２２６及び２２８、２３０及び２３２に示されている重鎖アミノ酸配列及び軽鎖アミノ酸配列、又は配列番号３４、４０、６０、６２若しくは１２０に示されている重鎖アミノ酸配列又は配列番号５８若しくは６４に示されている軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００２８】

本発明において、本発明の結合タンパク質のアミノ酸配列は、２０の一般的なアミノ酸に限定されないことを理解すべきである（Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ－Ａ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（２ｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｅ．Ｓ．Ｇｏｌｕｂ ａｎｄ Ｄ．Ｒ．Ｇｒｅｎ，Ｅｄｓ．，Ｓｉｎａｕｅｒ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ，Ｓｕｎｄｅｒｌａｎｄ，Ｍａｓｓ．（１９９１）（参照により、本明細書に組み込まれる。）を参照されたい。）。例えば、アミノ酸には、２０の一般的なアミノ酸の立体異性体（例えば、Ｄアミノ酸）、α，α－二置換されたアミノ酸、Ｎ－アルキルアミノ酸、乳酸及び他の非慣用アミノ酸などの非天然アミノ酸が含まれ得る。本発明の結合タンパク質に対する適切な成分でもあり得る非慣用アミノ酸の例には、４－ヒドロキシプロリン、γ－カルボキシグルタミン酸、ε－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルリジン、ε－Ｎ－アセチルリジン、Ｏ－ホスホセリン、Ｎ－アセ

チルセリン、Ｎ－ホルミルメチオニン、３－メチルヒスチジン、５－ヒドロキシリジン、σ－Ｎ－メチルアルギニン並びに他の類似のアミノ酸及びイミノ酸（例えば、４－ヒドロキシプロリン）が含まれる。

【００２９】

さらに、本発明において、配列番号１から２３２に示されているアミノ酸配列中の僅かな変動は、本発明によって包含されるものと想定されるが、但し、アミノ酸配列中の変動は、配列番号１から２３２中に示されている配列の少なくとも７５％、より好ましくは少なくとも８０％、９０％、９５％、及び最も好ましくは９９％を維持する。変動は、フレームワーク領域内（すなわち、ＣＤＲ外）、ＣＤＲ内、又はフレームワーク領域及びＣＤＲ内に生じ得る。配列番号１から２３２に示されているアミノ酸配列中の好ましい変動、すなわち、少なくとも１つのアミノ酸の欠失、挿入及び／又は置換は、機能的ドメインの境界付近に生じる。構造的及び機能的ドメインは、ヌクレオチド及び／又はアミノ酸配列データを、公共の配列データベース又は独自の配列データベースと比較することによって同定することが可能である。公知の構造及び／又は機能の他の結合タンパク質中に生じる配列モチーフ又は予測されるタンパク質立体構造ドメインを同定するために、コンピュータ化された比較法を使用することが可能である。公知の三次元構造に折り畳まれるタンパク質配列を同定するための方法は公知である。例えばＢｏｗｉｅ ｅｔ ａｌ．, Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５３, １６４（１９９１）；Ｐｒｏｔｅｉｎｓ, Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ（Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ, Ｅｄ．, Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ, Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４））；Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ（Ｃ．Ｂｒａｎｄｅｎ ａｎｄ Ｊ．Ｔｏｏｚｅ, ｅｄｓ．, Ｇａｒｌａｎｄ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ, Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ, Ｎ．Ｙ．（１９９１ ））；及びＴｈｏｒｎｔｏｎ ｅｔ ａｌ．, Ｎａｔｕｒｅ ３５４：１０５（１９９１）を参照されたい（これらは全て、参照により本明細書中に組み込まれる。）。従って、当業者であれば、本発明に従って構造及び機能的ドメインを定義するために使用され得る配列モチーフ及び構造的立体構造を認めることができる。

【００３０】

配列番号１から１７４及び１から２３２に示されているアミノ酸配列の特に好ましい変動は、タンパク分解若しくは酸化に対して低下した感受性をもたらし、グリコシル化パターンを変化させ、又は結合親和性を変化させ、又は結合タンパク質の他の物理化学的若しくは機能的特性を付与若しくは修飾する変動である。特に、保存的アミノ酸置換が想定される。保存的な置換とは、それらの側鎖が関連するアミノ酸のファミリー内で生じる置換である。好ましいアミノ酸ファミリーは、以下のとおりである。酸性ファミリー＝アスパギン酸、グルタミン酸；塩基性ファミリー＝リジン、アルギニン、ヒスチジン；非極性ファミリー＝アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン；及び非帯電極性ファミリー＝グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、スレオニン、チロシン。より好ましいファミリーは、脂肪族ヒドロキシファミリー＝セリン及びスレオニン；アミド含有ファミリー＝アスパラギン及びグルタミン；脂肪族ファミリー＝アラニン、バリン、ロイシン及びイソロイシン；並びに芳香族ファミリー＝フェニルアラニン、トリプトファン及びチロシン。例えば、ロイシンのイソロイシン又はバリンとの単離された置換、アスパラギン酸のグルタミン酸との単離された置換、スレオニンのセリンとの単離された置換、又はあるアミノ酸の構造的に関連したアミノ酸との類似の置換は、特に置換がフレームワーク部位内のアミノ酸を含まなければ、生じた結合タンパク質の結合又は特性に対して多大な影響を有しない。しかしながら、全ての他の可能なアミノ酸置換も、本発明によって包含される。アミノ酸の変化が、機能的な結合タンパク質、すなわち、ＨＥＲ－３へ結合する結合タンパク質をもたらし、ＨＥＲファミリーのメンバーのシグナル伝達を低下させるかどうかは、ＨＥＲ－３への結合に関するＥＬＩＳＡ若しくはＦＡＣＳにおいて、又はインビトロ若しくはインビボでの機能的アッセイにおいて、得られた結合タンパク質の特異的活性をアッセイするこ

とによって容易に決定することができる。

【００３１】

本発明によれば、本発明の結合タンパク質は、ＨＥＲ－３の細胞外部分中の少なくとも１つのエピトープと相互作用する。エピトープは、好ましくは、アミノ末端ドメインであるドメインＬ１（アミノ酸１９から１８４）、システインに富む２つのドメインであるドメインＳ１（アミノ酸１８５から３２７）及びＳ２（アミノ酸５００から６３２）、システインに富む２つのドメインに隣接しているドメインＬ２（３２８から４９９）又はＨＥＲ－３ドメインの組み合わせの中に位置する。エピトープは、Ｌ１及びＳ１の一部によって構成されるエピトープなど（但し、これに限定されない。）のドメインの組み合わせ中にも位置し得る。さらに、本発明の結合タンパク質は、ＨＥＲ－３へのその結合がＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達を低下させることをさらに特徴とする。本発明に従って、ＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達の低下は、例えば、細胞表面からＨＥＲ－３分子を少なくとも部分的に消失させるＨＥＲ－３の下方制御によって、又は実質的に不活性な形態（すなわち、安定化されていない形態に比べて、より低いシグナル伝達を示す形態）の、細胞表面上のＨＥＲ－３の安定化によって引き起こされ得る。あるいは、ＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達の低下は、ＨＥＲ－３への、リガンド又はＨＥＲファミリーの別のメンバーの結合、ＨＥＲ－２へのＧＲＢ２の結合若しくはＳＨＣへのＧＲＢ２の結合に影響を与える（例えば、減少又は阻害する）ことによって、受容体チロシンリン酸化、ＡＫＴリン酸化、ＰＹＫ２チロシンリン酸化若しくはＥＲＫ２リン酸化を阻害することによって、又は腫瘍の浸潤性を減少させることによっても引き起こされ得る。あるいは、ＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達の低下は、他のＨＥＲファミリーのメンバーとのＨＥＲ－３含有二量体の形成に影響を与える（例えば、減少又は阻害する）ことによっても引き起こされ得る。とりわけ、１つの例は、ＨＥＲ－３－ＥＧＦＲタンパク質複合体の形成を減少又は阻害することであり得る。

【００３２】

好ましくは、本発明の結合タンパク質は、抗体様結合活性を有する足場タンパク質又は抗体、すなわち、抗ＨＥＲ－３抗体である。

【００３３】

本発明の文脈内で、本明細書において使用される「足場タンパク質」という用語は、アミノ酸の挿入、置換又は欠失が高度に許容される露出された表面を有するポリペプチド又はタンパク質を意味する。本発明に従って使用することができる足場タンパク質の例は、スタフィロコッカス・オーレウス（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）から得られるプロテインＡ、ピエリス・ブラッシッカエ（Ｐｉｅｒｉｓ ｂｒａｓｓｉｃａｅ）から得られるビリン結合タンパク質又はその他のリポカリン、アンキリン反復タンパク質及びヒトフィブロネクチンである（Ｂｉｎｚ ａｎｄ Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１６，４５９－６９中に概説されている。）。足場タンパク質の操作は、安定に折り畳まれたタンパク質の構造的フレームワーク上に又は構造的フレームワーク中に親和性機能を移植し、又は組み込むこととみなすことができる。親和性機能とは、本発明に従うタンパク質結合親和性を意味する。足場は、結合特異性を付与するアミノ酸配列から構造的に分離可能である。一般に、このような人工的親和性試薬の開発に適していると思われるタンパク質は、推論によって、又は最も一般的には、ＨＥＲ３（精製されたタンパク質又は細胞表面上にディスプレイされたタンパク質の何れか）に対するパニングなどの、インビトロでディスプレイされた人工的足場ライブラリーの結合剤に対するコンビナトリアルタンパク質工学技術（これらの技術は、本分野において公知である（Ｓｋｅｒｒａ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｒｅｃｏｇ．，２０００；Ｂｉｎｚ ａｎｄ Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，２００５））によって取得され得る。さらに、抗体様結合活性を有する足場タンパク質は、足場ドメインを含有するアクセプターポリペプチドに由来することができ、アクセプターポリペプチドを含有する足場ドメイン上にドナーポリペプチドの結合特異性を付与するために、アクセプターポリペプチドには、ドナーポリペプチドの結合ドメインを移植することができる。前記挿入された結合ドメインは、例えば

、抗体、特に、抗ＨＥＲ－３抗体の相補性決定領域（ＣＤＲ）であり得る。挿入は、例えば、当業者に周知の組み換え法の様々な形態による、ポリペプチド合成、コードするアミノ酸の核酸合成など、当業者に公知の様々な方法によって達成することが可能である。

【００３４】

さらに、本明細書において使用される「抗体」又は「抗ＨＥＲ－３抗体」という用語は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、ヒト化抗体（Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３２１（１９８６），５２２－５２５；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２（１９８８），３２３－３２９；ａｎｄ Ｐｒｅｓｔａ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．２（１９９２），５９３－５９６）、キメラ抗体（Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８１（１９８４），６８５１－６８５５）、少なくとも２つの抗体から形成された多重特異的抗体（例えば、二重特異的抗体）又はこれらの抗体断片を意味する。「抗体断片」という用語は、上記抗体のあらゆる一部、好ましくはそれらの抗原結合領域又は可変領域を含む。抗体断片の例には、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ’断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、Ｆｖ断片、ダイアボディ（Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９０（１９９３），６４４４－６４４８）、一本鎖抗体分子（Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ ｉｎ：Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ １１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ ａｎｄ Ｍｏｏｒｅ，ＥＤＳ，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ，Ｎ．Ｙ．（１９９４），２６９－３１５）及びＨＥＲ－３への所望の結合能を示す限り他の断片が含まれる。

【００３５】

さらに、本明細書において使用される「抗体」又は「抗ＨＥＲ－３抗体」という用語は、抗体の加工されたサブドメインを含有する抗体様分子又は天然に存在する抗体変種を含み得る。これらの抗体様分子は、ラクダ科の動物（ｃａｍｅｌｉｄ）などの天然の取得源から得られた（Ｍｕｙｌｄｅｒｍａｎｓ ｅｔ ａｌ．，Ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ７４，２７７－３０２）、又は、ヒト、ラクダ科の動物若しくはその他の種から得たライブラリーのインビトロディスプレーを通じて得られた（Ｈｏｌｔ ｅｔ ａｌ．，Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，２１，４８４－９０）ＶＨのみ又はＶＬのみのドメインなどの単一ドメイン抗体であり得る。

【００３６】

本発明において、「Ｆｖ断片」は、完全な抗原認識及び結合部位を含有する最低の抗体断片である。これらの領域は、緊密に非共有会合した１つの重鎖可変ドメインと１つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。各可変ドメインの３つのＣＤＲが、V_H－V_L二量体の表面上の抗原結合部位を規定するために相互作用するのは、この立体配置中である。一括して、６つのＣＤＲが抗体への抗原結合特異性を付与する。しかしながら、単一の可変ドメイン（又は抗原に対して特異的な３つのＣＤＲのみを含むＦｖの半分）でさえ、一般に、完全な結合部位より低い親和性であるが、抗原を認識及び結合する能力を有する。「Ｆａｂ断片」は、軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の第一の定常ドメイン（ＣＨ１）も含有する。「Ｆａｂ断片」は、重鎖ＣＨ１ドメインのカルボキシ末端に、抗体ヒンジ領域由来の１つ又はそれ以上のシステインなど、数個の残基が付加されている点で、「Ｆａｂ’断片」と異なる。「Ｆ（ａｂ’）$_2$断片」は、当初、ヒンジシステインをその間に有する「Ｆａｂ’断片」の対として作製される。パパイン又はペプシン消化など、このような抗体断片を調製する方法は、当業者に公知である。

【００３７】

本発明の好ましい実施形態において、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、ＩｇＡ－、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ又はＩｇＭ型、好ましくは、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ１及びＩｇＭ２型など（但し、これらに限定されない。）のＩｇＧ又はＩｇＭ型のものである。最も好ましい実施形態において、抗体は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２又はＩｇＧ４種である。

【００３８】
本発明の別の好ましい実施形態において、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、ＨＥＲ－３の細胞外ドメイン（ＥＣＤ）に対して誘導された抗ＨＥＲ－３抗体である。
【００３９】
ある観点において、例えば、治療候補物としてＨＥＲ－３に対する抗体を作製することに関して、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、補体を固定し、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）に関与できることが望ましい場合があり得る。マウスＩｇＭ、マウスＩｇＧ２ａ、マウスＩｇＧ２ｂ、マウスＩｇＧ３、ヒトＩｇＭ、ヒトＩｇＧ１、ヒトＩｇＧ３及びヒトＩｇＡなど（但し、これらに限定されない。）、補体の固定及び補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）への関与が可能な抗体のイソタイプが多数存在する。作製される抗体は、このようなイソタイプを最初から有する必要はなく、むしろ、作製された抗体は、あらゆるイソタイプを有することができること、並びに、本分野において周知である慣用の分子生物学的技術を用いて、適切な発現ベクター中に分子クローニングされた定常領域遺伝子又はｃＤＮＡへ、分子クローニングされたＶ領域遺伝子又はｃＤＮＡを付加し、次いで、本分野で公知の技術を用いて宿主細胞中で抗体を発現させることによって抗体をイソタイプ交換できることが理解される。イソタイプ交換された抗体は、天然に存在する変種に比べて優れたＣＤＣを有するように分子的に加工され（Ｉｄｕｓｏｇｉｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１６６，２５７１－２５７５）、本分野で公知の技術を用いて、宿主細胞中で組換え的に発現されたＦｃ領域も有し得る。このような技術には、とりわけ、直接的な組換え技術（例えば、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏ．４，８１６，３９７を参照。）、細胞－細胞融合技術（例えば、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏｓ．５，９１６，７７１及び６，２０７，４１８）の使用が含まれる。細胞－細胞融合技術では、何れかの所望のイソタイプを有する重鎖を保有する骨髄腫又は他の細胞株（ＣＨＯなど）が調製され、及び軽鎖を保有する別の骨髄腫又は他の細胞株（ＣＨＯなど）が調製される。その後、このような細胞を融合し、完全な状態の抗体を発現する細胞株を単離することができる。例として、（抗体の特異性及び抗体の親和性の幾つかを規定する）同じ可変領域を有しながら、ヒトＩｇＭ、ヒトＩｇＧ１又はヒトＩｇＧ３イソタイプを作製するために、ＨＥＲ－３抗原への所望の結合を有するヒト抗ＨＥＲ－３ＩｇＧ４抗体を容易にイソタイプ交換させ得る。その後、このような分子は、補体を固定し、ＣＤＣへ関与することが可能であり得る。
【００４０】
さらに、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、単球及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞などのエフェクター細胞上のＦｃ受容体へ結合することができ、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）に関与することも望ましい場合があり得る。マウスＩｇＧ２ａ、マウスＩｇＧ２ｂ、マウスＩｇＧ３、ヒトＩｇＧ１及びヒトＩｇＧ３など（但し、これらに限定されない。）、上記のことが可能な抗体のイソタイプが多数存在する。作製される抗体は、このようなイソタイプを最初から有する必要はなく、むしろ、作製された抗体は、あらゆるイソタイプを有することができること、並びに、本分野において周知である慣用の分子生物学的技術を用いて、適切な発現ベクター中に分子クローニングされた定常領域遺伝子又はｃＤＮＡへ、分子クローニングされたＶ領域遺伝子又はｃＤＮＡを付加した後、本分野で公知の技術を用いて抗体を宿主細胞中で発現させることによって、抗体のイソタイプ交換を実施できることが理解される。イソタイプ交換された抗体は、天然に存在する変種に比べて優れたＡＤＣＣを有するように分子的に加工され（Ｓｈｉｅｌｄｓ ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．，２７６，６５９１－６６０４）、本分野で公知の技術を用いて、宿主細胞中で組換え的に発現されたＦｃ領域も有し得る。このような技術には、とりわけ、直接的な組換え技術（例えば、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏ．４，８１６，３９７を参照。）、細胞－細胞融合技術（例えば、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏｓ．５，９１６，７７１及び６，２０７，４１８を参照。）の使用が含まれる。細胞－細胞融合技術では、何れかの所望のイソタイプを有する重鎖を保有する骨髄腫又は他の細胞株（ＣＨＯなど）が調製され、及び軽鎖を保有する別の骨髄腫又は他の細胞株（ＣＨＯなど）が調製される。その後、このような細胞を融合し、完全な状態の抗体を発現する細胞株を単離することができる

。例として、（抗体の特異性及び抗体の親和性の幾つかを規定する）同じ可変領域を有しながら、ヒトＩｇＧ１又はヒトＩｇＧ３イソタイプを作製するために、ＨＥＲ－３抗原への所望の結合を有するヒト抗ＨＥＲ－３ＩｇＧ４抗体を容易にイソタイプ交換させ得る。次いで、このような分子は、エフェクター細胞上のＦｃγＲへ結合し、ＡＤＣＣに関与することが可能であり得る。

【００４１】

さらに、本発明によれば、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、完全なヒト抗体又はヒト化抗体であることが理解される。ヒト抗体は、異種抗体、例えば、マウス又はラットの可変及び／又は定常領域を有する抗体に伴う問題の幾つかを回避する。マウス又はラットに由来するタンパク質など、異種由来のタンパク質の存在は、患者による、抗体に対する免疫反応を惹起させることができ、続いて、抗体の迅速な除去、抗体の中和を通じた治療的有用性の喪失及び／又は重篤な、さらには生命を脅かすアレルギー反応をもたらし得る。

【００４２】

好ましくは、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、Ｕ１－１抗体、Ｕ１－２抗体、Ｕ１－３抗体、Ｕ１－４抗体、Ｕ１－５抗体、Ｕ１－６抗体、Ｕ１－７抗体、Ｕ１－８抗体、Ｕ１－９抗体、Ｕ１－１０抗体、Ｕ１－１１抗体、Ｕ１－１２抗体、Ｕ１－１３抗体、Ｕ１－１４抗体、Ｕ１－１５抗体、Ｕ１－１６抗体、Ｕ１－１７抗体、Ｕ１－１８抗体、Ｕ１－１９抗体、Ｕ１－２０抗体、Ｕ１－２１抗体、Ｕ１－２２抗体、Ｕ１－２３抗体、Ｕ１－２４抗体、Ｕ１－２５抗体、Ｕ１－２６抗体、Ｕ１－２７抗体、Ｕ１－２８抗体、Ｕ１－２９抗体、Ｕ１－３０抗体、Ｕ１－３１抗体、Ｕ１－３２抗体、Ｕ１－３３抗体、Ｕ１－３４抗体、Ｕ１－３５抗体、Ｕ１－３６抗体、Ｕ１－３７抗体、Ｕ１－３８抗体、Ｕ１－３９抗体、Ｕ１－４０抗体、Ｕ１－４１抗体、Ｕ１－４２抗体、Ｕ１－４３抗体、Ｕ１－４４抗体、Ｕ１－４５抗体、Ｕ１－４６抗体、Ｕ１－４７抗体、Ｕ１－４８抗体、Ｕ１－４９抗体、Ｕ１－５０抗体、Ｕ１－５１抗体、Ｕ１－５２抗体、Ｕ１－５３抗体、Ｕ１－５５．１抗体、Ｕ１－５５抗体、Ｕ１－５７．１抗体、Ｕ１－５７抗体、Ｕ１－５８抗体、Ｕ１－５９抗体、Ｕ１－６１．１抗体、Ｕ１－６１抗体及びＵ１－６２からなる群から選択される。

【００４３】

本発明の好ましい実施形態において、本発明の結合タンパク質は、標識基に連結される。このような結合タンパク質は、特に、診断用途に適している。本明細書において使用される、「標識基」という用語は、検出可能なマーカー、例えば、放射性標識されたアミノ酸又は印を付けたアビジン（例えば、光学的方法又は比色分析法によって検出することができる、蛍光マーカー又は酵素活性に結合されたストレプトアビジン）によって検出することができるビオチン部分を表す。抗体などのポリペプチド及び糖タンパク質を標識するための様々な方法が本分野において公知であり、本発明を実施する際に使用され得る。適切な標識基の例には、以下の放射性同位体又は放射性核種（例えば、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ）、蛍光基（例えば、ＦＩＴＣ、ローダミン、ランタニドリン光体）、酵素基（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、β－ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光基、ビオチン基又は二次レポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体に対する結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）が含まれるが、これらに限定されない。ある観点において、立体的障害の可能性を減らすために、標識基には、様々な長さのスペーサーアームを付着させることが望ましい場合があり得る。

【００４４】

あるいは、本発明の別の好ましい実施形態において、本発明の結合タンパク質は、エフェクター基に連結され得る。このような結合タンパク質は、特に、治療用途に適している。本明細書において使用される「エフェクター基」という用語は、放射線同位体若しくは放射線核種、毒素、治療基又は本分野において公知の他のエフェクター基などの細胞毒性基を表す。適切なエフェクター基の例は、放射線同位体又は放射線核種（例えば、^{3}Ｈ、

^{14}C、^{15}N、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I）、カリチアマイシン、アウリスタチンなどのドラスタチン類縁体並びにゲルダナマイシン及びマイタンシン誘導体（ＤＭ１を含む。）などの化学療法剤である。ある観点において、立体的障害の可能性を減らすために、エフェクター基には、様々な長さのスペーサーアームを付着させることが望ましい場合があり得る。

【００４５】

本発明の第二の態様は、結合タンパク質を分泌する宿主細胞から結合タンパク質を調製する工程を含む、本発明の単離された結合タンパク質を調製する方法に関する。本発明に従って使用され得る宿主細胞は、ハイブリドーマ；哺乳動物細胞（例えば、ハムスター、ウサギ、ラット、ブタ、マウス又はその他の動物細胞）、植物細胞、真菌細胞（例えば、サッカロミセス・セレビシアエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）、ピチア・パストリス（Ｐｉｃｈｉａ ｐａｓｔｏｒｉｓ））などの真核細胞；イー・コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）などの原核細胞及び結合タンパク質の産生のために本分野で使用される他の細胞である。足場タンパク質又は抗体などの結合タンパク質を宿主細胞から調製及び単離するための様々な方法が本分野において公知であり、本発明を実施する際に使用され得る。さらに、パパイン又はペプシン消化、近代的なクローニング技術、一本鎖抗体分子を調製するための技術（Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ ｉｎ：Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ １１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ ａｎｄ Ｍｏｏｒｅ，ＥＤＳ，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｉａｇ，Ｎ．Ｙ．（１９９４），２６９－３１５）及びダイアボディ（Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９０（１９９３），６４４４－６４４８）など、結合タンパク質断片（例えば、足場タンパク質断片又は抗体断片）を調製するための方法も当業者に公知であり、本発明を実施する際に使用し得る。

【００４６】

本発明の好ましい実施形態において、本発明の結合タンパク質は、結合タンパク質を分泌するハイブリドーマから調製される。例えば、「Ｋｏｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ２５６（１９７５），４９５」を参照されたい。

【００４７】

本発明のさらなる好ましい実施形態において、本発明の結合タンパク質は、宿主細胞中での結合タンパク質の発現を最適化及び／又は増幅し、前記宿主細胞からの結合タンパク質を単離することによって、組み換え的に調製される。この目的のために、結合タンパク質をコードするＤＮＡで、又は結合タンパク質をコードするＤＮＡを含有するベクターで宿主細胞を形質転換又は形質移入し、本発明の結合タンパク質を産生するのに適した条件下で培養する。例えば、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏ．４，８１６，５６７を参照されたい。好ましい宿主細胞は、ＣＨＯ細胞、ＮＳ／０骨髄腫細胞、ヒト胎児性腎臓２９３細胞、イー・コリ及びサッカロミセス・セレビシアエであり得る。

【００４８】

抗体である結合タンパク質に関して、これらの抗体は、完全なヒト抗体を作製するように遺伝子操作された動物から、又はバクテリオファージ、酵母、リボソーム又はイー・コリ中に作製された抗体ディスプレイライブラリーから調製され得る。例えば、Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３５２（１９９１），６２４－６２８，Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２（１９９１），５８１－５９７，Ｆｅｌｄｈａｕｓ ａｎｄ Ｓｉｅｇｅｌ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ．２９０，６９－８０，Ｇｒｏｖｅｓ ａｎｄ Ｏｓｂｏｕｒｎ，Ｅｘｐｅｒｔ Ｏｐｉｎ Ｂｉｏｌ Ｔｈｅｒ．，５，１２５－１３５ ａｎｄ Ｊｏｓｔｏｃｋ ａｎｄ Ｄｕｂｅｌ，Ｃｏｍｂ Ｃｈｅｍ Ｈｉｇｈ Ｔｈｒｏｕｇｈｐｕｔ Ｓｃｒｅｅｎ．８，１２７－１３３を参照されたい。

【００４９】

ヒト抗体は、マウス又はラットの可変及び／又は定常領域を有する抗体に伴う問題の幾つかを回避する。このようなマウス又はラット由来のタンパク質の存在は、抗体の急速な

除去をもたらすことができ、又は、患者による、抗体に対する免疫応答の生成をもたらすことができる。マウス又はラット由来の抗体の使用を回避するために、げっ歯類、他の哺乳動物又は動物が完全なヒト抗体を産生するように、げっ歯類、他の哺乳動物又は動物中への機能的なヒト抗体遺伝子座の導入を通じて、完全なヒト抗体を作製することが可能である。

【００５０】

完全なヒト抗体を作製するための１つの方法は、ヒト重鎖遺伝子座及びκ軽鎖遺伝子座の２４５ｋｂ及び１９０ｋｂサイズの生殖系列配置断片を含有するように操作されたマウスのＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（Ｒ）系統の使用を通じた方法である。マウスの他のＸｅｎｏＭｏｕｓｅ系統は、ヒト重鎖遺伝子座及びκ軽鎖遺伝子座の９８０ｋｂ及び８００ｋｂサイズの生殖系列配置断片を含有する。マウスのさらに他のＸｅｎｏＭｏｕｓｅ系統は、ヒト重鎖遺伝子座及びκ軽鎖遺伝子座の９８０ｋｂ及び８００ｋｂサイズの生殖系列配置断片に加えて、７４０ｋｂのサイズの生殖系列構成された完全なヒトλ軽鎖遺伝子座を含有する。「Ｍｅｎｄｅｚ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １５：１４６－１５６（１９９７）」及び「Ｇｒｅｅｎ ａｎｄ Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８８：４８３－４９５（１９９８）」を参照されたい。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（Ｒ）系統は、Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｉｎｃ．（Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＣＡ）から入手可能である。

【００５１】

ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（Ｒ）マウスの作製は、１９９０年1月１２日に出願されたＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ Ｓｅｒｉａｌ Ｎｏｓ．０７／４６６，００８、１９９０年１１月8日に出願された０７／６１０，５１５、１９９２年7月２４日に出願された０７／９１９，２９７、１９９２年7月３０日に出願された０７／９２２，６４９、１９９３年3月１５日に出願された０８／０３１，８０１、１９９３年8月２７日に出願された０８／１１２，８４８、１９９４年4月２８日に出願された０８／２３４，１４５、１９９５年1月２０日に出願された０８／３７６，２７９、１９９５年4月２７日に出願された０８／４３０，９３８、１９９５年6月5日に出願された０８／４６４，５８４、１９９５年6月5日に出願された０８／４６４，５８２、１９９５年6月5日に出願された０８／４６３，１９１、１９９５年6月5日に出願された０８／４６２，８３７、１９９５年6月5日に出願された０８／４８６，８５３、１９９５年6月5日に出願された０８／４８６，８５７、１９９５年6月5日に出願された０８／４８６，８５９、１９９５年6月5日に出願された０８／４６２，５１３、１９９６年１０月2日に出願された０８／７２４，７５２及び１９９６年１２月3日に出願された０８／７５９，６２０、２００２年１１月２０日に出願されたＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ ２００３／０２１７３７３並びにＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏｓ．６，８３３，２６８、６，１６２，９６３、６，１５０，５８４、６，１１４，５９８、６，０７５，１８１及び５，９３９，５９８並びにＪａｐａｎｅｓｅ Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏｓ．３ ０６８ １８０ Ｂ２、３ ０６８ ５０６ Ｂ２及び３ ０６８ ５０７ Ｂ２に、さらに論述及び描写されている。１９９６年6月１２日に公開されたＥｕｒｏｐｅａｎ Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏ．，ＥＰ ０ ４６３ １５１ Ｂ１、１９９４年2月3日に公開されたＩｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｐａｔｅｎｔ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．，ＷＯ ９４／０２６０２、１９９６年１０月３１日に公開されたＩｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｐａｔｅｎｔ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．，ＷＯ ９６／３４０９６、１９９８年6月１１日に公開されたＷＯ９８／２４８９３、２０００年１２月２１日公開されたＷＯ００／７６３１０も参照されたい。上記特許、出願及び参考文献の各々の開示の全体が、参照により、本明細書に組み込まれる。

【００５２】

別のアプローチにおいて、ＧｅｎＰｈａｒｍ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．，などの他の者は、「ミニローカス」アプローチを使用してきた。ミニローカスアプローチにおいて、Ｉｇ遺伝子座から得た片（各遺伝子）を含めることによって、外来Ｉｇ遺伝子座が模倣される。従って、１つ又はそれ以上のV_H遺伝子、１つ又はそれ以上のD_H遺

伝子、１つ又はそれ以上のＪ$_H$遺伝子、μ定常領域及び第二の定常領域（好ましくは、γ定常領域）が、動物内への挿入のために、構築物の中に形成される。本アプローチは、Ｓｕｒａｎｉらに対するＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ　Ｎｏ．５，５４５，８０７及びそれぞれ、ＬｏｎｂｅｒｇとＫａｙに対するＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ　Ｎｏｓ．５，５４５，８０６、５，６２５，８２５、５，６２５，１２６、５，６３３，４２５、５，６６１，０１６、５，７７０，４２９、５，７８９，６５０、５，８１４，３１８、５，８７７，３９７、５，８７４，２９９及び６，２５５，４５８、Ｋｒｉｍｐｅｎｆｏｒｔ及びＢｅｒｎｓに対するＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ　Ｎｏ．５，５９１，６６９及び６，０２３．０１０、Ｂｅｒｎｓらに対するＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ　Ｎｏｓ．５，６１２，２０５、５，７２１，３６７及び５，７８９，２１５並びにＣｈｏｉ及びＤｕｎｎに対するＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ　Ｎｏ．５，６４３，７６３、並びに１９９０年８月２９日に出願されたＧｅｎＰｈａｒｍ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｓｅｒｉａｌ　Ｎｏｓ．０７／５７４，７４８、１９９０年８月３１日に出願された０７／５７５，９６２、１９９１年１２月１７日に出願された０７／８１０，２７９、１９９２年３月１８日に出願された０７／８５３，４０８、１９９２年６月２３日に出願された０７／９０４，０６８、１９９２年１２月１６日に出願された０７／９９０，８６０、１９９３年４月２６日に出願された０８／０５３，１３１、１９９３年７月２２日に出願された０８／０９６，７６２、１９９３年１１月１８日に出願された０８／１５５，３０１、１９９３年１２月３日に出願された０８／１６１，７３９、１９９３年１２月１０日に出願された０８／１６５，６９９、１９９４年３月９日に出願された０８／２０９，７４１（これらの開示内容は、参照により、本明細書に組み込まれる。）に記載されている。Ｅｕｒｏｐｅａｎ　Ｐａｔｅｎｔ　Ｎｏ．０　５４６　０７３　Ｂ１、Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　Ｐａｔｅｎｔ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏｓ．ＷＯ９２／０３９１８、ＷＯ９２／２２６４５、ＷＯ９２／２２６４７、ＷＯ９２／２２６７０、ＷＯ９３／１２２２７、ＷＯ９４／００５６９、ＷＯ９４／２５５８５、ＷＯ９６／１４４３６、ＷＯ９７／１３８５２及びＷＯ　９８／２４８８４並びにＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ　Ｎｏ．５，９８１，１７５（これらの開示内容全体が、参照により、本明細書に組み込まれる。）も参照されたい。さらに、Ｔａｙｌｏｒ　ｅｔ　ａｌ．，１９９２、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９３、Ｔｕａｉｌｌｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９３、Ｃｈｏｉ　ｅｔ　ａｌ．，１９９３、Ｌｏｎｂｅｒｇ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９４）、Ｔａｙｌｏｒ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９４）及びＴｕａｉｌｌｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９５）、Ｆｉｓｈｗｉｌｄ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９６）（これらの開示内容全体が、参照により、本明細書に組み込まれる。）を参照されたい。

【００５３】

Ｋｉｒｉｎは、ミクロセル融合を通じて、染色体の巨大片又は完全な染色体が導入されたマウスからのヒト抗体の作製も示した。Ｅｕｒｏｐｅａｎ　Ｐａｔｅｎｔ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏｓ．７７３　２８８及び８４３　９６１（これらの開示内容全体が、参照により、本明細書に組み込まれる。）を参照されたい。さらに、ＫｉｒｉｎのＴｃマウスとＭｅｄａｒｅｘのミニローカス（Ｈｕｍａｂ）マウスの交雑から得られるＫＭ^{TM}マウスが作製されている。これらのマウスは、ＫｉｒｉｎマウスのＨＣ導入染色体（ｔｒａｎｓｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅ）とＭｅｄａｒｅｘマウスのκ鎖導入遺伝子を有する（Ｉｓｈｉｄａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｌｏｎｉｎｇ　Ｓｔｅｍ　Ｃｅｌｌｓ，（２００２）４：９１－１０２）。

【００５４】

ヒト抗体は、インビトロ法によって得ることもできる。適切な例には、ファージディスプレイ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｍｏｒｐｈｏｓｙｓ、Ｄｙａｘ、Ｂｉｏｓｉｔｅ／Ｍｅｄａｒｅｘ、Ｘｏｍａ、Ｓｙｍｐｈｏｇｅｎ、Ａｌｅｘｉｏｎ（旧Ｐｒｏｌｉｆｅｒｏｎ）、Ａｆｆｉｍｅｄによって市販されている。）、リボソームディスプレイ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙによって市販されている。）、酵母ディスプレイなどが含まれるが、これらに限定

されない。

【００５５】

抗体は、本明細書に記載されているように、以下に記載されているとおりにＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（Ｒ）技術を使用することによって調製された。その後、このようなマウスは、ヒト免疫グロブリン分子及び抗体を産生することができ、マウス免疫グロブリン分子及び抗体の産生を欠失している。これを達成するために使用された技術は、本明細書の背景技術中に開示されている特許、出願及び参考文献中に開示されている。しかしながら、とりわけ、マウス及びマウスから得られる抗体のトランスジェニック産生の好ましい実施形態は、１９９６年１２月３日に出願されたＵ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ Ｓｅｒｉａｌ Ｎｏ．０８／７５９，６２０及び１９９８年６月１１日に公開されたＩｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｐａｔｅｎｔ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏｓ．ＷＯ ９８／２４８９３及び２０００年１２月２１日に公開されたＷＯ００／７６３１０（これらの開示内容は、参照により、本明細書に組み込まれる。）に開示されている。「Ｍｅｎｄｅｚ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １５：１４６－１５６（１９９７）」（本開示内容は、参照により、本明細書に組み込まれる。）も参照されたい。

【００５６】

このような技術の使用を通じて、様々な抗原に対する完全なヒトモノクローナル抗体が作製されてきた。基本的には、マウスのＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（Ｒ）株を目的の抗原（例えば、ＨＥＲ－３）で免疫し、抗体を発現したマウスから（Ｂ細胞などの）リンパ系細胞を回収し、不死化ハイブリドーマ細胞株を調製するために、回収された細胞株を骨髄球型細胞株と融合する。目的の抗原に対して特異的な抗体を産生するハイブリドーマ細胞株を同定するために、これらのハイブリドーマ細胞株をスクリーニングし、選択する。本明細書には、ＨＥＲ－３に対して特異的な抗体を産生する複数のハイブリドーマ細胞株を作製するための方法が提供されている。さらに、本明細書において、このような抗体の重鎖及び軽鎖のヌクレオチド及びアミノ酸配列分析など、このような細胞株によって産生された抗体の性質決定が提供される。

【００５７】

一般に、融合されたハイブリドーマによって産生される抗体は、完全なヒトκ軽鎖を有するヒトＩｇＧ１重鎖であった。本明細書に記載されている抗体は、ヒトＩｇＧ４重鎖及びＩｇＧ１重鎖を有する。抗体は、ＩｇＧ２又はＩｇＧ３など、他のヒトイソタイプとすることもできる。抗体は、高い親和性を有し、典型的には、固相及び細胞ベースの技術によって測定された場合に、約10^{-6}から約10^{-13}Ｍ又はそれ以下のK_Dを有する。

【００５８】

本発明の別の態様は、本発明の結合タンパク質をコードする単離された核酸分子に関する。本発明の文脈の中で、本明細書で使用される「単離された核酸分子」という用語は、ゲノム、ｃＤＮＡ若しくは合成起源又はこれらの幾つかの組み合わせのポリヌクレオチドを意味し、その起源に基づいて、「単離されたポリヌクレオチド」は、（１）「単離されたポリヌクレオチド」が本来その中に見出されるポリヌクレオチドの全部又は一部と会合していない、（２）本来連結されていないポリヌクレオチドに作用可能に連結されている、又は（３）より大きな配列の一部として本来存在しない。さらに本明細書において使用される「核酸分子」という用語は、少なくとも１０塩基長のヌクレオチド（リボヌクレオチド若しくはデオキシヌクレオチドの何れか、又は修飾された若しくは置換された糖基を有するヌクレオチドなど、ヌクレオチドの何れかのタイプの修飾された形態）のポリマー形態を意味する。本用語は、ＤＮＡの一本鎖及び二本鎖形態も含む。

【００５９】

本発明の一実施形態において、本発明の核酸分子は、調節配列へ作用可能に連結されている。本明細書において使用される「調節配列」という用語は、これらが連結されているコード配列の発現及びプロセッシングに影響を与えるのに必要なポリヌクレオチド配列を表す。このような調節配列の性質は、宿主生物に応じて異なる。原核生物では、このような調節配列には、一般に、プロモーター、リボソーム結合部位及び転写終結配列が含まれ

る。真核生物では、このような調節配列には、一般に、プロモーター及び転写終結配列が含まれる。本発明において、「調節配列」という用語は、最小限、その存在が発現及びプロセッシングに不可欠である全ての成分を含むものとし、その存在が有利である追加の成分、例えば、リーダー配列及び融合対配列も含むことが可能である。さらに、本明細書において使用される「作用可能に連結された」という用語は、所期の様式でそれらを機能させることができる関係にある、このように記載された成分の位置を表す。さらに、本発明によれば、コード配列に対して作用可能に連結された発現調節配列は、発現調節配列と適合的な条件下で、コード配列の発現が達成されるように連結されている。

【００６０】

本発明のさらなる態様は、本発明の結合タンパク質をコードする核酸分子を含むベクターである。核酸分子は、調節配列に、作用可能に連結することができる。さらに、ベクターは、複製起点又は選択マーカー遺伝子をさらに含有し得る。本発明に従って使用され得るベクターの例は、例えば、プラスミド、コスミド、ファージ、ウイルスなどである。

【００６１】

本発明の別の態様は、本発明の核酸分子又はベクターで形質転換された宿主細胞に関する。形質転換は、宿主細胞中にポリヌクレオチドを導入するためのあらゆる公知の方法によって、例えば、ウイルス中への（又はウイルスベクター中への）ポリヌクレオチドのパッケージング及びウイルス（又はベクター）での宿主細胞の形質導入、又は、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ　Ｎｏｓ．４，３９９，２１６、４，９１２，０４０、４，７４０，４６１及び４，９５９，４５５（これらの特許は、参照により、本明細書中に組み込まれる。）を例とする本分野で公知の形質移入操作によって実施され得る。特に、哺乳動物細胞中に異種のポリヌクレオチドを導入するための方法が本分野において周知であり、デキストランによって媒介される形質移入、リン酸カルシウム沈殿、ポリブレンによって媒介される形質移入、プロトプラスト融合、電気穿孔、リポソーム中へのポリヌクレオチドの封入及び核内へのＤＮＡの直接的微少注入が含まれる。本発明に従って使用され得る宿主細胞の例は、哺乳動物細胞（例えば、ハムスター、ウサギ、ラット、ブタ、マウス又はその他の動物細胞）などのハイブリドーマ真核細胞、、植物細胞及び真菌細胞（例えば、トウモロコシ、タバコ、サッカロミセス・セレビシアエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）、ピチア・パストリス（Ｐｉｃｈｉａ　ｐａｓｔｏｒｉｓ））；イー・コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）などの原核細胞及び抗体の産生のために本分野で使用される他の細胞である。特に、発現のための宿主として利用可能な哺乳動物細胞株が本分野において周知であり、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ＨｅＬａ細胞、ベビーハムスター腎臓（ＢＨＫ）細胞、サル腎臓細胞（ＣＯＳ）、ヒト肝細胞癌細胞（例えば、ＨｅｐＧ２）及び多数の他の細胞株など（但し、これらに限定されない。）、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（ＡＴＣＣ）から入手可能な多くの不死化された細胞株が含まれる。

【００６２】

本発明のさらに別の態様は、活性因子としての本発明の少なくとも１つの結合タンパク質並びに医薬として許容される担体、希釈剤及び／又は佐剤を含む医薬組成物である。本明細書において使用される「医薬組成物」という用語は、患者に適切に投与された場合に、所望の治療効果を誘導することができる化学的化合物又は組成物を表す（ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ　Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ　ｏｆ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｔｅｒｍｓ（Ｐａｒｋｅｒ，　Ｓ．，　Ｅｄ．，　ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ，　Ｓａｎ　Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ（１９８５）、参照により、本明細書に組み込まれる。）。本発明において、本発明の医薬組成物の効力は、ＨＥＲ－３への少なくとも１つの結合タンパク質の結合を基礎とする。好ましくは、この結合は、ＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達の低下をもたらす。

【００６３】

さらに、本明細書において使用される場合、「担体」という用語には、使用される用量及び濃度で、担体に曝露されている細胞又は哺乳動物に対して無毒である担体、賦形剤又は安定化剤が含まれる。しばしば、生理的に許容される担体は、ｐＨ緩衝化された水溶液

又はリポソーム（哺乳動物に薬物を送達するのに有用である、脂質、リン脂質及び／又は界面活性剤の様々な種類から構成される小胞）である。生理的に許容される担体の例には、ホスファート、シトラート及びその他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸などの抗酸化剤；低分子量（約１０残基未満の）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン若しくは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン若しくはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース又はデキストリンなどの単糖、二糖及び他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート剤；マニトール若しくはソルビトールなどの糖アルコール；ナトリウムなどの塩形成対イオン；及び／又はＴＷＥＥＮ^{TM}、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）及びＰＬＵＲＯＮＩＣＳ^{TM}などの非イオン性界面活性剤が含まれる。

【００６４】

本発明の一実施形態において、医薬組成物中に含有される本発明の少なくとも１つの結合タンパク質は、カルケアマイシン、アウリスタチン－ＰＥ、放射性同位体又はゲルダナマイシン及びマイタンシンなどの毒性を有する化学療法剤などのエフェクターに連結される。特に、これらの結合タンパク質抱合体は、除去のために、ＨＥＲ－３を発現している細胞（例えば、癌細胞）を標的とする上で有用である。

【００６５】

さらに、例えば、放射性同位体への本発明の結合タンパク質の連結は、腫瘍治療に対して利点を与える。化学療法及び癌治療の他の形態とは異なり、放射線免疫療法又は放射性同位体－結合タンパク質の組み合わせの投与は、周囲の正常で、健康な組織に対する損傷を最小限に抑えながら、癌細胞を直接標的とする。この「魔法の弾丸」によって、患者は、今日利用可能な治療の他の形態より、放射線同位体のずっと少ない量で治療することができる。好ましい放射性同位体には、イットリウム^{90}（^{90}Ｙ）、インジウム^{111}（^{111}Ｉｎ）、^{131}Ｉ、^{99}ｍＴｃ、放射性銀－１１１、放射性銀－１９９及びビスマス^{213}が含まれる。本発明の結合タンパク質への放射性同位体の連結は、例えば、慣用の二官能性キレートを用いて実施され得る。銀は一価であるので、放射性銀－１１１及び放射性銀－１９９の連結に関しては、硫黄をベースとするリンカーを使用し得る（Ｈａｚｒａ ｅｔ ａｌ., Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｐｈｙｓ．２４－２５, １－７（１９９４））。銀放射性同位体の連結は、アスコルビン酸による免疫グロブリンの還元を伴い得る。さらに、チウキセタンは、イブリツモマブに結合されて、イブリツモマブ・チウキセタン（Ｚｅｖａｌｉｎ）を形成するＭＸ－ＤＴＰＡリンカーキレート剤である（Ｗｉｔｚｉｇ, Ｔ．Ｅ, Ｃａｎｃｅｒ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．４８ Ｓｕｐｐｌ １, ９１－５（２００１）。イブリツモマブ・チウキセタンは、インジウム^{111}（^{111}Ｉｎ）又は^{90}Ｙなどの放射性同位体と反応して、それぞれ、^{111}Ｉｎ－イブリツモマブ・チウキセタン及び^{90}Ｙ－イブリツモマブ・チウキセタンを形成することができる。

【００６６】

さらに、本発明の結合タンパク質は、特に、癌を治療するのに使用される場合に、カリチアマイシン（Ｈａｍａｎｎ ｅｔ ａｌ., Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．１３（１）, ４０－６（２００２）、ゲルダナマイシン（Ｍａｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ., Ｊ．Ｎａｔｌ．Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．, ９２（１９）, １５４９－５１（２０００））及びメイタンシン、例えば、メイタンシノイド薬ＤＭ１（Ｌｉｕ ｅｔ ａｌ., Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９３：８６１８－８６２３（１９９６））などの毒性を有する化学療法剤と連結され得る。酸性もしくは還元条件下で、又は特異的なプロテアーゼへの曝露時に薬物を放出する様々なリンカーを、本技術とともに使用され得る。本発明によれば、本発明の結合タンパク質は、本分野において記載されているとおりに連結され得る。

【００６７】

アウリスタチン－ＰＥ、例えば、海洋性無殻軟体動物のペプチド構成成分であるドラスタチン１０の構造的な修飾物である抗微小管因子である。アウリスタチン－ＰＥは、抗腫

瘍活性及び抗腫瘍血管活性を併有する（Ｏｔａｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊｐｎ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．９１（８），８３７－４４（２０００））。例えば、膵臓癌細胞株において、アウリスタチン－ＰＥは細胞増殖を阻害し、細胞周期の停止とアポトーシスを誘導する（Ｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｍｅｄ．３（６），６４７－５３（１９９９））。従って、アウリスタチン－ＰＥの抗腫瘍活性と抗腫瘍血管活性を特定の腫瘍に対して特異的に標的化するために、アウリスタチン－ＰＥは、本発明の結合タンパク質へ連結され得る。

【００６８】

本発明の一実施形態において、医薬組成物は、少なくとも１つのさらなる活性因子を含む。本発明に従って使用され得るさらなる活性因子に対する例は、抗体又はＥＧＦＲ、ＨＥＲ－２、ＨＥＲ－４、ＩＧＦＲ－１若しくはｃ－ｍｅｔなどの他の受容体タンパク質キナーゼの低分子量阻害剤、血管内皮因子（ＶＥＧＦ）などの受容体リガンド、ドキソルビシン、シス－プラチン若しくはカルボプラチンなどの細胞毒性因子、サイトカイン又は抗新生物因子である。現在、多くの抗新生物因子が当分野で公知である。一実施形態において、抗新生物因子は、抗体又は免疫調節タンパク質を含む（但し、これらに限定されない。）治療用タンパク質の群から選択される。別の実施形態において、抗新生物因子は、有糸分裂阻害剤、キナーゼ阻害剤、アルキル化剤、代謝抑制剤、インターカレート抗生物質、成長因子阻害剤、細胞周期阻害剤、酵素、トポイソメラーゼ阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、抗生存因子、生物応答修飾物質、抗ホルモン、例えば、抗アンドロゲン及び抗血管新生因子からなる小分子阻害剤又は化学療法剤の群から選択される。抗新生物因子が放射線照射である場合には、治療は、体内密封小線源治療（ｂｒａｃｈｙｔｈｅｒａｐｙＢＴ）又は体外（体外光線照射療法：ＥＢＲＴ）源のいずれかを用いて治療を達成することができる。

【００６９】

本発明の医薬組成物は、過剰増殖性疾患の診断、予防又は治療に特に適している。過剰増殖性疾患は、例えば、増加されたＨＥＲファミリーシグナル伝達と関連し得る。特に、疾患は、増加されたＨＥＲ－３リン酸化及び／又はＨＥＲ－３とＨＥＲファミリーの他のメンバーとの間での増加された複合体形成及び／又は増加されたPI_3キナーゼ活性及び／又は増加されたｃ－ｊｕｎ末端キナーゼ活性及び／又ＡＫＴ活性及び／又は増加されたＥＲＫ２活性及び／又はＰＹＫ２活性と関連することができる。好ましくは、過剰増殖性疾患は、乳癌、胃腸癌、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、胃癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、肺癌、腎臓癌、大腸癌、直腸結腸癌、甲状腺癌、膀胱癌、神経膠腫、悪性黒色腫又はＨＥＲ－３を発現若しくは過剰発現する他の癌及び腫瘍転移の形成からなる群から選択される。

【００７０】

本発明において、本明細書で使用される「予防又は治療」という用語は、治療的な処置及び予防的若しくは防止的措置の両方を表し、必要とする患者は、標的とされる病的症状又は疾患を予防又は遅延（軽減）することである。予防又は治療を必要とする者には、疾患を既に有する者及び疾患を有する傾向がある者又は疾患が予防されるべき者が含まれる。予防又は治療を必要とする患者は、哺乳動物患者、すなわち、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウサギなどの家畜及び農場動物、並びに動物園、スポーツ又はペット動物を含む哺乳動物として分類される全ての動物である。好ましくは、治療を必要とする患者は、ヒト患者である。

【００７１】

本発明によれば、本発明の医薬組成物は、活性因子を、生理的に許容される担体、希釈剤及び／又は佐剤、並びに、改善された転送、送達、耐性などを付与するために、製剤中に一般的に取り込まれる、場合によって使用される他の因子と混合することによって製剤化され得る。本発明の医薬組成物は、例えば、凍結乾燥された製剤、水溶液、分散液又は錠剤、糖衣錠若しくはカプセルなどの固体調製物の形態で製剤化され得る。多数の適切な製剤が、全ての薬化学者に公知の処方中に見出すことができる。Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１８ｔｈ ｅｄ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ

mpany, Easton, PA（１９９０））、特に、Block, LawrenceによるChapter ８７中に見出すことができる。これらの製剤には、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ゼリー、蝋、油、脂質、脂質（陽イオン性又は陰イオン性）含有小胞（Lipofectin™など）、ＤＮＡ抱合体、無水吸収ペースト、水中油及び油中水エマルジョン、エマルジョンカルボワックス（様々な分子量のポリエチレングリコール）、半固体ゲル及びカルボワックスを含有する半固体混合物が含まれる。製剤化によって、製剤中の活性因子が不活化されず、製剤が投与の経路と生理的に適合し、耐容される限り、先述の混合物の何れもが、本発明に係る治療及び療法において適切であり得る。薬化学者に周知の製剤、賦形剤及び担体に関するさらなる情報に関しては、Baldrick P., “Pharmaceutical excipient development:the need for preclinical guidance.”, Regul. Toxicol. Pharmacol. ３２（２）, ２１０－２１８（２０００）;Wang W., “Lyophilization and development of solid 5 protein pharmaceuticals.”, Int. J. Pharm. ２０３（１－２）, １－６０（２０００）;Charman W. N., “Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery－some emerging concepts.”, J. Pharm. Sci. ８９（８）, ９６７－９７８（２０００）;Powell et al., “Compendium of excipients for parenteral formulations”, PDA J. Pharm. Sci. Technol. ５２, ２３８－３１１（１９９８）及びこれらの中の引用文献も参照されたい。

【００７２】

本発明の別の態様は、過剰増殖性疾患の診断、予防又は治療用医薬組成物の製造のための、医薬として許容される担体、希釈剤及び／又は佐剤と混合された、本発明の少なくとも１つの単離された結合タンパク質、及び、場合によって使用される少なくとも１つの他の活性因子（例えば、少なくとも１つの上記抗新生物因子）の使用に関する。好ましくは、医薬組成物は上記の医薬組成物であり、過剰増殖性疾患は上記過剰増殖性疾患である。

【００７３】

本発明のさらに別の態様は、ＨＥＲ－３の発現と関連する疾病又は症状を診断するための方法であり、試料を本発明の結合タンパク質と接触させること、及び前記試料中のＨＥＲ－３の存在を検出することを含む、前記方法に関する。試料は、腫瘍細胞、血液試料又は別の適切な試料など、ＨＥＲ－３の発現を示す細胞であり得る。本発明の好ましい実施形態において、ＨＥＲ－３の発現に関連する疾病又は症状は、上に定義されている過剰増殖性疾患である。

【００７４】

本発明によれば、前記方法は、例えば、細胞中のＨＥＲ－３抗原の検出のために、上記過剰増殖性疾患に罹患している患者中のＨＥＲ－３抗原濃度の測定のために、又は患者中の前記過剰増殖性疾患の段階決定のために使用され得る。研究されている対象中の過剰増殖性疾患の進行の段階を決定するために、又は療法の経過に対する対象の応答を特徴付けるために、例えば、血液の試料を対象から採取し、試料中に存在するＨＥＲ－３抗原の濃度を測定する。このようにして得られた濃度は、値が属する濃度範囲を同定するために使用される。このようにして同定された範囲は、診断された対象の様々な集団中で同定された進行の段階又は療法の段階と相関し、これにより、研究中の対象における段階を付与する。疾病の生検、例えば、癌、患者から得られた組織も、存在するＨＥＲ－３抗原の量を評価するために使用され得る。疾病組織中に存在するＨＥＲ－３抗原の量は、本発明のＨＥＲ３抗体を用いて、免疫組織化学、ＥＬＩＳＡ又は抗体アレイによって評価され得る。診断的に興味深い他のパラメータは、二量体化の状態並びにＨＥＲ３タンパク質の二量体化対並びにＨＥＲ３タンパク質及びその対の活性化状態である。これらのパラメータを決定するためのタンパク質分析法は本分野において周知であり、特に、ウェスタンブロット

及び免疫沈降技術、ＦＡＣＳ分析、化学架橋、生物発光共鳴エネルギー転移（ＢＲＥＴ）、蛍光共鳴エネルギー転移（ＦＲＥＴ）など（例えば、Ｐｒｉｃｅ ｅｔ ａｌ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，２１８：２５５－２６８（２００２））又はｅＴａｇ技術（ＷＯ０５０３７０７，ＷＯ０４０９１３８４，ＷＯ０４０１１９００）である。

【００７５】

さらに、本発明は、別の態様において、ＨＥＲ－３の発現が関連する疾病又は症状の予防又は治療を必要としている患者において、ＨＥＲ－３の発現が関連する疾病又は症状を予防又は治療する方法であり、少なくとも１つの本発明の結合タンパク質の有効量を前記患者に投与することを含む、前記方法に関する。好ましくは、ＨＥＲ－３の発現を伴う好ましい疾病又は症状は、上に定義されている過剰増殖性疾患である。予防又は治療を必要とする患者は、哺乳動物患者、すなわち、ヒト、家畜及び農場動物、並びに動物園、スポーツ又はペット動物（イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウサギなど）を含む哺乳動物として分類される全ての動物である。好ましくは、必要とする患者は、ヒト患者である。

【００７６】

本発明の好ましい実施形態において、過剰増殖性疾患の予防又は治療を必要としている患者において、過剰増殖性疾患を予防又は治療する方法は、少なくとも１つの本発明の結合タンパク質の有効量、及び、さらに、少なくとも１つの他の活性因子（例えば、少なくとも１つの上記抗新生物因子）を前記患者に投与することを含む。好ましくは、本方法は、異常な細胞増殖、遊走又は浸潤を阻害するための方法である。

【００７７】

例えば、上記製剤を介した、結合タンパク質治療薬の候補の古典的な投与様式の他に、新たに開発された投与様式が、本発明においても有用であり得る。例えば、手術の切開後に原発性脳腫瘍を治療するための^{131}Ｉ標識されたモノクローナル抗体の局所投与が報告されている。さらに、モノクローナル抗体及びモノクローナル抗体の断片の直接的な定位的脳内注射も、臨床的に、及び前臨床的に研究されている。頚動脈内高浸透圧性灌流は、薬物が連結されたヒトモノクローナル抗体を、原発性脳悪性腫瘍に標的誘導するための実験的戦略である。

【００７８】

治療されるべき症状の種類及び重度に応じて、例えば、１つ若しくはそれ以上の分割された投与によって、又は継続的注入によって、本発明の結合タンパク質を必要としている患者に、少なくとも１つの本発明の結合タンパク質約１μｇ／ｋｇから１５ｍｇ／ｋｇを投与し得る。典型的な一日投薬量は、上述の要因に応じて、約１μｇ／ｋｇから約１００ｍｇ／ｋｇ又はそれ以上の範囲であり得る。数日又はそれ以上にわたる反復投与に関しては、治療されるべき症状に応じて、疾病症候の望ましい抑制が生じるまで、治療が持続される。

【００７９】

投与された少なくとも１つの抗新生物因子の用量は、様々な要因に依存する。これらは、例えば、因子の性質、腫瘍の種類又は投与の経路である。本発明は、いかなる用量にも限定されないことが強調されるべきである。

【００８０】

最後に、本発明は、さらなる態様において、ＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達と関連する疾病を診断し、予防し、又は治療するためのキットであり、少なくとも１つの本発明の結合タンパク質及び／又は核酸分子及び／又はベクターを含む前記キットに関する。さらに、本発明のキットは、少なくとも１つの他の活性因子、例えば、少なくとも１つの上記他の抗新生物因子をさらに含むことができる。

【００８１】

さらに、以下の実施例及び添付の図面によって、本発明を説明するものとする。

【００８２】

実施例

実施された実験及び達成された結果を含む以下の実施例は、例示の目的のために提供されているものに過ぎず、本発明を限定するものと解釈すべきでない。

【実施例１】

【００８３】

ＨＥＲ－３抗原及び細胞株の調製

本研究では、組換えＨＥＲ－３タンパク質を調製した。ＨＥＲ－３の配列（Ｇｅｎｅｂａｎｋ　ＡｃｃＮｒ．ＮＭ＿００１９８２）に基づくプライマーを用いて、ｐｃＤＮＡ３－ＨＥＲ－３（完全長ヒトＨＥＲ－３を有する発現ベクター、Ｃ．Ｗａｌｌａｓｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，　ＥＭＢＯ　Ｊ．１４，　４２６７－４２７５）からのポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）によって、ＨＥＲ－３の細胞外ドメイン（ＥＣＤ）ｃＤＮＡをクローニングした。

【００８４】

ＨＥＲ－３の増幅のために使用されたプライマーは、以下のとおりであった。

【００８５】

【化１】

フォワードプライマー：5’-CGGGATCCATGTCCTAGCCTAGGGGC-3’（配列番号：233）

【００８６】

【化２】

リバースプライマー：

5’-GCTCTAGATTAATGATGATGATGATGATGTTGTCCTAAACAGTCTTG-3’（配列番号：234）

【００８７】

ＢａｍＨ１及びＸｂａＩでＰＣＲ産物を消化し、ＢａｍＨＩ及びＸｂａＩで消化されたｐｃＤＮＡ３（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中に連結した。$CaPO_4$法を用いて、プラスミドをＨＥＫ２９３細胞中に形質移入した。Ｎｉ－ＮＴＡアフィニティークロマトグラフィーを用いて、採集された馴化培地からＨＥＲ－３－ＨＩＳ融合タンパク質を精製した。

【００８８】

レトロウイルス遺伝子転送によって、Ｒａｔ１ＨＥＲ－３細胞を作製した。要約すると、ＧＰ＋Ｅ８６細胞（3×10^5）を６０ｍｍ培養皿上に播種し、リン酸カルシウム法を用いて、２μｇ／ｍＬｐＩＸＳＮベクター又はｐＩＸＳＮ－ＨＥＲ－３ｃＤＮＡ（Ｃ．Ｗａｌｌａｓｃｈ，　ＰｈＤ　Ｔｈｅｓｉｓ，　Ｍａｘ－Ｐｌａｎｃｋ　Ｉｎｓｉｔｕｔｅ　ｏｆ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，　Ｍａｒｔｉｎｓｒｉｅｄ，　Ｇｅｒｍａｎｙ）を形質移入した。２４時間後、培地を新鮮な培地と交換し、ＧＰ＋Ｅ８６細胞を、４から８時間温置した。次いで、Ｐｏｌｙｂｒｅｎ（４ｍｇ／ｍＬ；Ａｌｄｒｉｃｈ）の存在下で、４から１２時間、高力価のｐＬＸＳＮ又はｐＬＸＳＮ－ＨＥＲ－３、ｐウイルス（$>1\times10^6$ Ｇ４１８ｃ．ｆ．ｕ．／ｍＬ；ｍ．ｏ．ｉ．１０）を放出するＧＰ＋Ｅ８６細胞の上清とともに、集密状態を下回るＲａｔ１細胞（2×10^5細胞／６ｃｍ皿）を温置した。培地を交換した後、Ｇ４１８でのＲａｔ１細胞の選択を開始した。通常、２１日間の選択後に、安定なクローンを摘み取った。

【実施例２】

【００８９】

ヒト癌細胞株中でのＨＥＲ－３発現

例えば，ＨＥＲ－３のような受容体チロシンキナーゼは、良性過形成細胞増殖から悪性癌腫への移行など、過剰増殖性疾患の開始及び進行において重大な役割を果たしている。腫瘍細胞と正常組織との間でＨＥＲ－３発現が異なるので、ＨＥＲ－３発現の分析は、本

発明の結合タンパク質での治療が有益である患者の亜群を同定するための重要な要因である。従って、ヒト癌形成におけるＨＥＲ－３の役割を解明するために、ヒト癌細胞株の集団において、ＨＥＲ－３発現を定量した。癌細胞株は、ＡＴＣＣによって推奨されているとおりに増殖させた。詳しく述べると、ＰＢＳ中の１０ｍＭＥＤＴＡを用いて10^5細胞を採集し、ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ、３％ＦＣＳ、０．４％アジ化物）で１回洗浄し、９６ウェルの丸底プレート上に播種した。上清を除去するために、１０００ｒｐｍで３分間、細胞を遠心し、次いで、α－ＨＥＲ－３抗体２Ｄ１Ｄ１２（ＷＯ０３０１３６０２）（３μｇ／ｍｌ）とともに再懸濁した。細胞懸濁液を氷上で１時間温置し、ＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、二次抗体（１００μＬ／ウェル）ロバ抗ヒトＰＥ（Ｊａｃｋｓｏｎ）によって再懸濁し、ＦＡＣＳ緩衝液中に１：５０希釈した。氷上及び暗所で、細胞懸濁液を３０分間温置し、ＦＡＣＳ緩衝液を用いて２回洗浄し、分析した（ＦＡＣＳ、Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ）。図１は、分析の代表的な結果を示しており、様々なヒト癌内で、ＨＥＲ－３が発現されていることを示している。

【実施例３】

【００９０】

免疫化及び力価測定

実施例１に記載されているとおりに調製されたＨＥＲ－３ＥＣＤタンパク質及びＣ３２細胞（ヒト悪性黒色腫；ＡＴＣＣ＃ＣＲＬ－１５８５）を抗原として使用した。ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ｒ）マウス（ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ｒ）系統：ＸＭＧ１及びＸＭＧ４、Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｉｎｃ．Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＣＡ）を順次免疫化することによって、ＨＥＲ－３に対するモノクローナル抗体を産生させた。全ての注射に関して、足蹠経路を介して、ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ｒ）動物を免疫した。各注射の総容量は、５０μＬ／マウス、２５μＬ／足蹠であった。

【００９１】

コホート番号１（１０匹のＸＭＧ１マウス）に関して、初期免疫化は、マウス当り、ＴＩＴＥＲＭＡＸ　ＧＯＬＤ（Ｒ）（Ｓｉｇｍａ，　Ｏａｋｖｉｌｌｅ，　ＯＮ）が１：１（ｖ／ｖ）で混合されたＨＥＲ－３ＥＣＤタンパク質１０μｇを用いて行った。その後の５回の強化免疫は、発熱物質を含まないＤ－ＰＢＳ中のａｌｕｍゲル１００μｇ（Ｓｉｇｍａ，Ｏａｋｖｉｌｌｅ，ＯＮ）と１：１（ｖ／ｖ）で混合されたＨＥＲ－３ＥＣＤタンパク質１０μｇを用いて行った。６回目の強化免疫は、ＴＩＴＥＲＭＡＸ　ＧＯＬＤ（Ｒ）と１：１（ｖ／ｖ）混合されたＨＥＲ－３ＥＣＤタンパク質１０μｇからなった。７回目の注射は、ａｌｕｍゲル１００μｇと１：１ｖ／ｖ混合されたＨＥＲ－３ＥＣＤタンパク質１０μｇからなった。最終強化免疫は、アジュバントなしの、無発熱物物質ＤＰＢＳ中のＨＥＲ－３ＥＣＤタンパク質１０μｇを用いて行った。このプロトコールに関しては、第０日、４日、７日、１１日、１５日、２０日、２４日及び２９日目にＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ｒ）マウスを免疫し、第３３日目に融合を行った。４回目の強化免疫後に１３日目に、６回目の強化免疫後に１９日目に、後眼窩採血操作を通じて、２回の採血を行った。コホート番号２は存在しなかった。

【００９２】

コホート番号３（１０匹のＸＭＧ１マウス）及びコホート番号４（１０匹のＸＭＧ４マウス）に関して、最初の注射は、マウス当り、ＴＩＴＥＲＭＡＸ　ＧＯＬＤ（Ｒ）が１：１（ｖ／ｖ）で混合された無発熱物質Ｄｕｌｂｅｃｃｏ’ｓＰＢＳ（ＤＰＢＳ）中の10^7個のＣ３２細胞を用いて行った。次の４つの強化免疫は、マウス当り、Ａｄｊｕ－Ｐｈｏｓ２５μｇ及び１０μｇＣｐＧと混合された無発熱物質ＤＰＢＳ中の10^7個のＣ３２細胞を用いて行った。６回目の強化免疫は、マウス当り、ＴＩＴＥＲＭＡＸ　ＧＯＬＤ（Ｒ）が１：１（ｖ／ｖ）で混合された無発熱物質ＤＰＢＳ中の10^7個のＣ３２細胞を用いて行った。７回目、８回目、９回目の強化免疫は、マウス当り、Ａｄｊｕ－Ｐｈｏｓ２５μｇ及びＣｐＧ１０μｇと混合された無発熱物質ＤＰＢＳ中の10^7個のＣ３２細胞を用いて行った。１０回目から１４回目の強化免疫は、マウス当り、Ａｄｊｕ－Ｐｈｏｓ２５μｇ及びＣｐＧ１０μｇと混合された無発熱物質ＤＰＢＳ中のＨＥＲ－３ＥＣＤタンパ

ク質５μｇであった。最終強化免疫は、アジュバントなしの、無発熱物物質ＤＰＢＳ中のＨＥＲ－３ＥＣＤタンパク質５μｇからなった。コホート番号３及び４の両方で、このプロトコールに対して第０日、３日、７日、１１日、１４日、１７日、２１日、２４日、２８日、３３日、３５日、３８日、４２日及び４５日目にＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ｒ）マウスを免疫し、第４９日目に融合を行った。４回目の強化免疫後１２日目に、６回目の強化免疫後１９日目に、及び１２回目の強化免疫後４０日目に、後眼窩採血操作を通じて、３回の採血を行った。

【００９３】

力価による、採集のための動物の選択

コホート番号１に関しては、免疫されたＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ｒ）マウスから得た血清中の抗ＨＥＲ－３抗体力価は、ＨＥＲ－３ＥＣＤタンパク質に対するＥＬＩＳＡによって測定した。各ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ｒ）動物の特異的力価は、６５０ｎｍでの光学密度から測定され、下表１に示されている。力価の値は、血清の最大希釈の逆数であり、ＯＤの読み取りは、バックグラウンドの２倍である。従って、数値が高くなるほど、ＨＥＲ－３ＥＣＤに対する液性免疫応答は大きかった。

【００９４】

【表１】

表１

コホート番号１、XMG1

マウス番号	4回注射後	６回注射後
P3421	8,000	11,000
P3422	850	2,600
P3423	2,700	5,200
P3424	3,200	9,100
P3425	5,400	2,500
P3426	700	1,500
P3427	5,800	7,000
P3428	3,900	4,300
P3429	2,200	2,500
P34210	600	850
NC	250	175
PC	377,000	311,000
NC	mAb IL-8, D39.2.1	
PC	xHER-3-2D1D12	

【００９５】

コホート番号３及び４に関しては、免疫されたＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ｒ）マウスから得た血清中の抗ＨＥＲ－３抗体力価は、Ｒａｔ１／ＨＥＲ－３細胞（抗原陽性細胞株）細胞及びＲａｔ１／ｐＬＳＸＮ細胞（抗原陰性細胞株）を用いたＦＡＣＳによって測定した。データは、血清試料の系列希釈による、細胞抗ＨＥＲ－３細胞染色の幾何平均（ＧｅｏＭｅａｎ）蛍光強度として表されている。

【００９６】

【表２】

表２

コホート番号３、XMG1

マウス番号	試料の希釈	６回注射後		１２回注射後	
		陽性細胞 幾何平均	陰性細胞 幾何平均	陽性細胞 幾何平均	陰性細胞 幾何平均
Q832-1	1:50	9	10	11	10
	1:250	6	9	6	6
	1:1250	6	7	4	4
Q832-2	1:50	8	10	29	42
	1:250	7	8	11	11
	1:1250	5	6	6	5
Q832-3	1:50	7	12	11	9
	1:250	5	7	5	5
	1:1250	5	5	4	4
Q832-4	1:50	6	10	9	9
	1:250	6	6	5	5
	1:1250	5	5	4	4
Q832-5	1:50	11	11	17	13
	1:250	10	9	7	6
	1:1250	6	8	5	4
Q832-6	1:50	7	11	15	14
	1:250	7	7	7	6
	1:1250	5	6	6	4
Q832-7	1:50	8	11	7	15
	1:250	6	7	5	5
	1:1250	5	5	4	4
Q832-8	1:50	7	8	11	20
	1:250	6	6	7	8
	1:1250	5	5	5	4
Q832-9	1:50	7	12	15	16
	1:250	6	8	6	5
	1:1250	6	6	4	4
Q832-10	1:50	8	13	34	38
	1:250	6	8	9	8
	1:1250	6	6	5	4

【００９７】

【表３】

表３

コホート番号４、XMG4

マウス番号	試料の希釈	６回注射後		１２回注射後	
		陽性細胞幾何平均	陰性細胞幾何平均	陽性細胞幾何平均	陰性細胞幾何平均
Q856-1	1:50	4	6	91	44
	1:250	4	5	32	18
	1:1250	4	4	19	10
Q856-2	1:50	4	8	148	54
	1:250	4	5	89	23
	1:1250	4	4	42	9
Q856-3	1:50	4	5	72	14
	1:250	4	4	28	6
	1:1250	4	4	18	4
Q856-4	1:50	4	5	11	49
	1:250	4	5	10	17
	1:1250	4	4	8	7
Q856-5	1:50	4	4	74	20
	1:250	4	4	30	14
	1:1250	4	4	16	6
Q856-6	1:50	4	5	86	21
	1:250	4	4	32	10
	1:1250	4	4	16	5
Q856-7	1:50	5	6	74	32
	1:250	4	5	32	14
	1:1250	4	4	16	6
Q856-8	1:50	4	5	106	14
	1:250	4	4	45	6
	1:1250	4	4	22	4
Q856-9	1:50	5	6	53	22
	1:250	4	4	17	11
	1:1250	4	4	11	5
Q856-10	1:50	4	5	72	53
	1:250	4	4	26	17
	1:1250	4	4	15	7

【実施例４】

【００９８】

リンパ球の回収、Ｂ細胞の単離、融合及びハイブリドーマの作製

免疫されたマウスを屠殺し、各コホートからリンパ節を採集し、プールした。ＤＭＥＭ中で磨り潰すことによってリンパ球系細胞を解離させて、組織から細胞を放出させ、細胞をＤＭＥＭ中に懸濁した。細胞を計数し、０．９ｍＬＤＭＥＭ／１億リンパ球を細胞ペレットに添加して、穏やかに、但し、完全に、細胞を再懸濁した。１億細胞当りＣＤ９０＋磁気ビーズ１００μＬを用いて、４℃で１５分間、磁気ビーズとともに細胞を温置することによって、細胞を標識した。最大10^8個の陽性細胞（又は最大2×10^9個の全細胞

）を含有する磁気標識された細胞懸濁液をＬＳ＋カラムにかけ、ＤＭＥＭでカラムを洗浄した。全ての流出物を、ＣＤ９０陰性画分として集めた（これらの細胞の多くは、Ｂ細胞であると予想された。）。

【００９９】

上で得た、洗浄され、濃縮されたＢ細胞と、ＡＴＣＣ（Ｃａｔ．Ｎｏ．ＣＲＬ１５８０）から購入された非分泌性骨髄腫Ｐ３Ｘ６３Ａｇ８．６５３細胞（Ｋｅａｒｎｅｙ ｅｔ ａｌ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１２３，１９７９，１５４８－１５５０）とを、１：１の比で混合することによって、融合を実施した。８００ｇでの遠心によって、細胞混合物を穏やかに沈降させた。上清を完全に除去した後、最長２分間、プロナーゼ溶液２から４ｍＬ（ＣａｌＢｉｏｃｈｅｍ、カタログ番号５３７０２；ＰＢＳ中０．５ｍｇ／ｍｌ）で細胞を処理した。次いで、酵素活性を停止させるために、ＦＢＳ３から５ｍＬを添加し、電気的細胞融合溶液ＥＣＦＳ（０．３Ｍショ糖、Ｓｉｇｍａ、カタログ番号Ｓ７９０３、０．１ｍＭ酢酸マグネシウム、Ｓｉｇｍａ、カタログ番号Ｍ２５４５、０．１ｍＭ酢酸カルシウム、Ｓｉｇｍａ、カタログ番号Ｃ４７０５）を用いて、４０ｍＬの総容積になるように懸濁液を調整した。遠心後、上清を除去し、４０ｍＬＥＣＦＳ中に細胞を再懸濁した。この洗浄工程を反復し、２×１０^{6}細胞／ｍＬの濃度になるように、再度、ＥＣＦＳ中に細胞を再懸濁した。

【０１００】

融合生成装置モデルＥＣＭ２００１、Ｇｅｎｅｔｒｏｎｉｃ，Ｉｎｃ．，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡを用いて、電気的細胞融合を行った。使用した融合チャンバーのサイズは２．０ｍＬであり、以下の機器設定を用いた。並列条件：電圧：５０Ｖ、時間：５０秒、膜破壊電圧：３０００Ｖ、時間：３０μ秒、融合後保持時間：３秒。

【０１０１】

ＥＣＦ後、無菌条件下で、融合チャンバーから細胞懸濁液を慎重に取り出し、Ｌグルタミン、ペニシリン／ストレプトマイシン、ＯＰＩ（オキサロアセタート、ピルバート、ウシインシュリン）（全てＳｉｇｍａから入手）及びＩＬ－６（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ Ｍａｎｎｈｅｉｍ）が補充された、Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｕｍ（ＤＭＥＭ（ＪＲＨ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、１５％ＦＢＳ（Ｈｙｃｌｏｎｅ）の同じ容量を含有する無菌チューブ中に移した。３７℃で１５から３０分間、細胞を温置し、次いで、４００ｇで５分間遠心した。Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ Ｍｅｄｉｕｍ（０．５×ＨＡが補充されたＨｙｂｒｉｄｏｍａ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｕｍ（Ｓｉｇｍａ、カタログ番号Ａ９６６６））の小容量中に、細胞を穏やかに再懸濁し、計５×１０^{6}個Ｂ細胞／９６ウェルプレート及び２００μＬ／ウェルの最終播種を基礎として、さらなるＨｙｂｒｉｄｏｍａ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ Ｍｅｄｉｕｍを用いて、容量を適切に調整した。細胞を穏やかに混合し、９６ウェルプレート中にピペットで添加し、増殖させた。第７日又は１０日目に、培地の半分を除去し、細胞にＨｙｂｒｉｄｏｍａ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ Ｍｅｄｉｕｍを再度与えた。

【実施例５】

【０１０２】

ＥＬＩＳＡによる候補抗体の選択

培養から１４日後に、精製されたｈｉｓタグ化ＨＥＲ－３ＥＣＤを用いたＥＬＩＳＡによって、ＨＥＲ－３特異的抗体に対して、コホート番号１（コホート１のマウスを、任意に融合番号１及び２に分割した。）から得られたハイブリドーマ上清の一次スクリーニングを行い、ＥＬＩＳＡプレート上に固定化されたＨＥＲ－３ＥＣＤへのヒトＩｇＧ結合を検出するために、ヤギ抗ｈｕＩｇＧＦｃ－ＨＲＰ（Ｃａｌｔａｇ Ｉｎｃ．，Ｃａｔ．Ｎｏ．Ｈ１０５０７、使用した濃度は、１：２０００希釈であった。）を用いたＥＬＩＳＡによって、無関係なｈｉｓタグ化タンパク質に対するカウンタースクリーニングを行った。一次スクリーニングに基づく陽性ハイブリドーマ細胞増殖ウェルから得た古い培養上清を取り除き、新鮮なハイブリドーマ培地を用いて、ＨＥＲ－３陽性ハイブリドーマ細胞を懸濁し、２４ウェルプレートに移した。培養から２日後には、これらの上清は、二次的

確認スクリーニングを行える状態であった。ＨＥＲ－３特異的完全ヒトＩｇＧκ抗体に対する二次的確認スクリーニングでは、ヒトγ鎖検出のためのヤギ抗ｈｕＩｇＧＦｃ－ＨＲＰ（Ｃａｌｔａｇ　Ｉｎｃ．，Ｃａｔ．Ｎｏ．Ｈ１０５０７、使用した濃度は、１：２０００希釈であった。）及びヒトκ軽鎖検出のためのヤギ抗ｈＩｇκ－ＨＲＰ（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、カタログ番号２０６０－０５）という検出用抗体の２つの組を用いたＥＬＩＳＡによって、第一のスクリーニングにおいて陽性であったものをスクリーニングした。コホート番号１から生成された９１の完全ヒトＩｇＧ／κＨＥＲ－３特異的モノクローナル抗体が存在した。

【実施例６】

【０１０３】

ＦＭＡＴ／ＦＡＣＳによる候補抗体の選択

培養から１４日後に、コホート番号３及び番号４から得られたハイブリドーマ上清（融合番号３及び番号４）を、ＦＭＡＴによって、ＨＥＲ－３－特異的モノクローナル抗体に関してスクリーニングした。一次スクリーニングにおいて、１：１０最終希釈のハイブリドーマ上清を、ヒトＨＥＲ－３を発現するＲａｔ１－Ｈｅｒ３細胞及びＣｙ５連結されたヤギＦ（ａｂ’）$_2$抗ヒトＩｇＧ、Ｆｃ特異的抗体４００ｎｇ／ｍＬ（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ，カタログ番号１０９－１７６－０９８）とともに、室温で６時間温置した。細胞への抗体及び検出抗体複合体の結合を、ＦＭＡＴ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）によって測定した。細胞への抗体の非特異的結合は、親Ｒａｔ１細胞への抗体の結合によって測定した。融合物３の一次スクリーニングから、ＨＥＲ－３－特異的抗体を産生する計４２０のハイブリドーマを選択した。同じＦＭＡＴプロトコールを用いて、これらの拡張された培養物からの上清を再度検査し、これらのうちの２６２が、ＨＥＲ－３発現細胞へ特異的に結合することが確認された。融合物４の一次スクリーニングから、ＨＥＲ－３－特異的抗体を産生する計１９３のハイブリドーマを選択した。ＦＡＣＳによって、これらの拡張された培養物からの上清物を検査し、これらのうちの１３８が、ＨＥＲ－３発現細胞へ特異的に結合することを確認した。ＦＡＣＳ確認アッセイでは、２％ＦＢＳを含有するＰＢＳ中において、１：２希釈で、１時間、４０℃で、ハイブリドーマ上清とともに、Ｒａｔ１－Ｘｈｅｒ３細胞と親Ｒａｔ１細胞（陰性対照として）を温置した。ＰＢＳでの洗浄後、２．５μｇ／ｍＬＣｙ５連結されたヤギＦ（ａｂ’）$_2$抗ヒトＩｇＧ、Ｆｃ特異抗体（ＪＩＲ＃１０９－１７６－０９８）及び５μｇ／ｍＬＰＥ連結されたヤギＦ（ａｂ’）$_2$抗ヒトκ特異抗体（ＳＢ＃２０６３－０９）によって、細胞への抗体の結合を検出した。ＰＢＳでの洗浄によって、非結合抗体を除去した後、１：４の希釈で、ｃｙｔｏｆｉｘ（ＢＤ＃５１－２０９０ＫＺ）によって、細胞を固定し、ＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒによって分析した。

【実施例７】

【０１０４】

クローニングのためのハイブリドーマの選択

例えば、Ｒ＆ＤＢｉｏｓｙｓｔｅｍｓから入手可能な精製された組換え細胞外ドメインを用いたＥＬＩＳＡにおける、ＨＥＲ１（ＥＧＦＲ）、ＨＥＲ－２及びＨＥＲ－４を上回るＨＥＲ－３に対する特異性並びに異なるＨＥＲファミリーのメンバーを発現するヒト腫瘍細胞株のＦＡＣＳベースの分析並びにバックグラウンドを上回るＨＥＲ－３陽性細胞に対するＦＡＣＳ染色での平均蛍光強度の５倍超の増加に基づいて、ハイブリドーマクローニングのために、コホート１及び２から得た抗体を選択した。これらの基準に基づいて、限界希釈細胞播種によって、計２３のハイブリドーマ株をクローニングのために選択した。

【０１０５】

ＨＥＲ－１（ＥＧＦＲ）、ＨＥＲ－２及びＨＥＲ－４を上回るＨＥＲ－３に対する特異性に加え、他の３つの基準に基づいて、ハイブリドーマクローニングのために、コホート３及び４から得た抗体を選択した。第一の基準は、ＨＥＲ－３のＬ２ドメイン内に含有されたエピトープを有する抗体に対するＥＬＩＳＡスクリーニングであった（実施例「本発

明における抗ＨＥＲ－３抗体の構造分析」を参照。）。

【０１０６】

第二の基準は、ＦＡＣＳベースのアッセイにおける、ＨＥＲ－３発現細胞へのビオチン化されたヘレグリンαの結合の中和であった。ＳＫＢＲ－３細胞を採集し、培地中で洗浄し、遠心によって沈降させ、培地中に再懸濁した。再懸濁された細胞を、９６ウェルプレート中に分取した。細胞を沈降させるために、プレートを遠心した。排出ハイブリドーマ上清中の試験抗体を、２５μＬ／ウェルで添加し、抗体を結合させるために、氷上で１時間温置した。１０ｎＭヘレグリンα（Ｒ＆Ｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ， Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ， ＭＮ）溶液５０μＬを、５ｎＭの最終濃度となるように、各ウェルに添加し、氷上で１．５時間温置した。１５０μＬＰＢＳ中で細胞を洗浄し、遠心によって沈降させ、上清を除去した。１０μｇ／ｍＬで、ヤギ抗ＨＲＧαポリクローナル抗体５０μＬ中に細胞を再懸濁し、４５分間、氷上で温置した。ＰＢＳ２００μＬ中で細胞を洗浄し、遠心によって沈降させ、上清を除去した。１０μｇ／ｍＬの７ＡＡＤを加えた５μｇ／ｍＬのＣｙ５標識されたウサギ抗ヤギポリクローナル抗体の溶液５０μＬを添加し、１５分間、氷上で温置した。ＰＢＳ２００μＬ中で細胞を洗浄し、遠心によって沈降させ、上清を除去した。ＦＡＣＳ緩衝液１００μＬ中に細胞を再懸濁し、ＦＡＣＳ中で読み取った。ヘレグリンαの結合を低下させた試験ＨＥＲ－３抗体は、最も低い蛍光強度を有するものであった。陽性対照として、マウスＨＥＲ－３ｍＡｂ（１０５．５）又はヒトＩｇＧ１ＨＥＲ－３ｍＡＢ、Ｕ１－４９の１０，０００ｎｇ／ｍＬから１６ｎｇ／ｍＬまでの１：５系列希釈を使用した。陰性対照は、ヘレルギンαのみ、細胞のみ、ヤギ抗ヘレグリンαポリクローナル抗体のみ及びＣｙ５標識されたウサギ抗ヤギポリクローナル抗体のみであった。

【０１０７】

第三の基準は、ＨＥＲ－３発現細胞株を用いたＦＡＣＳにおける、親和性に対する相対順位付け及び／又はより高い相対平均蛍光強度であった。親和性に対する相対順位付けは、ＨＥＲ－３特異的抗体濃度を標準化し、以下のように、限界抗原ＥＬＩＳＡから得られたデータに対してプロットすることによって行った。

【０１０８】

高抗原ＥＬＩＳＡを用いた抗原特異的抗体濃度の標準化

ＥＬＩＳＡ法を用いて、抗原特異的抗体の濃度に対して上清を標準化した。平行して滴定された濃度既知のコホート１から得られた２つの抗ＨＥＲ－３ヒトＩｇＧ１抗体を用いて、標準曲線を作成し、コホート３及び４から得られた試験ハイブリドーマ上清中の抗原特異的抗体の量を標準と比較した。このようにして、各ハイブリドーマ培養中のヒトＨＥＲ３ＩｇＧ抗体の濃度を推定した。

【０１０９】

４℃で一晩温置しながら、５０μＬ／ウェルで、Ｃｏｓｔａｒ３３６８培地結合プレート上に、１×ＰＢＳ／０．０５％アジ化ナトリウム中の８μｇ／ｍＬでニュートラビジンをコートすることによって、ニュートラビジンプレートを作製した。翌日、１×ＰＢＳ／１％スキムミルクでプレートをブロックした。１×ＰＢＳ／１％スキムミルク中の５００ｎｇ／ｍＬの光ビオチン化されたｈｉｓタグ化ＨＥＲ－３ＥＣＤを、室温で１時間温置することによって、ニュートラビジンプレートに結合させた。１×ＰＢＳ／１％スキムミルク／０．０５％アジ化物中に、１：３１の出発希釈から１：７５６８の最終希釈まで、１：２．５系列希釈されたハイブリドーマ上清を、５０μＬ／ウェルで添加し、次いで、室温で２０時間温置した。未知の各々に対するＯＤの読み取りが確実にアッセイの直線域内に得られるようにするために、系列希釈を使用した。次に、二次検出抗体である、１×ＰＢＸ／１％スキムミルク中の４００ｎｇ／ｍＬのヤギ抗ヒトＩｇＧＦｃＨＲＰを、５０μＬ／ウェルで添加した。室温で１時間後、再度、プレートを水で５回洗浄し、一成分ＴＭＢ基質５０μＬを各ウェルに添加した。各ウェルに１Ｍ塩酸５０μＬを添加することによって、３０分後に反応を停止させ、４５０ｎｍの波長でプレートを読み取った。１０００ｎｇ／ｍＬから０．０６ｎｇ／ｍＬまで１：２で系列希釈された、コホート１から得られ

た２つのＩｇＧ１ＨＥＲ－３ｍＡｂから標準曲線を作成し、上記プロトコールを用いてＥＬＩＳＡ中で評価を行った。未知の各々に関しては、各試料中のヒトＨＥＲ－３ＩｇＧの濃度を推定するために、アッセイの直線域中のＯＤの読み取りを使用した。

【０１１０】

限定された抗原分析は、他の全ての抗原特異的抗体との比較において、Ｂ細胞培養上清中に調製された抗原特異的抗体の親和性を順位付けする方法である。抗原の極めて少量のコーティングの存在下では、最高の親和性の抗体のみが、平衡状態で、何れかの検出可能なレベルまで結合できるはずである。（例えば、２００３年６月１２日に公開された「ＩＤＥＮＴＩＦＩＣＡＴＩＯＮ　ＯＦ　ＨＩＧＨ　ＡＦＦＩＮＩＴＹ　ＭＯＬＥＣＵＬＥＳ　ＢＹ　ＬＩＭＩＴＥＤ　ＤＩＬＵＴＩＯＮ　ＳＣＲＥＥＮＩＮＧ」と題されたＰＣＴ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　ＷＯ／０３０４８７３０Ａ２を参照されたい。）。この例では、コホート１から得られた２つのｍＡｂ（何れも、濃度既知及びＫＤ既知）を、アッセイにおける基準として使用した。

【０１１１】

４℃で一晩温置しながら、５０μＬ／ウェルで、Ｃｏｓｔａｒ３３６８培地結合プレート上に、１×ＰＢＳ／０．０５％アジ化ナトリウム中の８μｇ／ｍＬのニュートラビジンをコートすることによって、ニュートラビジンプレートを作製した。翌日、１×ＰＢＳ／１％スキムミルクで、プレートをブロックした。室温で１時間、１×ＰＢＳ／１％スキムミルク中、１２５、６２．５、３１．２、１５．６及び７．８ｎｇ／ｍＬという５つの濃度で、ビオチン化されたｈｉｓタグ化ＨＥＲ－３ＥＣＤ（５０μＬ／ウェル）を９６ウェルニュートラビジンプレートに結合させた。各プレートを水で５回洗浄した。１×ＰＢＳ／１％スキムミルク／０．０５％アジ化物中に１：３１希釈されたハイブリドーマ上清を、５０μＬウェルで添加した。震盪器上、室温での２０時間の温置後、ｄＨ$_2$Ｏで５回、プレートを再度洗浄した。次に、二次検出抗体である、１×ＰＢＳ／１％スキムミルク中の４００ｎｇ／ｍＬのヤギ抗ヒトＩｇＧＦｃＨＲＰ（西洋ワサビペルオキシダーゼ）を５０μＬ／ウェルで添加した。室温で１時間後、ｄＨ$_2$Ｏで、プレートを再度５回洗浄し、一成分ＴＭＢ基質５０μＬを各ウェルに添加した。各ウェルに１Ｍ塩酸５０μＬを添加することによって、３０分後に反応を停止させ、４５０ｎｍの波長でプレートを読み取った。直線域内にＯＤ値を与える抗原濃度から得られるＯＤ読み取りを、データ解析のために使用した。

【０１１２】

特異的抗体濃度を比較的推定する（詳細については、上記参照）高抗原データを、限定された抗原ＯＤに対してプロットすることによって、比較的より高い親和性抗体（例えば、結合された抗体が、限定された抗原アッセイでは、より高いＯＤを有したが、上清中にＩｇＧＨＥＲ－３抗体のより低い量を有する。）を示した。

【０１１３】

アッセイのこれらの組において最も成績の優れていた３３個の抗体に対するコホート３及び４から得たハイブリドーマは、限界希釈ハイブリドーマ播種によるクローニングに進んだ。

【０１１４】

あるいは、Ｒａｔ１／ｐＬＸＳＮ及びＲａｔ１／ＨＥＲ－３細胞のＨＥＲ－３発現のＦＡＣＳ分析は、類似の結果を示した（内在性ラットエピトープとの交叉反応性なし）（図２）。

【０１１５】

詳しく述べると、ＰＢＳ中の１０ｍＭＥＤＴＡを用いて１×１０^{5}細胞を採集し、ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ、３％ＦＣＳ、０．４％アジ化物）で１回洗浄し、９６ウェルの丸底プレート上に播種した。上清を除去するために、１０００ｒｐｍで３分間、細胞を遠心し、次いで、特異的なＨＥＲファミリー抗体（３μｇ／ｍｌ）とともに再懸濁した。細胞懸濁液を氷上で４５分間温置し、ＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、二次抗体（１００μＬ／ウェル）ロバ抗ヒトＰＥ（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ，ＰＡ）ととも

に再懸濁し、ＦＡＣＳ緩衝液中に１：５０希釈した。氷上及び暗所で、細胞懸濁液を３０分間温置し、ＦＡＣＳ緩衝液を用いて２回洗浄し、分析した（ＦＡＣＳ、Ｂｅｃｋｍａｎ Ｃｏｕｌｔｅｒ）。

【実施例８】

【０１１６】

本発明の抗ＨＥＲ－３抗体の構造的分析

以下の論述では、本発明に従って調製された抗体に関する構造情報が提供される。本発明に従って作製された抗体の構造を分析するために、特定のハイブリドーマから、重鎖及び軽鎖断片をコードする遺伝子を増幅した。配列決定は、以下のように行った。

【０１１７】

逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（ＲＴ－ＰＣＲ）を用いて、９６ウェルプレート中の各ハイブリドーマクローンから、ＶＨ及びＶＬ転写物を増幅した。Ｆａｓｔ－Ｔｒａｃｋキット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を用いて、約２×１０^{5}個のハイブリドーマ細胞からポリ（Ａ）＋ｍＲＮＡを単離した。各ハイブリドーマに対して、４つのＰＣＲ反応（軽鎖（κ（Ｋ）に対して２つ、及びγ重鎖（γ）に対して２つ）を実施した。増幅のために、ＱＩＡＧＥＮＯｎｅＳｔｅｐ室温ＰＣＲキット（Ｑｉａｇｅｎ、カタログ番号２１０２１２）を使用した。連結された室温ＰＣＲ反応では、Ｃκ又はＣγ遺伝子のＣＨ１領域のコンセンサスに対応するアンチセンス配列特異的プライマーを使用し、室温酵素（Ｏｍｎｉｓｃｒｉｐｔ及びＳｅｎｓｉｓｃｒｉｐｔ）の混合物を用いてｃＤＮＡを合成した。５０℃で１時間、逆転写を実施した後、高い特異性及び感受性のために、ＨｏｔＳｔａｒＴａｑ ＤＮＡ ＰｏｌｙｍｅｒａｓｅによるｃＤＮＡのＰＣＲ増幅を行った。各ＰＣＲ反応は、５’センスプライマーの混合物を使用した。プライマー配列は、Ｖｂａｓｅウェブサイト（ｈｔｔｐ：／／ｖｂａｓｅ．ｍｒｃ－ｃｐｅ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／）で入手可能なＶＨ及びＶＫのリーダー配列に基づいた。

【０１１８】

９４℃で１５分間の初期ホットスタートでＰＣＲ反応を実行した後、９４℃３０秒間（変性）、６０℃３０秒間（アニーリング）及び７２℃１分間（伸長）の４０サイクルを行った。

【０１１９】

ＰＣＲ産物を精製し、ＡＢＩ ＰＲＩＳＭ ＢｉｇＤｙｅ ｔｅｒｍｉｎａｔｏｒ ｃｙｃｌｅ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｒｅａｄｙ ｒｅａｃｔｉｏｎ Ｋｉｔ（Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ）を使用し、フォワード及びリバースＰＣＲプライマーを用いて配列を直接決定した。Ｐｒｉｓｍ色素終結因子配列決定キット及びＡＢＩ３７７配列決定機を用いて、両鎖を配列決定した。

【０１２０】

配列分析

ＨＥＲ３抗体のヒトＶ重及びＶκｃＤＮＡ配列の分析は、Ａｂｇｅｎｉｘ社内ソフトウェア（５ＡＳ）を用いて、ヒト生殖系列Ｖ重及びＶκ配列とＨＥＲ－３配列を並置することによって行った。本ソフトウェアによって、Ｖ遺伝子、Ｄ遺伝子及びＪ遺伝子並びに組換え連結におけるヌクレオチド挿入及び体細胞変異の使用が同定された。体細胞変異を同定するために、アミノ酸配列もコンピュータシミュレーションで作製された。市販の配列分析ソフトウェア並びにヒトＶ、Ｄ及びＪ遺伝子の配列に関する公表された情報、例えばＶｂａｓｅ（ｈｔｔｐ：／／ｖｂａｓｅ．ｍｒｃ－ｃｐｅ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／）を用いて、同様の結果を得ることが可能である。

【０１２１】

ｍＡｂＵ１－５９の分子クローニング

抗体Ｕ１－５９を分泌するハイブリドーマ系列など、複数のハイブリドーマ系列を含有する組織培養ウェルから全ＲＮＡを抽出した。３’－Ｃ－γプライマーとともに、５’－リーダーＶＨファミリー特異的プライマーを用いて、重鎖可変領域を増幅した。ＶＨ４プライマーを用いて、大きなバンドが増幅され、他のバンドは見られなかった。ヒトγ１定

常領域遺伝子とインフレームになるように、ｐＣＤＮＡ発現ベクター中にＶＨ４－３４γ断片をクローニングした。

【０１２２】

３’μ定常領域プライマーとともに５’ＶＨファミリー特異的プライマーを用いて、ＩｇＭ重鎖可変領域を増幅した。ＶＨ２プライマーを用いて、主要なバンドが増幅され、他のバンドは見られなかった。ヒトμ定常領域遺伝子とインフレームになるように、ｐＣＤＮＡ発現ベクター中にＶＨ２－５μ断片をクローニングした。Ｖκ鎖を増幅し、配列を決定した。４つのκ鎖ＲＴ－ＰＣＲ産物が同定された。産物を配列決定し、コンピュータシミュレーションでの翻訳を介した配列分析後に、産物の３つが読み取り枠を有するに過ぎなかった。（１）ＶＫ１Ａ３－ＪＫ２、（２）ＶＫ１Ａ２０－ＪＫ３及び（３）Ｂ３－ＪＫ１としてのＶκ遺伝子の使用に基づいて明確に同定されたオリゴクローン性Ｕ１－５９ハイブリドーマから、これらの３つの機能的κ鎖をクローニングした。ヒトκ軽鎖定常領域遺伝子とインフレームになるように、ｐＣＤＮＡ発現ベクター中に全てのＶκをクローニングした。

【０１２３】

形質移入：

計６つの重鎖／κ軽鎖対に関して、一過性形質移入において、κ鎖の各々とともに、各重鎖を形質移入した。Ａ２０κ鎖とのγ鎖の形質移入は、乏しい抗体発現を与えたのに対して、Ａ２０κ鎖がμ鎖とともに同時形質移入された場合には、抗体は全く分泌又は検出されなかった。ＨＥＲ－３結合アッセイのために、計３つのＩｇＧｓｕｐ及び２つのＩｇＭｓｕｐが利用可能であった。

【０１２４】

【表４】

鎖	VH	D	J	定常	ORF
重	VH4-34	D1-20	JH2	γ	あり
重	VH2-5	D6-6	JH4b	μ	あり
軽	A3		JK2	κ	あり
軽	A20		JK3	κ	あり
軽	B3		JK1	κ	あり
軽	A27		JK3	κ	なし

【０１２５】

ＶＨ４－３４及びＢ３κ鎖からなるＩｇＧ１ｍＡｂを用いたＦＡＣＳにおいて、ＨＥＲ－３＋細胞株への結合活性が検出された。他のＶＨ／Ｖκの組み合わせは、ＨＥＲ－３＋細胞株を用いたＦＡＣＳにおいて、バックグラウンドを上回る蛍光シグナルを与えなかった。

【０１２６】

抗ＨＥＲ－３抗体の結合競合

ＨＥＲ－３への結合に関して競合するＨＥＲ－３抗体のクラスターを評価するために、「Ｊｉａ ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ．２８８，９１－９８（２００４）」に公表されているように、多重化された競合抗体ビニング（ｂｉｎｎｉｎｇ）を行った。コホート１由来の検査されたＨＥＲ－３抗体は、結合に対する競合に基づいて、５つのビンにクラスター化された。

【０１２７】

【表５】

ビン番号１	ビン番号２	ビン番号３	ビン番号４	ビン番号５
U1-42	U1-48	U1-52	U1-38	U1-45
U1-44	U1-50		U1-39	U1-40
U1-62	U1-51			U1-41
U1-46				U1-43
U1-47	U1-49			U1-61
U1-58				U1-53
				U1-55

【０１２８】

抗ＨＥＲ－３抗体のエピトープ性質決定

本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体のエピトープを性質決定した。まず、還元され、変性され、ＨＥＲ－３－Ｈｉｓタグ化され、精製されたＥＣＤタンパク質のドットブロット分析が、検査された抗ＨＥＲ－３抗体（Ｕ１－５９、Ｕ１－６１、Ｕ１－４１、Ｕ１－４６、Ｕ１－５３、Ｕ１－４３、Ｕ１－４４、Ｕ１－４７、Ｕ１－５２、Ｕ１－４０、Ｕ１－４９）による結合の不存在を示し、全てがジスルフィド結合の還元に対して感受性を有するエピトープを有することが実証され、全てが不連続なエピトープを有することが示唆された。次に、ＨＥＲ－３細胞外ドメインの以下の４つのドメインへの分割に基づいて、様々なヒト－ラットＨＥＲ３キメラ分子を加工することによって、ＨＥＲ－３分子中の所定のドメインに抗体をマッピングした。

【０１２９】

１）Ｌ１（Ｄ１）：非主要リガンド結合ドメイン、
２）Ｓ１（Ｄ２）：第一のシステインリッチドメイン、
３）Ｌ２（Ｄ３）：主要リガンド結合ドメイン、及び
４）Ｓ２（Ｄ４）：第二のシステインリッチドメイン。

【０１３０】

ＲＡＴ１－ＨＥＲ－３細胞から、ヒトＨＥｒ－３ｃＤＮＡの細胞外ドメイン（ＥＣＲ）を増幅した。ラット肝臓ＲＮＡからのＲＴ－ＰＣＲによってラットＨＥＲ－３ｃＤＮＡを増幅し、配列決定によって確認した。ヒト及びラットＨｅｒ３のＥＣＤを発現するｃＤＮＡを、Ｖ５－Ｈｉｓ融合タンパク質として、哺乳動物発現ベクター中にクローニングした。ヒトＨＥＲ－３ＥＣＤから得られるドメインを、Ｍｆｅ１、Ｂｓｔｘ１及びＤｒａＩＩＩ内部制限部位を使用することによって、ラットＨＥＲ－３ＥＣＤによって付与された足場中に取り替えた。この手段によって、様々なキメララット／ヒトＨＥＲ－３ＥＣＤＨＩＳ融合タンパク質（アミノ酸１から１６０、１６１から３５８，３５９から５７５、１から３５８、３５９から６０４）を構築し、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞の一過性形質移入を介して発現させた。ヒトＨＥＲ－３に対するラットポリクローナル抗体を用いて、構築物の発現を確認した。分泌されたキメラＥＣＤへの結合に関して、ヒトモノクローナル抗体をＥＬＩＳＡにおいて検査した。

【０１３１】

抗体Ｕ１－５９を含むヒト抗体の２つが、ラットＨＥＲ－３と交叉反応した。結合ドメインを割り当てるために、ＨＥＲ３のＬ１－Ｓ１細胞外ドメインの発現をコードするプラスミドＤＮＡが形質移入されたＨＥＫ２９３Ｔ細胞の上清から精製されたＬ１－Ｓ１－Ｖ５ｈｉｓタグ化タンパク質からなるＨＥＲ－３の末端切断形態に対して、これらのｍＡｂを検査した。ｍＡｂＵ１－５９は、ＥＬＩＳＡ中のＬ１－Ｓ１タンパク質に結合したので、そのエピトープがＬ１－Ｓ１中に存在することが示唆される。ｍＡｂ２．５．１は、Ｌ１－Ｓ１タンパク質に結合しなかったので、そのエピトープがＬ２－Ｓ２中に存在することが示唆される。ｍＡｂ－ＨＥＲ－３ＥＣＤ複合体のチップ上タンパク質分解消化物とともに、飛行質量分析法のＳＥＬＤＩ時間を用いて、抗体Ｕ１－５９のさらなるマッピング

を行った。

【０１３２】

ＳＥＬＤＩを用いたＵ１－５９のマッピング

ｍＡｂ－ＨＥＲ－３ＥＣＤ複合体のチップ上タンパク質分解消化物とともに、飛行質量分析法のＳＥＬＤＩ時間を用いて、抗体Ｕ１－５９のさらなるマッピングを行った。ＰＳ２０タンパク質チップアレイに、プロテインＡを共有結合させ、ｍＡｂＵ１－５９を捕捉するために使用した。次いで、ＨＥＲ－３－Ｈｉｓ精製抗原とともに、ＰＳ２０タンパク質チップとモノクローナル抗体の複合体を温置した。次に、Ａｓｐ－Ｎの高濃度を用いて、抗体抗原複合体を消化した。チップを洗浄すると、チップ上の抗体に結合されたＨＥＲ－３ペプチドのみが保持された。ＳＥＬＤＩによってエピトープを決定し、断片の質量によってエピトープを同定した。同定された６８１４Ｄ断片は、ＨＥＲ－３ｈｉｓＥＣＤの部分的消化物から生成される２つの可能な予想されたペプチドに対応する。重複するペプチドは何れも、ドメインＳ１にマッピングされる。ＨＥＲ－３欠失構築物への結合と、ＳＥＬＤＩの結果を総合することによって、エピトープは、残基２５１から３２５にマッピングされた。

【０１３３】

本発明のヒト抗ＨＥＲ－３ｍＡｂによって認識されるＨＥＲ－３の細胞外部分中における結合ドメインの位置が、表４に要約されている。エピトープドメインマッピングの結果は、抗体競合結合競合ビンから得られた結果と合致しており、ＨＥＲ－３への結合に関して互いに交叉競合した抗体は、ＨＥＲ－３上の同じドメインにマッピングされる（図３）。

【０１３４】

【表６】

表４

ELISAアッセイの結果に基づくmAbの結合ドメインのまとめ

mAb	Rat XR	結合ドメイン	mAb	Rat XR	結合ドメイン
U1-59	Yes	S1	U1-2	No	L2
U1-61	No	L2	U1-7	No	L2
U1-41	No	L2	U1-9	No	L2
U1-46	No	S1	U1-10	No	L2
U1-53	No	L2	U1-12	No	L2
U1-43	No	L2	U1-13	No	L2
U1-44	No	S1	U1-14	No	L2
U1-47	No	S1	U1-15	No	L2
U1-52	Yes	L2S2	U1-19	No	L2
U1-40	No	L2	U1-20	No	L2
U1-49	No	L1	U1-21	No	L2
U1-21	No	L2	U1-28	No	L2
U1-22	No	L2	(U1-31)	No	L2
U1-23	No	L2	U1-32	No	L2
U1-24	No	L2	(U1-35)	No	L2
U1-25	No	L2	U1-36	No	L2
U1-26	No	L2	(U1-37)	No	L2
U1-27	No	L2			

ＸＲ＝交叉反応性

【実施例９】

【０１３５】
抗体のカノニカルクラスの決定
Ｃｈｏｔｈｉａらは、各免疫グロブリン鎖の超可変領域に対する「カノニカルクラス」の観点で、抗体構造について記載している（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９８７　Ａｕｇ　２０，１９６（４）：９０１－１７）。それらのアミノ酸配列とそれらの抗原結合部位の三次元構造との関係を決定するために、様々な免疫グロブリンのＦａｂ及びＶＬ断片の原子構造を分析した。Ｃｈｏｔｈｉａらは、それらのパッキング、水素結合又は異常なφ、ψ若しくはω立体構造を採る能力を通じて、超可変領域の主鎖立体構造のために主として必要とされる残基は相対的に少ないことを見出した。これらの残基は、超可変領域内及び保存されたβシートフレームワーク中の部位に存在することが見出された。未知の構造を有する免疫グロブリンの配列を調べることによって、Ｃｈｏｔｈｉａらは、多くの免疫グロブリンが、公知の構造の１つとサイズが類似する超可変領域を有すること、さらに、観察された立体構造に必要とされる部位に同一の残基を含有することを示す。
【０１３６】
彼らの発見は、これらの超可変領域が公知の構造中のものに近い立体構造を有することを示唆した。超可変領域の５つに関しては、立体構造のレパートリーは、別個の構造クラスの比較的少数に限定されるようである。これらの一般的に存在する超可変領域の主鎖立体構造は、「カノニカル構造」と名付けられた。Ｃｈｏｔｈｉａら（Ｎａｔｕｒｅ，１９８９　Ｄｅｃ　２１－２８，　３４２（６２５２）：８７７－８３）及び他の者（Ｍａｒｔｉｎ，　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，　１９９６　Ｎｏｖ　１５，　２６３（５）：８００－１５）によるさらなる研究は、抗体の６つの超可変領域のうち少なくとも５つに対して、主鎖立体構造の小さなレパートリーが存在することを確認した。
【０１３７】
それらのカノニカルクラスを決定するために、上記各抗体のＣＤＲを分析した。既知のとおり、カノニカルクラスは、抗体軽鎖のＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３の他に、抗体重鎖のＣＤＲ１及びＣＤＲ２に対してのみ割り当てられている。下表は、分析の結果を要約している。カノニカルクラスのデータは、ＨＣＤＲ１－ＨＣＤＲ２－ＬＣＤＲ１－ＬＣＤＲ２－ＬＣＤＲ３の形態であり、「ＨＣＤＲ」は重鎖ＣＤＲを表し、「ＬＣＤＲ」は軽鎖ＣＤＲを表す。従って、例えば、１－３－２－１－５のカノニカルクラスは、カノニカルクラス１に属するＨＣＤＲ１、カノニカルクラス３に属するＨＣＤＲ２、カノニカルクラス２に属するＬＣＤＲ１、カノニカルクラス１に属するＬＣＤＲ２及びカノニカルクラス５に属するＬＣＤＲ３を有する抗体を表す。
【０１３８】
各カノニカルクラスに対して定義されたアミノ酸と、抗体中のアミノ酸の７０％又はそれ以上の同一性が存在する特定のカノニカルクラスに割り当てが為された。各抗体に対して定義されたアミノ酸は、例えば、上に引用されたＣｈｏｔｈｉａらによる文献中に見出すことができる。表５及び表６は、ＨＥＲ－３抗体の各々に対するカノニカルクラスデータを報告する。７０％未満の同一性が存在した場合には、各ＣＤＲの長さ及びデータの全体に基づいて、適切なカノニカルクラスの最良の推定が為されることを示すために、カノニカルクラスの割り当てにアスタリスク（「＊」）が付されている。同じＣＤＲ長さを有する、合致したカノニカルクラスが存在しない場合には、「ｓ１８」（ＣＤＲが１８のサイズであることを意味する。）のように、文字ｓ及び数字で、カノニカルクラスの割り当てに印が付されている。重鎖又は軽鎖の１つに対して入手可能な配列データが存在しない場合には、カノニカルクラスは、「Ｚ」でマークされる。
【０１３９】

【表７】

表５

抗体（並べ替えられた）	H1-H2-L1-L2-L3	H3の長さ	抗体（並べ替えられた）	H1-H2-L1-L2-L3	H3の長さ
U1-38	3-1-4-1-1	9	U1-7	3-1-2-1-1	12
U1-39	1-1-4-1*-1	6	U1-9	3-1-2-1-1	12
U1-40	3-1-4-1-1	15	U1-10	3-1-2-1-1	12
U1-41	3-1-2-1-1	15	U1-12	3-1-2-1-1	12
U1-42	1-2-2-1-1	9	U1-13	3-1-4-1-1	7
U1-43	3-1-2-1-1	17	U1-14	3-1-2-1-1	12
U1-44	1-2-2-1-1	9	U1-15	3-1-8-1-1	14
U1-45	1-2*-2-1-1	16	U1-19	3-1-Z-Z-Z	12
U1-46	3-s18-Z-Z-Z	17	U1-20	3-1-2-1-1	19
U1-47	3-s18-2-1-1	16	U1-21	3-1-2-1-1	12
U1-48	1-1-Z-Z-Z	16	U1-22	3-1-2-1-1	12
U1-49	1-3-4-1-1	17	U1-23	3-1-2-1-1	12
U1-50	3-1-2-1-1	17	U1-24	3-1-2-1-1	12
U1-51	1-1-3-1-1	19	U1-25	3-1-2-1-1	12
U1-52	3-1-8-1-1	15	U1-26	3-1-2-1-1	12
U1-53	1-3-2-1-1	10	U1-27	3-1-2-1-1	12
U1-55	3-1-4-1-1	15	U1-28	3-1-2-1-1	12
U1-57	3-1-4-1-1	15	U1-31	1-2-2-1-1	13
U1-58	1-3-2-1-1	12	U1-32	3-1-2-1-1	12
U1-59	1-1-3-1-1	9	U1-35	1-3-2-1-1	14
U1-61.1	3-1*-2-1-1	16	U1-36	3-1-2-1-1	12
U1-62	1-2-8-1-1	12	U1-37	1-2-Z-Z-Z	13
U1-2	3-1-2-1-1	12			

【０１４０】

表７は、クラス当りの抗体の数の分析である。左の欄に表記された特定のカノニカルクラスを有する抗体の数が、右の欄に示されている。１つの鎖配列データを欠如し、従って、カノニカル割り当てにおいて「Ｚ」を有する４つのｍＡｂは、このカウント中に含まれていない。

【０１４１】

最も一般的に見られる構造は、３－１－２－１－１である。重鎖及び軽鎖配列の両方を有する４１のｍＡｂのうち２１が、この立体構造を有していた。

【０１４２】

【表８】

表６

H1-H2-L1-L2-L3	ｶｳﾝﾄ数
1-1-3-1-1	2
1-1-4-1*-1	1
1-2-2-1-1	4
1-2-8-1-1	1
1-3-2-1-1	3
1-3-4-1-1	1
3-1-2-1-1	21
3-1-4-1-1	5
3-1-8-1-1	2
3-s18-2-1-1	1

【実施例１０】

【０１４３】

抗体親和性の測定

間接ＦＡＣＳＳｃａｔｃｈａｒｄ分析によって、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体の親和性測定を行った。従って、ＰＢＳ中の１０ｍＭＥＤＴＡを用いて10^5個の目的の細胞又はＳｋ－Ｂｒ３細胞を採集し、ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ、３％ＦＣＳ、０．４％アジ化物）で１回洗浄し、９６ウェルの丸底プレート上に播種した。上清を除去するために、１０００ｒｐｍで３分間、細胞を遠心し、次いで、α－ＨＥＲ－３抗体（３μｇ／ｍＬ）又はＦＡＣＳ緩衝液中の２０μｇ／ｍＬヒトモノクローナル抗体から開始して、１：２の希釈工程で希釈された抗体希釈物（１００μＬ／ウェル）とともに再懸濁した。細胞懸濁液を氷上で１時間温置し、ＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、二次抗体（１００μＬ／ウェル）ロバ抗ヒトＰＥ（Ｊａｃｋｓｏｎ）によって再懸濁し、ＦＡＣＳ緩衝液中に１：５０希釈した。氷上及び暗所で、細胞懸濁液を３０分間温置し、ＦＡＣＳ緩衝液を用いて２回洗浄し、分析した（ＦＡＣＳ、Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ）。ＦＡＣＳＳｃａｔｃｈａｒｄ分析に従って、各測定に対して蛍光平均を計算した。各蛍光平均からバックグラウンド染色（＝第一の抗体なし）を差し引いた。ｘ値＝蛍光平均及びｙ値＝蛍光平均／ｍＡｂの濃度（ｎＭ）であるＳｃａｔｃｈａｒｄプロットを作成した。ＫＤは、線形方程式の１／ｍの絶対値と解した。図４は、本発明のＵ１－５９抗体を用いた速度論分析を示している。以下の表８には、このようにして選択された本発明のある種の抗体に対する親和性測定が記載されている。

【０１４４】

【表９】

表７

クローン	KD (nM)
U1-38	n.d.
U1-39	102
U1-40	6,7
U1-41	0,18
U1-42	n.d.
U1-43	0,57
U1-44	4
U1-52	16,8
U1-61	0,13
U1-62	20,4
U1-46	13,8
U1-47	9,38
U1-49	1
U1-50	39,3
U1-51	131,6
U1-53	0,082
U1-55.1	3,7
U1-58	6,4
U1-59	3,69
U1-24	0,06
U1-7	0,02

【実施例１１】

【０１４５】

本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、ＨＥＲ－３受容体の飲食細胞運動を誘導する

ＨＥＲ－３は、ＨＥＲファミリーによって媒介される細胞シグナル伝達の重要な門番としての役割を通じて、過剰増殖性疾患の開始及び進行に影響を与えることができる因子として同定されてきた。従って、ＨＥＲ－３が受容体の内部取り込みによって細胞表面／膜から効果的に除去されれば、細胞シグナル伝達が、従って、悪性腫瘍における細胞の形質転換及び／又は維持が、最終的に軽減又は抑圧され得る。

【０１４６】

本発明の抗ＨＥＲ－３抗体がＨＥＲ－３の加速された飲食細胞運動を誘導できるかどうかを調べるために、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体とともに細胞を０．５及び４時間温置した後に、細胞表面上のＨＥＲ－３分子の相対量を比較した。２４ウェル皿中の正常な増殖培地中に3×10^{5}個の細胞を播種し、一晩増殖させた。表記時間にわたって、３７℃で、通常の増殖培地中の１０μｇ／ｍＬ抗ＨＥＲ－３ｍＡｂとともに細胞を予め温置した。１０ｍＭＥＤＴＡを用いて細胞を剥離させ、洗浄緩衝液（ＰＢＳ、３％ＦＣＳ、０．０４％アジ化物）中の１０μｇ／ｍＬ抗ＨＥＲ－３ｍＡｂとともに、４℃で４５分間温置した。洗浄緩衝液で細胞を２回洗浄し、１：１００希釈されたロバ抗ヒトＰＥ二次抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ）とともに、４℃で４５分間温置し、洗浄緩衝液で２回洗浄し、ＦＡＣＳ（ＢｅｃｋｍａｎＣｏｕｌｔｅｒ、ＥＸＰＯ）によって分析した。

【０１４７】

図５に示されているデータは、抗ＨＥＲ－３抗体での細胞の処理が、受容体の内部取り込みをもたらすことを示している。データは、％内部取り込みとして示されており、対照処理された試料に対する、抗ＨＥＲ３処理された試料の平均蛍光強度の低下を表している。

【実施例１２】

【０１４８】

本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体による、ヒト癌細胞ＳＫＢｒ３へのリガンド結合の阻害

本発明の抗ＨＥＲ－３抗体が、細胞をベースとしたアッセイにおいて、ＨＥＲ－３へのリガンド結合を阻害する能力を定量するために、放射性リガンド競合実験を行った。従って、抗体の変動する濃度とともに、氷上で３０分間温置された４×１０^{5}個のＳＫ－ＢＲ－３細胞を用いて、ＨＥＲ－３受容体結合アッセイを行った。各ウェルに、１．２５ｎＭ［Ｉ^{125}］－α－ＨＲＧ［Ｉ^{125}］－β－ＨＲＧを添加し、氷上で２時間、温置を継続した。プレートを５回洗浄し、風乾し、シンチレーションカウンターでカウントを計数した。図６ａからｅは、代表的な本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いて実施されたこれらの実験の結果を示しており、本発明の抗体が、内在性ＨＥＲ－３を発現する細胞への、［^{125}Ｉ］－α－ＨＲＧ／［^{125}Ｉ］－β－ＨＲＧの結合を特異的に低下させ得ることを示している。

【実施例１３】

【０１４９】

本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体による、リガンド誘導性ＨＥＲ－３リン酸化の阻害

本発明の抗体が、リガンドβ－ＨＲＧによって媒介されるＨＥＲ－３の活性化を遮断することができるかどうかを調べるために、ＥＬＩＳＡ実験を行った。リガンドによって媒介されるＨＥＲ－３の活性化は、増加した受容体チロシンリン酸化によって検出した。

【０１５０】

第１日：３７℃で４時間、０．１Ｍ酢酸中の２０μｇ／ｍＬコラーゲンＩで１×９６ウェル皿をコートした。通常の増殖培地中に、２．５×１０^{5}個の細胞を播種した。

【０１５１】

第２日：無血清培地１００μＬ中で、２４時間、細胞を飢餓状態にした。

【０１５２】

第３日：抗ＨＥＲ－３ｍＡＢ１０μｇ／ｍＬとともに、３７℃で１時間、細胞を予め温置し、次いで、β－ＨＲＧ－ＥＧＦドメイン（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）３０ｎｇ／ｍＬで、１０分間処理した。溶媒を除去し、室温で１時間、ＰＢＳ中の４％ホルムアルデヒド溶液で細胞を固定した。ホルムアルデヒド溶液を除去し、洗浄緩衝液（ＰＢＳ／０．１％Ｔｗｅｅｎ２０）で細胞を洗浄した。細胞緩衝液中の１％H_2O_2、０．１％NaN_3で細胞を消光し、室温で２０分間温置し、次いで、４℃で５時間、ＮＥＴ－ゼラチンでブロックした。４℃で一晩、一次抗体ホスホ－ＨＥＲ－３（Ｔｙｒ１２８９）（ポリクローナルウサギ；Ｃｅｌｌ　ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　＃４７９１；１：３００）を添加した。

【０１５３】

第４日：洗浄緩衝液で、プレートを３回洗浄した後、ＰＢＳ中に１：３０００希釈された抗ウサギ－ＰＯＤとともに温置し、各ウェルに０．５％ＢＳＡを添加し、室温で１．５時間温置した。洗浄緩衝液で３回、ＰＢＳで１回、プレートを洗浄した。テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ、Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ）を添加し、６５０ｎｍでモニターした。２５０ｎＭＨＣｌ１００μＬの添加によって反応を停止し、Ｖｍａｘプレートリーダー（Ｔｈｅｒｍｏ　ＬａｂＳｙｓｔｅｍｓ）を使用して、６５０ｎｍの参照波長として、吸光度を４５０ｎｍで読み取った。

【０１５４】

図７ａは、本実験の代表的な結果を示し、減少した受容体チロシンのリン酸化によって示されたように、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体が、リガンドによって媒介されるＨＥＲ－３の活性化を低下させ得ることを示している。データは、対照抗体に対する、治療抗体によるパーセント低下として示されている。

【０１５５】
ｍＡｂＵ１－５３が、リガンドによって媒介されるＨＥＲ－３活性化を阻害する効力を検査するために、２４時間、ＭＣＦ－７細胞を飢餓状態とし、３７℃で１時間、ｍＡｂＵ１－５３とともに温置し、１０分間、１０ｎＭＨＲＧ－βで刺激した。可溶化液を１Ｂ４（マウス抗ＨＥＲ－３ｍＡｂ）ＥＬＩＳＡプレートに移し、抗体４Ｇ１０を用いて、ＨＥＲ－３のリン酸化を分析した。図７ｂに示されているように、ＨＥＲ－３のリン酸化は、０．１４ｎＭのIC_{50}で、用量依存的な様式で、ほぼ完全に阻害された。
【実施例１４】
【０１５６】
本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体による、リガンド誘導性ｐ４２／ｐ４４ＭＡＰキナーゼリン酸化の阻害
本発明の抗体が、リガンドβ－ＨＲＧによって媒介されるｐ４２／ｐ４４ＭＡＰキナーゼの活性化を遮断することができるかどうかを調べるために、次のＥＬＩＳＡ実験を行った。リガンドによって媒介されるＨＥＲ－３の活性化は、増加したタンパク質（Ｔｈｒ２０２／Ｔｙｒ２０４）チロシンリン酸化によって検出した。
【０１５７】
第１日：３７℃で４時間、０．１Ｍ酢酸中の２０μｇ／ｍＬコラーゲンＩで１×９６ウェル皿をコートした。通常の増殖培地中に、3×10^{5}個の細胞を播種した。
【０１５８】
第２日：無血清培地１００μＬ中で、２４時間、細胞を飢餓状態にした。
【０１５９】
第３日：抗ＨＥＲ－３ｍＡＢ５μｇ／ｍＬとともに、３７℃で１時間、細胞を予め温置し、次いで、β－ＨＲＧ－ＥＧＦドメイン（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）２０ｎｇ／ｍＬで、１０分間処理した。溶媒を除去し、室温で１時間、ＰＢＳ中の４％ホルムアルデヒド溶液で細胞を固定した。ホルムアルデヒド溶液を除去し、洗浄緩衝液（ＰＢＳ／０．１％Ｔｗｅｅｎ２０）で細胞を洗浄した。細胞緩衝液中の１％H_2O_2、０．１％NaN_3で細胞を消光し、室温で２０分間温置し、次いで、４℃で５時間、ＰＢＳ／０．５％ＢＳＡでブロックした。４℃で一晩、一次抗体ホスホ－ｐ４４／ｐ４２ＭＡＰキナーゼ（Ｔｈｒ２０２／Ｔｙｒ２０４）（ポリクローナルウサギ；Ｃｅｌｌ　ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　＃９１０１；１：３００）を添加した。
【０１６０】
第４日：洗浄緩衝液で、プレートを３回洗浄した後、ＰＢＳ中に１：５０００希釈された抗ウサギ－ＨＲＰとともに温置し、各ウェルに０．５％ＢＳＡを添加し、室温で１．５時間温置した。洗浄緩衝液で３回、ＰＢＳで１回、プレートを洗浄した。テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ、Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ）を添加し、６５０ｎｍでモニターした。２５０ｎＭＨＣｌ１００μＬの添加によって反応を停止し、Ｖｍａｘプレートリーダー（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｌａｂ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、６５０ｎｍの参照波長として、吸光度を４５０ｎｍで読み取った。
【０１６１】
図８は、本実験の代表的な結果を示している。本発明の抗体は、減少されたリン酸化によって示されたように、リガンドによって媒介されたｐ４２／ｐ４４ＭＡＰ－キナーゼの活性化を低下させることができた。データは、対照抗体に対する、治療抗体によるパーセント低下として示されている。
【実施例１５】
【０１６２】
本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体による、β－ＨＲＧ誘導性ホスホ－ＡＫＴリン酸化の阻害
以下のＥＬＩＳＡ実験において、本発明者らは、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体が、リガンドβ－ＨＲＧによって媒介されるＡＫＴキナーゼの活性化を遮断することができるかどうかを調べた。リガンドによって媒介されるＡＫＴの活性化は、増加したタンパク質（Ｓｅ

ｒ４７３）のリン酸化によって検出された。

【０１６３】

第１日：３７℃で４時間、０．１Ｍ酢酸中の２０μｇ／ｍＬコラーゲンＩで１×９６ウェル皿をコートした。通常の増殖培地中に、３×１０^{5}個の細胞を播種した。

【０１６４】

第２日：無血清培地１００μＬ中で、２４時間、細胞を飢餓状態にした。

【０１６５】

第３日：抗ＨＥＲ－３ｍＡｂ５μｇ／ｍＬとともに、３７℃で１時間、細胞を予め温置し、次いで、β－ＨＲＧ－ＥＧＦドメイン（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）２０ｎｇ／ｍＬで１０分間処理した。溶媒を除去し、室温で１時間、ＰＢＳ中の４％ホルムアルデヒド溶液で細胞を固定した。ホルムアルデヒド溶液を除去し、洗浄緩衝液（ＰＢＳ／０．１％Ｔｗｅｅｎ２０）で細胞を洗浄した。細胞緩衝液中の１％H_2O_2、０．１％NaN_3で細胞を消光し、室温で２０分間温置し、次いで、４℃で５時間、ＰＢＳ／０．５％ＢＳＡでブロックした。４℃で一晩、一次抗体ホスホ－Ａｋｔ（Ｓｅｒ４７３）（ポリクローナルウサギ；Ｃｅｌｌ　ｓｉｇｎａｌｉｎｇ　＃９２１７；１：１０００）を添加した。

【０１６６】

第４日：洗浄緩衝液で、プレートを３回洗浄した後、ＰＢＳ中に１：５０００希釈された抗ウサギ－ＨＲＰとともに温置し、各ウェルに０．５％ＢＳＡを添加し、室温で１．５時間温置した。洗浄緩衝液で３回、ＰＢＳで１回、プレートを洗浄した。テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ、Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ）を添加し、６５０ｎｍでモニターした。２５０ｎＭＨＣｌ１００μＬの添加によって反応を停止し、Ｖｍａｘプレートリーダー（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｌａｂ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して、６５０ｎｍの参照波長として、吸光度を４５０ｎｍで読み取った。

【０１６７】

図９は、本実験の代表的な結果を示している。本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、減少されたリン酸化によって示されたように、β－ＨＲＧによって媒介されたＡＫＴを低下させることができた。データは、対照抗体に対する、治療抗体によるパーセント低下として示されている。

【実施例１６】

【０１６８】

本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体による、α－ＨＲＧ／β－ＨＲＧ媒介性ＭＣＦ７細胞の阻害

本発明の抗体がＨＧＲによって刺激された細胞増殖を阻害する能力を決定するために、インビトロ実験を実施した。９６ウェルプレート上のＦＣＳ含有培地中に、一晩、２０００個のＭＣＦ７細胞を播種した。３７℃で１時間、０．５％ＦＣＳを有する培地中で希釈された抗体とともに、細胞を４つ組みで予め温置した。抗体溶液にリガンドを直接添加することによって、３０ｎｇ／ｍＬのα－ＨＲＧ又は２０ｎｇ／ｍＬβ－ＨＲＧ（Ｒ＆ＤＳｙｓｔｅｍｓ）で細胞を刺激した後、７２時間、増殖させた。ＡｌａｍａｒＢｌｕｅ^{TM}（ＢＩＯＳＯＵＲＣＥ）を添加し、３７℃で、暗所にて温置した。３０分毎に、５９０ｎｍでの吸光度を測定した。アラマール・ブルーの添加から９０分後に、データを採取した。図１０に示されている結果は、本発明の代表的な抗体がヒト癌細胞中でのＨＲＧ誘導性細胞増殖を阻害することを示している。データは、対照抗体に対する、治療抗体によるパーセント低下として示されている。

【実施例１７】

【０１６９】

本発明のヒト抗ＨＥＲ－３抗体による、β－ＨＲＧ誘導性ＭＣＦ７細胞遊走の阻害

本発明の抗体が細胞遊走を遮断するかどうかを調べるために、遊出実験を行った。細胞懸濁液に抗体の表記量を添加し、３７℃で４５分間、両者を温置することによって、血清飢餓状態にされたＭＣＦ７細胞を予め温置した。次いで、コラーゲンＩによって被覆されたｔｒａｎｓｗｅｌｌ（ＢＤ　Ｆａｌｃｏｎ，８μｍ孔）の上部チャンバー中に、細胞懸

濁液（５０，０００細胞）５００μＬを配置した。単独の、又はリガンドβ－ＨＲＧ－ＥＧＦドメイン（Ｒ＆ＤＳｙｓｔｅｍｓ）を含有する７５０μＬ（ＭＥＭ、アミノ酸、ピルビン酸ナトリウム、ペニシリン－ストレプトマイシン、０．１％ＢＳＡ、ウシ胎児血清なし）を、下部チャンバー中で使用した。３７℃で８時間、細胞を遊走させ、ＤＡＰＩで染色した。

【０１７０】

染色された核を手作業で計数した。対照抗体と比較した阻害として、％阻害を表した。

【０１７１】

図１１は、本発明の代表的な抗ＨＥＲ－３抗体が、ＨＲＧによって誘導される細胞遊走を低下させることを示す実験の結果を示している。

【実施例１８】

【０１７２】

コロニー形成アッセイ（軟寒天アッセイ）

本発明の抗ＨＥＲ－３抗体が足場非依存性細胞増殖を阻害する能力を調べるために、軟寒天アッセイを実施した。このような形質転換された細胞のみが軟寒天中で増殖することができるので、軟寒天コロニー形成アッセイは、形質転換された細胞にして検査を行うための標準的なインビトロアッセイである。

【０１７３】

ＩＭＤＭ培地（Ｇｉｂｃｏ）中の１０μｇ／ｍＬの表記抗体とともに、３０分間、７５０から２０００個の細胞（細胞株による）を予め温置し、０．４％Ｄｆｉｃｏ　ｎｏｂｌｅ寒天中に再懸濁した。９６ウェルプレート中に、４つ組みで、２０％ＦＣＳを含有する０．７５％アガロース下層上に細胞懸濁液を播種した。コロニーを１４日間形成させた後、５０μＬＭＴＴ（ＰＢＳ中、０．５ｍｇ／ｍＬ）で一晩染色した。図１２ａからｉは、本発明の３つの代表的な抗体を用いて実施されたこれらの実験の結果を示している。これらの結果は、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体が、ＭＤＡ－ＭＢ３１６及びＮＣＩ－ＡＤＲ乳癌細胞（図１２ａ、ｂ）、ＭＫＮ－２８胃癌（図１２ｃ）、ＨＴ１４４悪性黒色腫（図１２ｄ）、Ｓｋｏｖ３卵巣癌細胞（図１２ｅ）、ＰＰＣ－１前立腺癌（図１２ｆ）、ＢＸ－ＰＣ３膵臓癌細胞（図１２ｇ）、Ａ４３１類表皮癌細胞（図１２ｈ）及び肺癌細胞（図１２ｉ）の足場非依存性細胞増殖を低下させることを示す。Ｓｃａｎａｌｙｚｅｒ　ＨＴＳカメラシステム（Ｌｅｍｎａｔｅｃ，Ｗｕｅｒｓｅｌｅｎ）を用いて、コロニーを計数した。

【実施例１９】

【０１７４】

ヒト抗ＨＲＥ－３抗体は、ヌードマウス中でのヒト乳癌の増殖を阻害する

しばしば、ヒト異種移植腫瘍研究において、治療用抗体の抗腫瘍効果が評価される。これらの研究では、ヒト腫瘍は、免疫無防備状態のマウス中で、異種移植片として増殖し、治療効果は、腫瘍増殖阻害の程度によって測定される。本発明の抗ＨＥＲ－３抗体が、ヌードマウス中でのヒト乳癌細胞の腫瘍増殖を妨害するかどうかを測定するために、雌のＮＭＲＩヌード／ヌードマウス中に、5×10^{6}個のＴ４７Ｄ細胞を移植した。腫瘍は、動物の背中上において、皮下で増殖された。腫瘍は、移植から８日後に、２０mm^{3}の平均容積に到達した時点で、治療を開始した。第一の治療前に、マウスを無作為化し、治療群にわたって、最初の腫瘍容積（平均、中央値及び標準偏差）の均一性を確保するために、統計学的検定を行った。治療は、５０ｍｇ／ｋｇの搭載容量から開始し、続いて、腹腔内注射によって、週に一回、２５ｍｇ／ｋｇを注射した。対照腕には、ドキソルビシン（医薬等級）を与えた。全ての動物に、０．５ｍｇ／ｋｇ／週のエストロゲンを腹腔内注射して補充した。

【０１７５】

処置群の詳細は、以下に掲載されている。

【０１７６】

【表１０】

群	数	第一の化合物	搭載（mg/kg）	週投薬量	経路	スケジュール
1	10	PBS		--	腹腔内	1回／週
2	10	ドキソルビシン		8mg/kg	静脈内	1回／週*
3	10	U1-53	50mg/kg 20mL/kg	25m/kg 10mL/kg	腹腔内	1回／週

*ドキソルビシン治療は、「Ｂｏｖｅｎ　ｅｔ　ａｌ.,　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ,　１９９２」によって記載されたとおりに行った。

【０１７７】
中央値腫瘍容積のデータ（図１３）は、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体の投与が、腫瘍増殖の低下をもたらすことを示した。

【実施例２０】

【０１７８】
ヒト抗ＨＲＥ－３抗体は、ＳＣＩＤマウス中でのヒト膵臓腫瘍の増殖を阻害する

他の固体腫瘍の種類中での抗ＨＥＲ３抗体の治療的な可能性を検査するために、ヒト膵臓腫瘍細胞株Ｂ×ＰＣ３に由来する確立された腫瘍を有するマウスにおいて、抗ＨＥＲ－３抗体、Ｕ１－５３及びＵ１－５９を検査した。ビヒクル対照、ＰＢＳ又は確立された治療用抗体Ｅｒｂｉｔｕｘの何れかで処理されたマウスの対照群として含めた。５×１０^{6}個のＢｘＰＣ３細胞を、Ｍａｔｒｉｇｅｌなしに、ＣＢ１７ＳＣｉＤマウス中の皮下に接種した。１４０ｍｍ^{2}の平均容積を有する確立された腫瘍を有するマウスに、腹腔内注射を介して、Ｕ１－５３、Ｕ１－５９、Ｅｒｂｉｔｕｘの５０ｍｇ／ｋｇ又はＰＢＳの等容量を与えた。その後、マウスに、研究期間中、毎週１回、２５ｍｇ／ｋｇの注射を与えた。

【０１７９】
この実験に対する結果は、図１４に示されている。Ｕ１－５３及びＵ１－５９は、細胞分裂停止状態の様式でヒト膵臓腫瘍の増殖を低下させた。注目すべきことに、本実験では、Ｕ１－５３及びＵ１－５９は、腫瘍増殖の遅延に関して、ＥＧＦＲ標的抗体であるＥｒｂｉｔｕｘより有効であった。これらのデータは、基準治療剤と比較した、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体の治療的効果を示した。

【実施例２１】

【０１８０】
ヒト抗ＨＥＲ－３抗体を抗ＥＧＦＲ抗体と組み合わせることによって、抗腫瘍活性が増加する

標的化された抗体による過剰増殖性疾患の単独療法は、しばしば、一方で、薬物耐性の発生、他方で、抗原性の変化などの問題によって妨害される。例えば、標的化された抗原を発現していない腫瘍細胞又は標的化された抗原を喪失した腫瘍細胞は選択的な増殖という利点を有するので、長期の治療後に抗原性の喪失が、腫瘍細胞を治療抗体に対して非感受性とさせ得る。これらの問題は、腫瘍細胞上の異なる受容体を標的とする治療抗体又は別の抗新生物因子と組み合わせて本発明の抗体を使用することによって回避され得る。複数のシグナル伝達経路又は関連する経路において、但し、複数の介入工程で介入することも、治療的な利点を与え得る。これらの組み合わせ治療様式は、各々、異なる作用機序を介して作用する２つの抗癌剤を組み合わせるので、より有効である可能性がある。

【０１８１】
本発明の抗ＨＥＲ－３抗体Ｕ１－５３及びＵ１－５９の適切な組み合わせ因子としての実用可能性を示すために、本発明者らは、Ｕ１－５３又はＵ１－５９の何れかが、抗ＥＧＲ特異的抗体Ｅｒｂｉｔｕｘと組み合わされる療法と、Ｕ１－５３又はＵ１－５９の単独療法の投与を比較した。５×１０^{6}個のＢｘＰＣ３細胞を、Ｍａｔｒｉｇｅｌとともに、

ＣＢ１７ＳＣＩＤマウス中の皮下に接種した。腫瘍容積が２００ｍｍ^{3}に達した後、各処置群にマウスを無作為に振り分けた。単一の薬剤として、又はＥｒｂｉｔｕｘと抗ＨＥＲ３抗体の組み合わせとして、又は２つの抗ＨＥＲ－３抗体のカクテルとして、Ｕ１－５３、Ｕ１－５９及びＥｒｂｉｔｕｘの腹腔内投与を毎週行った。全ての抗体は、５０ｍｇ／ｋｇ／週の単回投薬用量で投薬した後、６週間、２５ｍｇ／ｋｇを毎週注射した。対照腕に、ゲムシタビン（１２０ｍｇ／ｋｇ）に隔週投与し、ヒトＩｇＧを毎週プールし、又はビヒクル（ＰＢＳ）注射を毎週プールした。治療計画は、以下に詳述されている。

【０１８２】

【表１１】

群	数	化合物	搭載容量（mg/kg）	週投薬量（mg/kg）	経路	スケジュール
4	12	PBS	20mL/kg	10mL/kg	q7d	腹腔内
5	12	プールされたヒトIgG	50mg/kg	25mg/kg	q7d	腹腔内
6	12	U1-53	50mg/kg	25mg/kg	q7d	腹腔内
7	12	U1-59	50mg/kg	25mg/kg	q7d	腹腔内
8	12	Erbitux	50mg/kg	25mg/kg	q7d	腹腔内
9	12	U1-53+Erbitux	それぞれ25mg/kg	それぞれ12.5mg/kg	q7d	腹腔内
10	12	U1-59+Erbitux	それぞれ25mg/kg	それぞれ12.5mg/kg	q7d	腹腔内
11	12	U1-53+U1-59	それぞれ25mg/kg	それぞれ12.5mg/kg	q7d	腹腔内
12	12	ゲムシタビン	なし	120mg/kg	週2回	腹腔内

【０１８３】

この実験に対する結果は、図１５に示されている。単一の薬剤として投与された場合に、抗体Ｕ１－５３及びＵ１－５９は、しばしば標準的な抗膵臓癌化学療法として使用されるゲムシタビンと同じ程度まで、ヒト膵臓腫瘍の増殖を遅延させた。Ｕ１－５３又はＵ１－５９とのＥｒｂｉｔｕｘの同時投与は、Ｕ１－５３、Ｕ１－５９又はＥｒｂｉｔｕｘの何れかの単一薬剤投与を用いて観察されたものより、腫瘍増殖を有意により大きく低下させた。従って、別個の腫瘍抗原を標的とする適切な抗体と本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を組み合わせることによって、有益な治療的応答を達成することが可能である。

【０１８４】

要約すると、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、ヒト腫瘍に対して、インビボで強力な治療効果を有する。本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、抗腫瘍活性を増加させるために、他の抗新生物治療薬と効果的に組み合わせることが可能である。

【実施例２２】

【０１８５】

ヒト抗ＨＲＥ－３抗体は、ｎｕ／ｎｕマウス中でのヒト悪性黒色腫瘍の増殖を阻害する

Ｈｅｒ３を含む受容体のｅｒｂＢファミリーのメンバーは、極めて様々な上皮癌中で異常に発現されており、多くのこれらの固形腫瘍の増殖及び生存において重要な役割を果たしていることが知られている。これらの腫瘍には、悪性黒色腫、頭部及び頸部扁平上皮細胞癌、非小細胞肺癌及び前立腺癌、神経膠腫、胃癌、乳癌、結腸直腸癌、膵臓癌、卵巣癌が含まれる。本発明の抗Ｈｅｒ３抗体の抗癌活性が個別の腫瘍種（例えば、膵臓癌（実施例２１参照））に限定されず、多くのＨＥＲ－３依存性腫瘍に対する治療薬として使用することができることを確かめるために、本発明者らは、さらなる異種移植片研究においてＵ１－５３及びＵ１－５９を検査した。一例が図１６に示されている。ＣＢ１７ＳＣＩＤマウス中に、５×１０^{5}個のヒト悪性黒色腫細胞ＨＴ１４４を皮下注射した後、Ｕ１－５３及びＵ１－５９の５０ｍｇ／ｋｇ、ＰＢＳの等しい容積又は２００ｍｇ／ｋｇのダカルバシン（ＤＩＴＣ）を直ちにその後腹腔内注射した。その後、Ｕ１－５３又はＵ１－５９の２５ｍ／ｋｇは、週一回、マウスに与えられたのに対して、２００ｍｇ／ｋｇで、２週毎に１回、ＤＩＴＣを与えた。

【０１８６】

各処置群から得られた中央値腫瘍容積が、図１６に示されている。本発明の抗体の投与は、ビヒクル対照で処理された腫瘍と比べた場合に、ヒト悪性黒色腫の増殖の低下をもたらした。これらの結果は、本発明の抗体が、それらの治療的な潜在能力に限定されず、ＨＥＲ－３を発現している多様な癌を標的とすることを示している。

【実施例２３】

【０１８７】

ヒト抗ＨＲＥ－３抗体は、マウス中の大腸癌異種移植片の増殖を阻害する

１０×１０^{6}細胞／ｍＬの最終濃度になるように、Ｍａｔｒｉｇｅｌの２：１の比率を用いて、ＨＴ－２９ヒト大腸癌細胞を培地中に懸濁した。４から５週齢のＣＤ１ｎｕ／ｎｕマウスの右側腹部中に、細胞懸濁液０．２ｍＬを皮下注射した。計９５匹のマウスを使用した。

【０１８８】

マウスを、対照群及び処置群へ無作為に割り当てた。処置は、同じ日に開始した。治療の期間は、２９日であった。研究が完了した時点で、処置を施してから３時間後に、群当り３つの腫瘍を集めた。腫瘍を迅速に凍結し、－８０℃に保った。

【０１８９】

以下の治療プロトコールを実施した。

【０１９０】

対照群：非特異的ヒトＩｇＧ２５ｍｇ／ｋｇ、週２回、腹腔内。

【０１９１】

処置群：抗体Ｕ１－５３、２５ｍ／ｋｇ、週２回、腹腔内。

【０１９２】

処置群：抗体Ｕ１－７、２５ｍ／ｋｇ、週２回、腹腔内。

【０１９３】

処置群：抗体Ｕ１－５９、２５ｍ／ｋｇ、週２回、腹腔内。

【０１９４】

処置群５－ＦＵ：５－フルオロウラシル、５０ｍｇ／ｋｇ、９ｄ×５、腹腔内。

【０１９５】

各群から得られた中央値腫瘍容積が、図１７に示されている。本発明の抗体の投与は、非特異的ヒトＩｇＧ１で処理された腫瘍と比べた場合に、ＨＴ－２９大腸癌腫瘍の増殖低下をもたらした。

【実施例２４】

【０１９６】

ヒト抗ＨＲＥ－３抗体は、マウス中の肺癌増殖を阻害する

５×１０^{6}細胞／ｍＬの最終濃度になるように、Ｍａｔｒｉｇｅｌの１：１の比率を用いて、Ｃａｌｕ－３ヒト非小細胞肺癌細胞を培地中に懸濁した。９週齢の雌ＣＢ１７ｓｃｉｄマウスの右側腹部中に、細胞懸濁液０．０５ｍＬを皮下注射した。計６０匹のマウスを使用した。

【０１９７】

マウスを、対照群及び処置群へ無作為に選択した。処置は、同じ日に開始した。治療の期間は、３２日であった。

【０１９８】

以下の治療プロトコールを実施した。

【０１９９】

ＰＢＳビヒクル群

ｈＧ対照群：非特異的ヒトＩｇＧ：２５ｍｇ／ｋｇ、週２回、腹腔内。

【０２００】

処置群：抗体Ｕ１－５３、２５ｍ／ｋｇ、週２回、腹腔内。

【０２０１】

処置群：抗体Ｕ１－７、２５ｍ／ｋｇ、週２回、腹腔内。

【０２０２】
処置群：抗体Ｕ１－５９、２５ｍ／ｋｇ、週２回、腹腔内。
【０２０３】
各対照群及び処置群から得られた中央値腫瘍容積が、図１８に示されている。本発明の抗体の投与は、ＰＢＳビヒクル対照又は非特異的ヒトＩｇＧで処理された腫瘍と比べた場合に、ヒト非小肺癌異種移植片の増殖の低下をもたらした。
【実施例２５】
【０２０４】
ヒト抗ＨＲＥ－３抗体は、Ｂａｌｂ／Ｃマウス中でのヒト膵臓腫瘍の増殖を阻害する
５×１０^{6}細胞／ｍＬの最終濃度になるように、Ｍａｔｒｉｇｅｌの２：１の比率を用いて、ヒト膵臓ＢｘＰＣ３腫瘍細胞を培地中に懸濁した。５から５週齢の雌ＢａｌｂＣｎｕ／ｎｕマウスの右側腹部中に、細胞懸濁液０．２ｍＬを皮下注射した。計１００匹のマウスを使用した。
【０２０５】
マウスを、対照群及び処置群へ無作為に割り当てた。処置は、同じ日に開始した。治療の期間は、２７日であった。
【０２０６】
以下の治療プロトコールを実施した。
【０２０７】
ｈＩｇＧ対照群：非特異的ヒトＩｇＧ、２５ｍｇ／ｋｇ、週２回、腹腔内。
【０２０８】
処置群：抗体Ｕ１－５３、２５ｍ／ｋｇ、週２回、腹腔内。
【０２０９】
処置群：抗体Ｕ１－７、２５ｍ／ｋｇ、週２回、腹腔内。
【０２１０】
処置群：抗体Ｕ１－５９、２５ｍ／ｋｇ、毎週、腹腔内。
【０２１１】
Ｇｅｍｚａｒ処置群、ゲムシタビン、８０ｍ／ｋｇ、毎週、腹腔内。
【０２１２】
各対照群及び処置群から得られた中央値腫瘍容積が、図１９に示されている。本発明の抗体の投与は、非特異的ヒトＩｇＧ又はＧｅｍｚａｒで処理された腫瘍と比べた場合に、ヒト膵臓腫瘍の増殖低下をもたらした。
【０２１３】
ヒト膵臓腫瘍中でのＨＥＲ－３の阻害は、薬力学的実験においても示すことができた。ＢｘＰＣ３腫瘍異種移植片は、上述のように増殖させた。ＩｇＧ１対照抗体５００μｇで３匹のマウスを処理し、抗ＨＥＲ－３抗体Ｕ１－５９の５００μｇで３匹のマウスを処理した。第１日及び第４日目にマウスを処理した後、ＨＥＲ－３リン酸化（ｐＨＥＲ－３）の抗体依存性阻害を測定するために、第５日目に屠殺した。
【０２１４】
プロテアーゼ阻害剤を加えた標準的なＲＩＰＡ緩衝液中で、腫瘍をホモゲナイズした。４から２０％のＴｒｉｓ－グリシンゲル上で５０μｇの透明な可溶化液を分離し、ニトロセルロース膜上に転写し、３％ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）中にブロックした。抗ＨＥＲ－３抗体（抗体２１Ｄ３、Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）を用いて、イムノブロッティングを行った。抗アクチン抗体（ＡＢａ－２０６６、Ｓｉｇｍａ）を対照として使用した。
【０２１５】
増強された化学発光（Ａｍｅｒｓｈａｍ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）によって、発現を検出した。Ｖｅｒｓａｄｏｃ５０００Ｉｍａｇｉｎｇ Ｓｙｓｔｅｍ（ＢｉｏＲａｄ， Ｈｅｒｃｕｌｅｓ， ＣＡ）を用いて、画像を捕捉した。
【０２１６】

結果は、図２０に示されている。ヒト抗ＨＥＲ－３抗体Ｕ１－５９の投与後、ＨＥＲ－３のリン酸化は、もはや検出できなかった。従って、本発明の抗体は、ヒト膵臓腫瘍細胞中でのＨＥＲ－３の活性化を著しく低下させることができる。

【実施例２６】

【０２１７】

診断剤としての本発明の抗ＨＥＲ－３抗体の使用

抗ＨＥＲ－３ｍＡｂは、悪性腫瘍疾患の診断において使用することが可能である。ＨＥＲ－３は、正常な組織と比べて極めて異なった様式で腫瘍細胞上に発現されており、従って、ＨＥＲ－３の発現分析は、固形腫瘍の一次診断、固形腫瘍の段階決定及び等級付け、増殖性疾患及び悪性新生物の予後診断基準の評価並びにＨＥＲ－３陽性腫瘍を有する患者におけるリスク管理を補助する。

【０２１８】

Ａ．試料中でのＨＥＲ－３抗原の検出

試料中でのＨＥＲ－３抗原の検出用酵素結合免疫吸着検定法（ＥＬＩＳＡ）が開発されている。本アッセイでは、９６ウェルミクロタイタープレート又は３８４ウェルマイクロタイタープレートなどのマイクロタイタープレートのウェルに、ＨＥＲ－３抗原に対して誘導された第一の完全なヒトモノクローナル抗体を数時間吸着させる。固定化された抗体は、検査試料中に存在し得るＨＥＲ－３抗原の何れかに対する捕捉抗体としての役割を果たす。ウェルを濯ぎ、分析物の非特異的吸着を防ぐために、ミルクタンパク質又はアルブミンなどのブロッキング剤で処理した。

【０２１９】

続いて、ＨＥＲ－３抗原を含有すると疑われる検査試料で、又はＨＥＲ－３抗原の標準量を含有する溶液でウェルを処理する。例えば、このような試料は、病状を診断するものと考えられる循環ＨＥＲ－３抗原のレベルを有すると疑われる対象から得られる血清試料である。検査試料又は標準を濯いだ後、ビオチンの連結によって標識される本発明の第二の完全ヒトモノクローナル抗ＨＥＲ－３抗体でウェルを処理する。標識された抗ＨＥＲ－３抗体は、検出抗体としての役割を果たす。過剰な二次抗体を濯いで除去した後、アビジン連結された西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）及び適切な色素産生性基質でウェルを処理する。検査試料中のＨＥＲ－３抗原の濃度は、標準試料から作成された標準曲線との比較によって決定される。

【０２２０】

Ｂ．免疫組織化学（ＩＨＣ）中のＨＥＲ３抗原の検出

ＩＨＣによる組織切片中のＨＥＲ３抗原を測定するために、まず、パラフィン包埋された組織を、２回、５分間、キシレン中でパラフィン除去し、次いで、１００％エタノールで３分間、２回、９５％エタノールで１分間、水和し、蒸留水中で濯いだ。エピトープ遮蔽の除去、酵素消化又はサポニンによって、ホルマリン固定及びパラフィン包埋によって遮蔽された抗原エピトープを露出させる。エピトープの遮蔽を除去するために、例えば、２ＮＨＣｌ溶液（ｐＨ１．０）のようなエピトープ修復溶液中で、２０から４０分間にわたって、蒸し器、水槽又は電子レンジ中で切片を加熱する。酵素消化の場合には、プロテイナーゼＫ、トリプシン、プロナーゼ、ペプシンなどの様々な酵素溶液中において、３７℃で１０から３０分間、組織切片を温置する。

【０２２１】

エピトープ修復溶液又は過剰な酵素を濯いで除去した後、非特異的な相互作用を防ぐために、ブロッキング緩衝液で組織切片を処理する。室温で１時間、又は一晩、希釈緩衝液中において、適切な希釈で一次抗体を温置する。過剰の一次抗体を濯いで除去し、室温で１０分間、ペルオキシダーゼブロッキング溶液中で切片を温置する。別の洗浄工程後、酵素に対する足場としての役割を果たし得る基で標識された二次抗体とともに組織切片を温置する。従って、例は、ストレプトアビジンが連結された西洋ワサビペルオキシダーゼによって認識されるビオチン標識された二次抗体である。前記抗体／酵素複合体の検出は、適切な色素産生性基質とともに温置することによって達成される。

【０２２２】
Ｃ．患者の血清中のＨＥＲ－３抗原濃度の測定
ヒト血清中のＨＥＲ－３レベルを定量するために、サンドイッチＥＬＩＳＡを開発する。サンドイッチＥＬＩＳＡ中で使用された２つの完全なヒトモノクローナル抗ＨＥＲ－３抗体は、ＨＥＲ－３分子上の異なるドメインを認識し、結合に関して競合しない。例えば、実施例８を参照されたい。以下のように、ＥＬＩＳＡを実施する。２μｇ／ｍＬの濃度の、コーティング緩衝液（０．１ＭＮａＨＣＯ$_3$、ｐＨ９．６）中の捕捉抗ＨＥＲ－３抗体５０μＬを、ＥＬＩＳＡプレート（Ｆｉｓｈｅｒ）上に被覆した。４℃で一晩温置した後、ブロッキング緩衝液２００μＬ（ＰＢＳ中、０．５％ＢＳＡ、０．１％Ｔｗｅｅｎ２０、０．０１％チメロサール）で、２５℃で１時間、プレートを処理する。ＰＢＳ中の０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０を用いて、プレートを洗浄した（３回）（洗浄緩衝液、ＷＢ）。５０％ヒト血清を含有するブロッキング緩衝液中に正常な血清又は患者の血清（Ｃｌｉｎｏｍｉｃｓ，Ｂｉｏｒｅｃｌａｉｍａｔｉｏｎ）を希釈する。４℃で一晩、血清試料とともにプレートを温置し、洗浄緩衝液で洗浄し、次いで、２５℃で１時間、ビオチン化された検出抗ＨＥＲ－３抗体１００μＬ／ウェルとともに温置する。洗浄後、ＨＲＰ－ストレプトアビジンとともにプレートを１５分間温置し、前述のように洗浄し、次いで、発色させるために、Ｈ$_2$Ｏ$_2$中のｏ－フェニレンジアミン（Ｓｉｇｍａ発色溶液）１００μＬ／ウェルで処理する。Ｈ$_2$ＳＯ$_4$（２Ｍ）の５０μＬ／ウェルで反応を停止させ、４９２ｎｍでＥＬＩＳＡプレートリーダーを用いて分析する。４パラメータ曲線フィッティングプログラムを用いて、精製されたＨＥＲ－３抗原の希釈と比較することによって、血清試料中のＨＥＲ－３抗原の濃度を計算する。
【０２２３】
患者中の癌の段階決定
項目Ａ、Ｂ及びＣで記載及び論述した結果に基づき、本発明の使用を通じて、ＨＥＲ－３抗原の発現レベルを基礎として、対象中の癌の段階を決定することが可能である。癌の所定の種類に関して、疾病の進行における様々な段階であるとして、及び／又は癌の治療的処置における様々な点であるとして診断された対象から血液の試料を採取する。血液試料中に存在するＨＥＲ－３抗原の濃度は、存在する抗原の量を特異的に測定する方法を用いて決定される。このような方法には、項目Ａ及びＢで記載されている方法などのＥＬＩＳＡ法が含まれる。進行又は治療の各段階に対して統計学的に有意な結果を与える試料の集団を用いて、各段階に関して特徴的であると考え得るＨＥＲ－３抗原の濃度範囲が表記される。
【０２２４】
研究されている対象中の癌の進行の段階を決定するために、又は療法の経過に対する対象の応答を特徴付けるために、血液の試料を、対象から採取し、試料中に存在するＨＥＲ－３抗原の濃度を測定する。このようにして得られた濃度は、値が属する濃度範囲を同定するために使用される。このようにして同定された範囲は、診断された対象の様々な集団において同定された進行の段階又は療法の段階と相関し、これにより、研究されている対象中の段階を決定する。
【実施例２７】
【０２２５】
過剰増殖性疾患の治療又は予防のための、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体及び抗体抱合体の使用
多くの固形腫瘍は、ＨＥＲファミリーに媒介されるシグナル伝達によって駆動され、ＨＥＲ－１、ＨＥＲ－２及びＨＥＲ－４間の複合体形成を通じて、ＨＥＲ－３は不可欠なパートナーであることが示されている。従って、ＨＥＲ－３によって媒介されるシグナル伝達の低下又は除去は、全ての他のＨＥＲファミリーのメンバーに影響を与え、細胞シグナル伝達を損なわせ、治療的介入の幅広い枠並びに標的化される他の因子、生物試薬及び細胞毒性因子との併用療法の可能性をもたらす。従って、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、例えば、ＨＥＲ－３発現のような多数の因子に基づくある種の過剰増殖性疾患又はＨＥＲ－

３関連疾患の治療のために使用することが可能である。乳癌、胃腸癌、膵臓癌、前立腺癌、卵巣癌、胃癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、肺癌、腎臓癌、大腸癌、直腸結腸癌、甲状腺癌、膀胱癌、神経膠腫、悪性黒色腫、ＨＥＲ－３を発現又は過剰発現する他の癌などの腫瘍の種類は、好ましい適応症に該当すると思われるが、適応症は、前記のリストに掲載されているものに限定されるものではない。さらに、患者の以下の群には、抗ＨＥＲ－３誘導性ｍＡｂ治療が有益である。

【０２２６】

・抗ＨＥＲ－２ｍＡｂ治療に対して耐性を有する患者
・抗ＨＥＲ－２ｍＡｂ治療を用いた治療に対する適格性を欠く患者
・抗ＨＥＲ－１ｍＡｂ又は小分子抗ＥＧＦＲ阻害剤に対して耐性を有する患者
・エルロチニブ又はゲフィチニブに対して耐性を示す非小細胞肺癌を有する患者

本発明の抗ＨＥＲ－３抗体は、単独療法として、又は、いわゆる「併用療法」において、１つ若しくはそれ以上の因子と組み合わせて使用される。前記併用療法は、本発明において前記した因子を含み得るが、これに限定されるものではない。抗ＨＥＲ３抗体及び他の因子との併用療法は、患者の生存、腫瘍進行までの時間を延長し、又は患者の生活の質を向上させ得る。プロトコール及び投与の設計は、治療の効果に対処するのみならず、標準的な療法（例えば、化学療法又は放射線療法など）の通常用量を低下させることができる。

【０２２７】

本発明の抗ＨＥＲ－３抗体を用いたヒトの治療

腫瘍を有するヒト患者における抗ＨＥＲ－３抗体治療のインビボでの効果を測定するために、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体の有効量を、一定回数にわたって、このようなヒト患者に注射する。治療中の一定期間に、腫瘍が進行するかどうか、特に、腫瘍が増殖及び転移するかどうかを明らかにするために、ヒト患者をモニターする。

【０２２８】

本発明の抗ＨＥＲ－３抗体で治療された腫瘍患者は、現在の治療薬の標準で治療された腫瘍患者における腫瘍増殖及び転移のレベルと比べて、腫瘍増殖及び／又は転移のより低いレベルを有する。

【０２２９】

本発明の抗ＨＥＲ－３抗体抱合体を用いた治療

本発明の抗ＨＥＲ－３抗体抱合体のインビボでの効果を測定するために、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体抱合体の有効量を、一定回数、腫瘍を呈するヒト患者又は動物に注射する。例えば、投与される抗ＨＥＲ－３抗体抱合体は、ＤＭ１－抗ＨＥＲ－３抗体抱合体、アウリスタチン－抗ＨＥＲ－３抗体抱合体又は放射性同位体－抗ＨＥＲ－３抗体抱合体である。治療中、定期的に、腫瘍が進行するかどうか、特に、腫瘍が増殖及び転移するかどうかを明らかにするために、ヒト患者又は動物をモニターする。

【０２３０】

腫瘍を呈し、例えば、ＤＭ１－抗ＨＥＲ－３抗体抱合体又は放射線同位体－抗ＨＥＲ－３抗体抱合体での治療を受けているヒト患者又は動物は、腫瘍を呈し、別の療法での治療を受けている対照患者又は動物と比べて、腫瘍増殖及び転移のより低いレベルを有する。動物中で使用され得る対照ＤＭ１－抗体には、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体と同じイソタイプであるが、より具体的には、ＨＥＲ－３腫瘍体抗原への結合能を有しない抗体に連結されたＤＭ１を含む抱合体が含まれる。動物検査において使用され得る対照放射性同位体－抗体には、本発明の抗ＨＥＲ－３抗体と同じイソタイプであるが、より具体的には、ＨＥＲ－３腫瘍抗原への結合能を有しない抗体に連結された放射性同位体を含む抱合体が含まれる。注意：対照抱合体は、ヒトに投与されない。

【０２３１】

総論

前記明細書は、当業者が本発明を実施可能であるのに十分であると考えられる。寄託された実施形態は、本発明のある種の目的の一つの例示であることが意図され、機能的に均

等である全ての構築物が、本発明の範囲に属するので、本発明の範囲は、寄託された構築物による範囲に限定されない。本明細書中の寄託物は、本明細書中に含まれる記載が本発明の何れかの対象（本発明の最良の態様を含む。）を実施可能とするのに不十分であることを認めるものではなく、それが表す特定の例示に特許請求の範囲を限定するものと解釈すべきでない。

【０２３２】

先述の記載及び実施例は、本発明のある種の好ましい実施形態を詳述し、本発明者らによって想定される最良の態様を記載する。しかしながら、先述の記載が本文中でいかに詳しく記されていても、本発明は多くの様式で実施することができ、本発明は、添付の特許請求の範囲及びそのあらゆる均等物に従って解釈しなければならないことが理解される。

【０２３３】

さらに、別段の定義がなければ、本発明に関連して使用される科学及び技術用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。さらに、文脈上別段の必要がなければ、単数形の用語は複数を含むものとし、複数形の用語は単数を含むものとする。一般的に、本明細書に記載されている細胞及び組織培養、分子生物学並びにタンパク質及びオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド化学及びハイブリダイゼーションに関連して使用される命名法及びこれらの技術は、周知のものであり、本分野において一般的に使用されている。組換えＤＮＡ、オリゴヌクレオチド合成及び組織培養及び形質転換のために、標準的な技術が使用されている（例えば、電気穿孔、リポフェクション）。酵素反応及び精製技術は、製造業者の説明書に従って、又は本分野で一般的に遂行されているように、又は本明細書に記載されているように実施される。一般に、先述の技術及び操作は、本分野で周知の慣用的な方法に従い、並びに本明細書を通じて引用及び論述されている様々な一般的参考文献及びより具体的な参考文献中に記載されているように、実施される。例えば、「Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（３ｒｄ ｅｄ．, Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ, Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ, Ｎ．Ｙ．（２００１））」（参照により、あらゆる目的のために、本明細書に組み込まれる。）を参照されたい。本明細書に記載されている分析化学、合成有機化学及び医薬品化学及び薬化学に関して使用される命名法、並びに本明細書に記載されている分析化学、合成有機化学及び医薬品化学及び薬化学の実験室操作及び技術は、周知のものであり、本分野で一般的に使用されているものである。化学合成、化学分析、薬学的な調製、調合、及び送達、及び患者の治療に関しては、標準的な技術が使用される。

【０２３４】

参照による組み込み

本願に引用されている全ての参考文献（特許、特許出願、論文、教科書（これらの中に引用されている参考文献を含む。）など）は、参照により、その全体が、本明細書に組み込まれる。

【０２３５】

【化３】

配列表

Antibody U1-39

1 Heavy Chain DNA:
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGATCCAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCCTCTGGGTTCACCGTCAGTAGCAACTACATGAGCTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGATTGGGTCTCAGTTATTTATAGCGGTGGTAGCACATACTACGCA
GACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGGCAGTGG
CTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

2 Heavy Chain Protein:
EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLDWVSVIYSGGSTYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGQWLDVWGQGTTVTVSS

3 Light Chain DNA:
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCAAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGATACAACTATTTGGATTGG
TACCTGCAGAGGCCAGGGCAGTCTCCACAACTCCTGTTCTATTTGGGTTTTCATCGGGCC
TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCAGGCAAGCTCTACAAACTCCG
CTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

4 Light Chain Protein:
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQRPGQSPQLLFYLGFHRA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCRQALQTPLTFGGGTKVEIK

Antibody U1-40

5 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGTACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTCCAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT
AGGGAACTGGAACTTTACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTCTCCTC

6 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYSSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRELELYYYYYGMDVWGQGTT
VTVS

7 Light Chain DNA:
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGTATAGTAATGGATACAACTATTTGGATTGG
TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC
TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCG
CTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

8 Light Chain Protein:
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQALQTPLTFGGGTKVEIK

Antibody U1-38

9 Heavy Chain DNA:
CAGATCACCTTGAAGGAGTCTGGTCCTACGCTGGTGAAACCCACACAGACCCTCACGCTG
ACCTGCACCTTCTCTGGGTTCTCACTCAGCACTAGTGGAGTGGGTGTGGGCTGGATCCGT
CAGCCCCCAGGAAAGGCCCTGGACTGGCTTGCACTCATTTATTGGAATGATGATAAGCGC

TACAGCCCATCTCTGAAGAGCAGGCTCACCATCACCAAGGACACCTCCAAAAACCAGGTG
GTCCTTACAATGACCAACATGGATCTTGTGGACACAGCCACATATTACTGTGTACACAGA
GACGAAGTTCGAGGGTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

Heavy Chain Protein:
QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGVGVGWIRQPPGKALDWLALIYWNDDKR
YSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMDLVDTATYYCVHRDEVRGFDYWGQGTLVTVSS

Light Chain DNA:
GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCGTATACAGTGATGGATACACCTACTTGCATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCGCCTTATTTATAAGGTTTCTAACTGGGAC
TCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGGCAGTGGGTCAGGCACTGATTTCACACTGAAAATC
AGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGGTGCACACTGGCCG
ATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA

Light Chain Protein:
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGYTYLHWFQQRPGQSPRRLIYKVSNWD
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGAHWPITFGQGTRLEIK

Antibody U1-41

Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGGTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTTCTGTGCGAGAGAT
CGGGAACTTGAGGGTTACTCCAACTACTACGGTGTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTCTCCTC

Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARDRELEGYSNYYGVDVWGQGTT
VTVS

Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGCCATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGAATAATAGTCTCCCGATCACCTTCGGCCAA
GGGACACGACTGGAGATTAAA

Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQNNSLPITFGQGTRLEIK

Antibody U1-42

Heavy Chain DNA:
GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGGGGAGTCTCTGAAGATC
TCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGCTGGGTGCGCCAGATG
CCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGACTCTGATACCAGATAC
AGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCCATCAGCACCGCCTAC
CTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTGTGCGAGACATGAA
AACTACGGTGACTACAACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

Heavy Chain Protein:
EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRY
SPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHENYGDYNYWGQGTLVTVSS

Light Chain DNA:

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTCGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTCGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCTTCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCACTTTACTGCTGTCAACAGAGTAACGGTTCCCCGCTCACTTTCGGCGGA
GGGACCAAGGTGGAGATCAAA

Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFALYCCQQSNGSPLTFGGGTKVEIK

Antibody U1-43

Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAGGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT
AGAGAGAGAGAGTGGGATGATTACGGTGACCCCCAAGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCCTC

Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLRSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDREREWDDYGDPQGMDVWGQG
TTVTVS

Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTACATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCATGCTGCATCCAGTTTACAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGTAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTAACCCGCTCACTTTCGGCGGA
GGGACCAAGGTGGAGATCCAA

Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLHWYQQKPGKAPKLLIHAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSNPLTFGGGTKVEIQ

Antibody U1-44

Heavy Chain DNA:
GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGGGGAGTCTCTGAAGATC
TCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGCTTTACCAGCTACTGGATCGGCTGGGTGCGCCAGATG
CCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTGGCCTGGTGACTCTGATACCATATAC
AGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATCTCAGCCGACAAGTCCATCAGCACCGCCTAC
CTGCAGTGGAGCAGCCTGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTGTGCGAGACATGAA
AACTACGGTGACTACAACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

Heavy Chain Protein:
EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIWPGDSDTIY
SPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARHENYGDYNYWGQGTLVTVSS

Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTCGAAGTTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCG
GGGAATGCCCCTAAACTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCACTTTACTACTGTCAACAGAGTATCAGTTCCCCGCTCACTTTCGGCGGA
GGGACCAAGGTGGAGATCAAA

28 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIRSYLNWYQQKPGNAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFALYYCQQSISSPLTFGGGTKVEIK

Antibody (U1-45)
29 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCC
ACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATGAACCCTAACAGTGGTGACACTGGCTAT
GCACAGGTGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCTGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTAC
ATGGAACTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGATTTGGG
GATCTCCCGTATGACTACAGTTACTACGAATGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTG
GTCACCGTCTCCTC
30 Heavy Chain Protein:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGDTGY
AQVFQGRVTMTWNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARFGDLPYDYSYYEWFDPWGQGTL
VTVS
31 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGCCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAGACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCAGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCGCTCACTTTCGGCGGA
GGGACCAAGGTGGAGATCAAA
32 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQRPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK

Antibody (U1-46
33 Heavy Chain DNA:
CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTC
ACCTGTGCCATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGCAACAGTGCTGCTTGGAACTGGATCAGG
CAGTCCCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTAT
AATGATTATGCAGTATCTGTGAAAAGTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAAC
CAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCA
AGAGATCTCTACGATTTTTGGAGTGGTTATCCCTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGC
CAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC
34 Heavy Chain Protein:
QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWY
NDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDLYDFWSGYPYYYGMDVWG
QGTTVTVS

Antibody U1-47
35 Heavy Chain DNA:
CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGCAGACCCTCTCACTC
ACCTGTGCCATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGCAACAGTGCTGCTTGGAACTGGATCAGG
CAGTCCCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTAT
AATGATTATGCAGTATCTGTGAAAAGTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAAC
CAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCA
AGAGATTACTATGGTTCGGGGAGTTTCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAA
GGGACCACGGTCACCGTCTCCTC
36 Heavy Chain Protein:
QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWY

NDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARDYYGSGSFYYYYGMDVWGQ
GTTVTVS

37 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGGTCCTGATCTATGCTGCATCCAATTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAA

38 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKVLIYAASNLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTKVEIK

Antibody U1-48

39 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCC
GCCGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCATATCTATACCAGTGGGAGCACCAACTACAAC
CCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATGTCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTG
AAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAAGCGATT
TTTGGAGTGGGCCCCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTC
ACCGTCTCCTC

40 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPAGKGLEWIGHIYTSGSTNYN
PSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREAIFGVGPYYYYGMDVWGQGTTV
TVS

Antibody U1-49

41 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAATATTGGTGGCACAAACTGT
GCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGA
CGGTATAGCAGCAGCTGGTCCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC
ACGGTCACCGTCTCCTC

42 Heavy Chain Protein:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNIGGTNC
AQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGGRYSSSWSYYYYGMDVWGQGT
TVTVS

43 Light Chain DNA:
GATATTCTGATGACCCAGACTCCACTCTCTCTGTCCGTCACCCCTGGACAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAAGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCTTAGTGATGGAGGGACCTATTTGTATTGG
TACCTGCAGAAGCCAGGCCAGCCTCCACAGCTCCTGATCTATGAAGTTTCCAACCGGTTC
TCTGGAGTGCCAGATAGGTTCAGTGGCAGCGGGTCAGGGACAGATTTCACACTGAAAATC
AGCCGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAAGTATGCAGCTTCCG
ATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAAATTAAA

44 Light Chain Protein:
DILMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLLSDGGTYLYWYLQKPGQPPQLLIYEVSNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQSMQLPITFGQGTRLEIK

Antibody U1-50

45 Heavy Chain DNA:

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCGTCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGG
CAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGCACCAAC
TACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGG
GGGGACAGTAACTACGAGGATTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCCTC

46 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGGYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTN
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGGDSNYEDYYYYYGMDVWGQG
TTVTVS

47 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCATCTATTTACATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCTCTTGATCTCTGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCGTCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGAAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACACTTCCCCGATCACCTTCGGCCAA
GGGACACGACTGGAGATTAAA

48 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISIYLHWYQQKPGKAPKLLISAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTIRSLQPEDFATYYCQQSYTSPITFGQGTRLEIK

49 Antibody U1-51
Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCC
CCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGCACCAACTACAAC
CCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGCACCAGTTCTCCCTG
AAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATTCGAGT
TACTATGATAGTAGTGGTTATTACTTATACTACTACGCTATGGACGTCTGGGGCCAAGGG
ACCACGGTCACCGTCTCCTC

50 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTNYN
PSLKSRVTISVDTSKHQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSSYYDSSGYYLYYYAMDVWGQG
TTVTVS

51 Light Chain DNA:
GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACC
ATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCT
TGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTCCTGGGCATCTACCCGG
GAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACC
ATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATTATACTACT
CCTCTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA

52 Light Chain Protein:
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLISWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYTTPLTFGPGTKVDIK

Antibody U1-53
53 Heavy Chain DNA:
GAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTATCTATAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTAGTAGTACCATATACTAC
GCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACTCACTGTAT
CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAGG

GGTGACTTCGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA

54 Heavy Chain Protein:
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYY
ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARDRGDFDAFDIWGQGTMVTVSS

55 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTACCAACTATTTGAATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATATTGCAACATATAACTGTCAACAGTGTGAAAATTTCCCGATCACCTTCGGCCAA
GGGACACGACTGGAGATTAAA

56 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPS
RFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYNCQQCENFPITFGQGTRLEIK

Antibody U1-55

57 Light Chain DNA:
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGTATAGTAATGGATACAAGTATTTGGATTGG
TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC
TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTATTGCATGCAGGCTCTACAAACTCCG
ATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA

58 Light Chain Protein:
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYKYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPITFGQGTRLEIK

Antibody (U1-55.1)

59 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCGTCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAACTGGATCCGG
CAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCAATTACAGTGGGAGCACCAAC
TACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT
CGAGAACTGGAACTTTACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTCTCCTC

60 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYINYSGSTN
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRELELYYYYYGMDVWGQGTT
VTVS

Antibody (U1-57)

61 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCTGAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCGTCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAACTGGATCCGG
CAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCAATTACAGTGGGAGCACCAAC
TACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT
CGAGAACTGGAACTTTACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTCTCCTC

62 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGGYYWNWIRQPPGKGLEWIGYINYSGSTN
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDRELELYYYYYGMDVWGQGTT

VTVS

Antibody U1-57.1

63 Light Chain DNA:
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGTATAGTAATGGATACAAGTATTTGGATTGG
TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCATGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCC
TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTATTGCATGCAGGCTCTACAAACTCCG
ATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA

64 Light Chain Protein:
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYKYLDWYLQKPGQSPQLMIYLGSNRA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPITFGQGTRLEIK

Antibody U1-58

65 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTAT
GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT
CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGCAGCT
CGCCTTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCC
TCA

66 Heavy Chain Protein:
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAARLDYYYGMDVWGQGTTVTVS
S

67 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCTCC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAACAGCTATTTAAATTGGTTTCAGCAGAAGCCA
GGGAAAGCCCCTCAGCTCCTGATCTTTGGTGCATCCGGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAACAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTTCCCCGCTCACCTTCGGCCAA
GGGACACGACTGGAGATTAAA

68 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVSITCRASQSINSYLNWFQQKPGKAPQLLIFGASGLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDFATYYCQQSYSSPLTFGQGTRLEIK

Antibody U1-59

69 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCC
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGCACCAACTACAAC
CCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAAACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTG
AAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAAGTGG
ACCTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCTGGTCACTGTCTCCTCA

70 Heavy Chain Protein:
QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYN
PSLKSRVTISVETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSS

71 Light Chain DNA:
GACATCGAGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACC
ATCAACTGCAGGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAGCTCCAGCAATAGGAACTACTTAGCT
TGGTACCAGCAGAACCCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCTTCTACCCGG

GAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACC
ATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAATATTATAGTACT
CCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

72 Light Chain Protein:
DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTR
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIK

Antibody U1-52

73 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATGGGGAACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTGAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAACTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGAGGG
GGAACTGGAACCAATTACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG
GTCACCGTCTCCTC

74 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWMGNIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSENQFSLKLNSVTAADTAVYYCARGGTGTNYYYYYGMDVWGQGTT
VTVS

75 Light Chain DNA:
GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCTGGGCCACTGGCATCCCA
AACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGCTCACTTTCGGC
GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

76 Light Chain Protein:
EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSWATGIP
NRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIK

Antibody U1-61

77 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGTCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGATGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGAAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT
TCCGAGTCCGAGTATAGCAGCTCGTCGAACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC
ACGGTCACCGTCTCCTC

78 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGVSISSGGYYWSWIRQHPGMGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISEDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSESEYSSSSNYGMDVWGQGT
TVTVS

Antibody U1-61.1

79 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGTCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGATGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGAAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT
TCCGAGTCCGAGTATAGCAGCTCGTCGAACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC

ACGGTCACCGTCTCCTC

80 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGVSISSGGYYWSWIRQHPGMGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISEDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDSESEYSSSSNYGMDVWGQGT
TVTVS

81 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAATCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGACCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAGGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGTATCTGGGACAGATTTCACCCTCACCGTCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTAACCCGCTCACTTTCGGCGGA
GGGACCAAGGTGGAGATCAAA

82 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRITITCRASQTISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQGGVPS
RFSGSVSGTDFTLTVSSLQPEDFATYYCQQSYSNPLTFGGGTKVEIK

Antibody U1-62 (2.9.1)

83 Heavy Chain DNA:
GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCAGAGGTGAAAAAGCCCGGGGAGTCTCTGAAGATC
TCCTGTAAGGGTTCTGGATACAGTTTTACCAGCTACTGGATCGGCTGGGTGCGCCAGATG
CCCGGGAAAGGCCTGGAGTGGATGGGGATCATCTATCCTGGTGACTCTGATACCAGATAC
AGCCCGTCCTTCCAAGGCCAGGTCACCATGTCAGCCGACAAGTCCATCAGTACCGCCTAC
CTGCAGCTGAGCAGCCATGAAGGCCTCGGACACCGCCATGTATTACTGTGCGAGACAGAT
GGCTGGAAACTACGTACATCACGGGTGATCGAGACGTCCTGGGGCCAAGGGACCACGGTC
ACCGTCTCCTC

84 Heavy Chain Protein:
EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRY
SPSFQGQVTMSADKSISTAYLQLSSHEGLGHRHVLLCETDGWKLRTSRVIETSWGQGTTV
TVS

85 Light Chain DNA:
GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTATCAGCATCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA
GACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGTGCAGTTTTGGC
CAGGGGACCAAACTGGAGATCAAA

86 Light Chain Protein:
EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVISIYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPCSFGQGTKLEIK

Antibody U1-2

87 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAGGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCG
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

88 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLRSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTV
SS

89 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGATACCT
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAACAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATGGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

90 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQIPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTINSLQPEDFATYYCLQHNGYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-7

91 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGATACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCG
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

92 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTV
SS

93 Light Chain DNA:
GACTTCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGACATTCGAAATGATTTAGGCTGGTATCGGCAGAAACCT
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

94 Light Chain Protein:
DFQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNDLGWYRQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-9

95 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGATACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAATAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCG
GATTACGATTTTTGGAATGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

96 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISIDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWNGYFDYWGQGTLVTV
SS

97 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGACATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCGGCAGAAACCT
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT

GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAA

98 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNDLGWYRQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-10

99 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTACACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGACTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCA
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

100 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPTQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRLTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTV
SS

101 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAATTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAA

102 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNNYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-12

103 Heavy Chain DNA
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGTTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCC
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

104 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTV
SS

105 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAATTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAA

106 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNNYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1- 13

107 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAG
GACGACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

108 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREDDGMDVWGQGTTVTVSS

109 Light Chain DNA:
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCC
ATTTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGATACAACTATTTGGAATGG
TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCCCCACAGTTCATGATTTATTTGGGGTCTAATCGGGCC
TCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCG
ATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA

110 Light Chain Protein:
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLEWYLQKPGQSPQFMIYLGSNRA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPITFGQGTRLEIK

Antibody U1-14

111 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGTACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGGTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCG
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

112 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQYPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTV
SS

113 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATACTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

114 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNTYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-15

115 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCGTCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGG
CAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCTATTACAGTGGGAGCACCAAC
TACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTC

TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT
GGGGACGTGGATACAGCTATGGTCGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTC
ACCGTCTCCTCA

116 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGGYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTN
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDGDVDTAMVDAFDIWGQGTMV
TVSS

117 Light Chain DNA:
GAAATTGTATTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTTTAAGCGGCAACTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAG
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCATCATCTGTGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA
GACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCACAAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGATAGGTCACCGCTCACTTTCGGC
GGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

118 Light Chain Protein:
EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLSGNYLAWYQQKPGQAPRLIICGASSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKVEIK

Antibody U1-19

119 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGA
GATTACGATTTTTGGAGTGGAGAGTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

120 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGDYDFWSGEFDYWGQGTLVTV
SS

Antibody U1-20

121 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATGACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGGTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT
CAGGGGCAGGACGGATACAGCTATGGTTACGGCTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGC
CAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTC

122 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYDSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYCARDQGQDGYSYGYGYYYGMDVWG
QGTTVTVS

123 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAACTCCTGATCTACGTTGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATATTGCAACATATTACTGTCAACAGTGTGATAATCTCCCTCTCACTTTCGGCGGA
GGGACCAAGGTGGAGATCAAA

124 Light Chain Protein:

124 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYVASNLETGVPS
RFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQCDNLPLTFGGGTKVEIK

Antibody U1-21

125 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGATACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCG
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTC

126 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTV
S

127 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGACATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCGGCAGAAACCT
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCCGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

128 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNDLGWYRQKPGKAPKRLIYAASRLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-22

129 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCC
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

130 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTV
SS

131 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAATGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

132 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQNGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-23

Antibody U1-23

133 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCG
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAATCCTGGTCACCGTC
TCCTC

134 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGILVTV
S

135 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATTTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

136 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-24

137 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGTTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCC
GATTACGATTTTTGGAATGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

138 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWNGYFDYWGQGTLVTV
SS

139 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAATTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAA

140 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNNYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-25

141 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC

TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCC
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

142 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTV
SS

143 Light Chain DNA:
GACATCCAGCTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAATGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

144 Light Chain Protein:
DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQNGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-26

145 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGTACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGGGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTTCTGTGCGAGAGCC
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTTCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTC

146 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQYPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLGSVTAADTAVYFCARADYDFWSGYFDFWGQGTLVTV
S

147 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATGGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

148 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNGYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-27

149 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGTACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGGGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTTCTGTGCGAGAGCC
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTTCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTC

150 Heavy Chain Protein:

QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQYPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLGSVTAADTAVYFCARADYDFWSGYFDFWGQGTLVTV
S

151 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATGGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

152 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNGYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-28

153 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCG
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

154 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDSWGQGTLVTV
SS

155 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGATACCT
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATGGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAA

156 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQIPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNGYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-31

157 Heavy Chain DNA:
CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAACTATGGTATCAGCTGGGTGCGGCAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACGATGGTTACAGAAACTAT
GCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGACCACTGCCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGTT
CAAGACTACGGTGACTACGACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

158 Heavy Chain Protein:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYDGYRNY
AQKLQGRVTMTTDTSTTTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDVQDYGDYDYFDYWGQGTLVTV
SS

159 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC

ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGTTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAACCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGATTCAGGGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCCATCACCTTCGGCCAA
GGGACACGACTGGAGATTAAA

160 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPS
RFRGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPITFGQGTRLEIK

Antibody U1-32

161 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTTACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGACCACCTAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
GCCCTGAAGCTGAACTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCC
GATTACGATTTTTGGAGTGGTTATTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA

162 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPLQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGTTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFALKLNSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTV
SS

163 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAGGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTCAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCTCTCTCACAATCTCCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAAC

164 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAGQGIRNDLGWYQQKPGKAPQRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFSLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-35

165 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATATATTAGTAGTAGTGGTAATAACATATACCAC
GCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTAT
CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAGAGA
TATAGTGGCTACGACGACCCTGATGGTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACC
GTCTCTTCA

166 Heavy Chain Protein:
QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGNNIYH
ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERYSGYDDPDGFDIWGQGTMVT
VSS

167 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTATTTAAGTTGGTTTCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCCACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCTTCA
AGGTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATATTGCAACATATTACTGTCAACAGTATGATAATCCCCCGTGCAGTTTTGGCCAG
GGGACCAAGCTGGAGATCAAA

168 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLSWFQQKPGKAPKLLIHDASNLETGVPS
RFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDNPPCSFGQGTKLEIK

Antibody U1-36
169 Heavy Chain DNA:
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTTATTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGACCACCTAC
TACAATCCGTCCTTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAACTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCC
GATTACGATTTTTGGAGTGGTCACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTCA
170 Heavy Chain Protein:
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGYYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGTTY
YNPSFKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGHFDYWGQGTLVTV
SS
171 Light Chain DNA:
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCGTGGACGTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAA
172 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-37
173 Heavy Chain DNA:
CAGGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGACTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACGATGGTCACACAAACTAT
GCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAACACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTTTATTACTGTGCGAGAGACCCC
CATGACTACAGTAACTACGAGGCTTTTGACTTCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
TCCTC
174 Heavy Chain Protein:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYDGHTNY
AQKLQGRVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDPHDYSNYEAFDFWGQGTLVTV
S

175 Light Chain DNA
atgaggtcccctgctcagctcctggggctcctgctactctggctccgaggtgccagatgtg
acatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccat
cacttgccgggcaagtcagagcattagcagttatttaaattggtatcagcagaaaccaggg
aaagcccctaacctcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaagat
tcagtggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagtctgcaacctgaaga
ttttgcaacttactactgtcaacagagttacagtacccccatcaccttcggccaagggaca
cgactggagattaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatg
agcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagaga
ggccaaagtacagtggaaggtggataacgcc

176 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPITFGQGTRLEIK

Antibody U1-34

177 Heavy Chain DNA:
accatggactggacctggagggtcctttttcttggtggcagcagcaacaggtgcccactccca
ggttcagctggtgcagtctggagctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtctcct
gcaaggcttctggttacacctttaccaactatggtatcagctgggtgcggcaggcccctgga
caagggcttgagtggatgggatggatcagcgcttacgatggttacagaaactatgcacagaa
gctccagggcagagtcaccatgaccacagacacatccacgaccactgcctacatggagctga
ggagcctgagatctgacgacacggccgtgtattactgtgcgagagatgttcaagactacggt
gactacgactactttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcttccac
caagggcccatccgtcttccccctggtgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccg
ccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccg

178 Heavy Chain Protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYDGYRNYA
QKLQGRVTMTTDTSTTTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDVQDYGDYDYFDYWGQGTLVTVSS

179 Light Chain DNA:
cagctcctggggctcctgctactctggctccgaggtgccagatgtgacatccagatgaccc
agtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaag
tcagagcattagcagttatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaagcccctaacctc
ctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaagattcagtggcagtggat
ctgggacagatttcactctcaccatcagcagtctgcaacctgaagattttgcaacttacta
ctgtcaacagagttacagtaccccatcaccttcggccaagggacacgactggagattaaa
cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctg
gaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgcc

180 Light Chain Protein:
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPITFGQGTRLEIK

Antibody U1-1

181 Heavy Chain DNA:
catctgtggttcttcctcctgctggtggcagctcccagatgggtcctgtcccaggtgcagc
tgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacctgcactgt
ctctggtggctccatcaacagtggtgattactactggagctggatccgccagcacccaggg
aagggcctggagtggattgggtacatctattacagtgggagcacctactacaacccgtccc
tcaagagtcgagttaccatatcagtagacacgtctaagaaccagttctccctgaagctgag
ctctgtgactgccgcggacacggccgtgtattactgtgcgagagcagattacgatttttgg
agtggttactttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcctccacca
agggcccatcggtcttcccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggcacaacggc
cctgg

182 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSINSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYY
NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTVSS

183 Light Chain DNA:
atgagggtccctgctcagctcctggggctcctgctgctctggttcccaggtgccaggtgtga
catccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccagggaaa
gcccctaagcgcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcag
cggcagtggatctgggacagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttg
caacttattactgtctacagcataatagttacccgtggacgttcggccaagggaccaaggtg
gaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtt
gaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaag
tacagtggaaggtggataacgc

184 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSR
FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-3
185 Heavy Chain DNA:
tggttcttccttctgctggtggcagctcccagatgggtcctgtcccaggtgcagctgcagga
gtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacctgcactgtctctggtg
gctccatcagcagtggtggttactactggagctggatccgccagcacccagggaagggcctg
gagtggattgggtacatctattacagtgggagcacctactacaacccgtccctcaagagtcg
agttaccatatcagtagacacgtctaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgactg
ccgcggacacggccgtgtattactgtgcgagagatggctatgatagtagtggttattaccac
ggctactttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcctccaccaaggg
cc

186 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYY
NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDGYDSSGYYHGYFDYWGQGTLVT
VSS

187 Light Chain DNA:
H3_130_1N1K
caggtcttcatttctctgttgctctggatctctggtgcctacggggacatcgtgatgaccc
agtctccagactccctggctgtgtctctgggcgagagggccaccatcaactgcaagtccag
ccagagtgttttatacagctccaacaataagaactacttagcttggtaccagcagaaacca
ggacagcctcctaagctgctcatttactgggcatctacccgggaatccggggtccctgacc
gattcagtggcagcgggtctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcaggctga
agatgtggcagtttattactgtcagcaatattatagtactccgctcactttcggcggaggg
accaaggtggagatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctg
atgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccag
agaggccaaagtacagtggaaggtggataacgc

188 Light Chain Protein:
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLTFGGGTKVEIK

Antibody U1-4
H3_133_1N1G1
189 Heavy Chain DNA
ctgtggttcttcctcctgctggtggcagctcccagatgggtcctgtcccaggtgcagctgca
ggagtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacctgcactgtctctg
gtggctccatcagtagtggtgattactactggagctggatccgccagcacccagggaagggc
ctggagtggattgggtacatctattacagtgggagcacctactacaacccgtccctcaagag
tcgagttaccatatcagtagacacgtctaagaaccagttctccctgaagttgagctctgtga
ctgccgcggacacggccgtgtattactgtgcgagagccgattacgatttttggagtggttat
tttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcctccaccaagggcccatc
ggtcttcccccctggcaccctc

190 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYY
NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTVSS

191 Light Chain DNA
H3_133_1N1K
gtgcccgctcagcgcctggggctcctgctgctctggttcccaggtgccaggtgtgacatcc
agatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttg
ccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccagggaaagcc
cctaagcgcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagcg
gcagtggatctgggacagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttgc
aacttattactgtctacagcataataattacccgtggacgttcggccaagggaccaaggtg
gaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagt
tgaaatctggaactg

192 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSRF
SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNNYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-5
193 Heavy Chain DNA:
H3_138_1N1G1
tggttcttccttctgctggtggcagctcccagatgggtcctgtcccaggtgcagctgcagga
gtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacctgcactgtctctggtg
gctccatcagcagtggtgattactactggagctggatccgccagcacccagggaagggcctg
gagtggattgggtacatctattacagtgggagcacctactacaacccgtccctcaagagtcg
agttaccatatcagtagacacgtctaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgactg
ccgcggacacggccgtgtatttctgtgcgagagccgattacgatttttggagtggttatttt
gactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcctccaccaagggcc

194 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYN
PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTVSS

195 Light Chain DNA:
H3_138_1N1K
atgagggtccccgctcagctcctggggctcctgctgctctggttcccaggtgccaggtgtga
catccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccagggaaa

gcccctaagcgcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcag
cggcagtggatctgggacagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttg
caacttattactgtctacagcataatacttacccgtggacgttcggccaagggaccaaggtg
gaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtt
gaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaag
tacagtggaaggtggataacgc

196 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNTYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-6
197 Heavy Chain DNA:
H3_162_1N1G1
tggttcttccttctgctggtggcagctcccagatgggtcctgtcccaggtgcagctgcagga
gtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacctgcactgtctctggtg
gctccatcagcagtggtgattactactggagctggatccgccagcacccagggaagggcctg
gagtggattgggtacatctattacagtgggagcacctactacaacccgtccctcaagagtcg
agttaccatatcagtagacacgtctaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgactg
ccgcggacacggccgtgtatttctgtgcgagagccgattacgatttttggaatggttatttt
gactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcctccaccaagggccc

198 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARADYDFWNGYFDYWGQGTLVTV
SS

199 Light Chain DNA:
H3_162_1N1K
atgagggtccccgctcagctcctggggctcctgctgctctggttcccaggtgccaggtgtga
catccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccagggaaa
gcccctaagcgcctgatctatgctgcttccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcag
cggcagtggatctgggacagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttg
caacttattactgtctacagcataatacttacccgtggacgttcggccaagggaccaaggtg
gaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtt
gaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaag
tacagtggaaggtggataacgcc

200 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNTYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-8
201 Heavy Chain DNA:
H3_174_1N1G1
ttggtggcagcagctacaggcacccacgcccaggtccagctggtacagtctggggctgaggt
gaagaagcctggggcctcagtgaaggtctcctgcaaggtttccggatacaccctcactgaat
tatccatgtactgggtgcgacaggctcctggaaaagggcttgagtggatgggaggttttgat

cctgaagatggtgaaacaatctacgcacagaagttccagggcagagtcaccatgaccgagga
cacatctacagacacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgt
attactgtgcaactgggtggaactacgtctttgactactggggccagggaaccctggtcacc
gtctcctcagcctccaccaagggccc

202 Heavy Chain Protein
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMYWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYA
QKFQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCATGWNYVFDYWGQGTLVTVSS

203 Light Chain DNA:
H3_174_1N1K
ggatccagtggggatattgtgatgactcagtctccactctccctgcccgtcacccctggaga
gccggcctccatctcctgcaggtccagtcagagcctcctgcatagtaatggatacaactatt
tggattggtacctgcagaagccagggcagtctccacagctcctgatctatttggattctcat
cgggcctccggggtccctgacaggttcagtggcagtggatcaggcacagattttacactgaa
aatcagcagagtggaggctgaggatgttggggtttattactgcatgcaagctctacaaactc
cgctcactttcggcggagggaccaaggtggagatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtc
ttcatcttcccgccat

204 Light Chain Protein
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLDSHRA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTKVEIK

Antibody U1-11
205 Heavy Chain DNA:
H3_178_1N1G1
tggttcttccttctgctggtggcagctcccagatgggtcctgtcccaggtgcagctgcagga
gtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacctgcactgtctctggtg
gctccatcagcagtggtgattactactggagctggatccgccagcacccagggaagggcctg
gagtggattgggtacatctattacagtgggagcacctactacaacccgtccctcaagagtcg
agttaccatatcagtagacacgtctaagaaccagttctccctgaagctgagctctgtgactg
ccgcggacacggccgtgtatttctgtgcgagagccgattacgatttttggagtggttatttt
gactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcctccaccaagggcccatcgag
tcttccccctgg

206 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTY
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTV
SS

207 Light Chain DNA:
H3_178_1N1K
atgagggtccccgctcagctcctggggctcctgctgctctggttcccaggtgccaggtgtg
acatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccat
cacttgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccaggg
aaagcccctaagcgcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggt
tcagcggcagtggatctgggacaaaattcactctcactatcagcagcctgcagcctgaaga
ttttgcaacttattactgtctacagcataatacttacccgtggacgttcggccaagggacc
aaggtggaaatcagacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatg
agcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagaga
ggccaaagtacagtggaaggtggataacgcc

208 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVP
SRFSGSGSGTKFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNTYPWTFGQGTKVEIR

Antibody U1-16
209 Heavy Chain DNA:
H3_221_1N1G1
accatgaaacatctgtggttcttcctcctgctggtggcagctcccagatgggtcctgtccc
aggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcac
ctgcactgtctctggtggctccatcagcagtggtgattactactggagctggatccgccag
cacccagggaagggcctggagtggattgggtacatctattacagtgggagcacctactaca
acccgtccctcaagagtcgagttaccatatcagtagacacgtctaagaaccagttctccct
gaagctgagctctgtgactgccgcggacacggccgtgtattactgtgcgagagcggattac
gatttttggagtggttattttgactactggggccagggaatcctggtcaccgtctcctcag
cctccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcaccctcctccaagaacacctctgggggg
cacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcctgg
aactcaggcgccctg

210 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYY
NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGILVTVSS

211 Light Chain DNA:
H3_221_1N1K
atgagggtccccgctcagctcctggggctcctgctgctctggttcccaggtgccaggtgt
gacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcacc
atcacttgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaacca
gggaaagcccctaagcgcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatca
aggttcagcggcagtggatctgggacagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcct
gaagattttgcaacttattactgtctacagcataatagttacccgtggacgttcggccaa
gggaccaaggtggaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcca
tctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctat
cccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcc

212 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPSR
FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-17
213 Heavy Chain DNA:
H3_224_1N1G1
tggttcttccttctgctggtggcagctcccagatgggtcctgtcccaggtgcagctgcagg
agtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacctgcactgtctctgg
tggctccatcagcagtggtgattactactggagctggatccgccagcacccagggaagggc
ctggagtggattggatacatctattacagtgggagcacctactacaattcgtccctcaaga
gtcgagttaccatatcagtagacacgtctaagaaccagttctccctgaagctgagctctgt
gactgccgcggacacggccgtgtattactgtgcgagagcggattacgatttttggagtggt
tattttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcctccaccaagggcc
catcg

214 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYY
NSSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTVSS

215 Light Chain DNA:
H3_224_1N1K
ggtgccaggtgtgacatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggag
acagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatca
gcagaaacctgggaaagcccctaagcgcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggg
gtcccatcaaggttcagcggcagtggatctgggacagaattcactctcacaatcagcagcc
tgcagcctgaagattttgcaacttattactgtctacagcacaatagttacccgtggacgtt
cggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttc
ccgcca

216 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-18
217 Heavy Chain DNA:
H3_227_1N1G1
aggttcttccttctgctggtggcagctcccagatgggtcctgtcccaggtgcagctgcagg
agtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacctgcactgtctctgg
tggctccatcagcagtggtgattactactggagctggatccgccagcacccagggaagggc
ctggagtggattggatacatctattacagtgggagcacctactacaacccgtccctcaaga
gtcgagttaccatatcagtagacacgtctaagaaccagttctccctgaagctgagctctgt
gactgccgcggacacggccgtgtattactgtgcgagagccgattacgatttttggagtggt
tattttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcctccaccaagggcc
catcggtcttcccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctggg
ctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccct

218 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYY
NPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTVSS

219 Light Chain DNA:
H3_227_1N1K
atgagggtccccgctcagctcctggggctcctgctgctctggttcccaggtgccaggtgtga
catccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgccgggcaagtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccagggaaa
gcccctaagcgcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcag
cggcagtggatctgggacagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttg
caacttattactgtctacagcataatagttacccgtggacgttcggccaagggaccaaggtg
gaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtt
gaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaag
tacagtggaaggtggataacg

220 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-33

221 Heavy Chain DNA:
H4_14_1N1G4
ctgtggttcttccttctgctggtggcagctcccagatgggtcctgtcccaggtgcagctgc
aggagtcgggcccaggactggtgaagccttcacagaccctgtccctcacctgcactgtctc
tggtggctccatcagcagtggtgattactactggagctggatccgccagcacccagggaag
ggcctggagtggattgggtacatctattacagtgggagcacctactacaacccgtccctca
agagtcgagttaccatgtcagtagacacgtctaagaaccagttctccctgaagctgagctc
tgtgactgccgcggacacggccgtgtattactgtgcgagagccgattacgatttttggagt
ggtcactttgactgctggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcttccaccaagg
gccccatccgtcttccccc

222 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYY
NPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARADYDFWSGHFDCWGQGTLVTVSS

223 Light Chain DNA:
H4_14_1N1K
atgagggtccccgctcagctcctggggctcctgctgctctggttcccaggtgccaggtgtga
catccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca
cttgccgggcaagtcagggcattagagatgatttaggctggtatcagcagaaaccagggaaa
gcccctaagcgcctgatctatgctgaatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcag
cggcagtggatctgggacagaattcactctcacaatcagcagcctgcagcctgaagattttg
caacttattactgtctacagcatcatagttacccgtggacgttcggccaagggaccaaggtg
gaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcc

224 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRDDLGWYQQKPGKAPKRLIYAESSLQSGVPSR
FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHHSYPWTFGQGTKVEIK

Antibody U1-29

225 Heavy Chain DNA:
H4_107_1N1G4
tggctgagctgggttttcctcgttgctcttttaagaggtgtccagtgtcaggtgcagctgg
tggagtctgggggaggcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtc
tggattcaccttcaatagctatgacatgcactgggtccgccaggctccaggcaaggggctg
gagtgggtggcagttatatggtatgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaagg
gccgattcaccatctctagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcct
gagagccgaggacacggctgtgtattactgtgcgagagaccgcttgtgtactaatggtgta
tgctatgaagactacggtatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcctcag
cttccaccaagggcccatccgtcttcccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagag
cacagccgccctgggc

226 Heavy Chain Protein
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFNSYDMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRLCTNGVCYEDYGMDVWGQGTTV
TVSS

227 Light Chain DNA:
H4_107_1N1K
atgagggtccctgctcagctcctggggctcctgctgctctggctctcaggtgccagatgtga
catccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatca

cttgccaggcgagtcaggacattagcaactatttaaattggtatcagcagaaaccagggaaa
gcccctaaggtcctgatctacgatgcatccaatttggaaacaggggtcccatcaaggttcag
tggaagtggatctgggacagattttactttcaccatcagcagcctgcagcctgaagatgttg
caacatattactgtcaacactatgatactctcccgctcactttcggcggagggaccaaggtg
gagatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtt
gaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaag
tacagtgg

228 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIYDASNLETGVPSR
FSGSGSGTDFTFTISSLQPEDVATYYCQHYDTLPLTFGGGTKVEIK

Antibody U1-30
229 Heavy Chain DNA:
H4_116_1_1N1G4
ggactgtgcaagaacatgaaacacctgtggttcttcctcctgctggtggcagctcccagatg
ggtcctgtcccaggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagcctttacagaccc
tgtccctcacctgcactgtctctggtggctccatcagcagtggtgattactactggagctgg
atccgccagcacccagggaagggcctggagtggattgggtacatctattacagtgggaccac
ctactacaacccgtccctcaagagtcgagttaccatatcagtagacacgtctaagaaccagt
tcgccctgaagctgaactctgtgactgccgcggacacggccgtgtattactgtgcgagagcc
gattacgatttttggagtggttattttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctc
ctcagcttccaccaagggcccatccgtcttccccctgg

230 Heavy Chain Protein
QVQLQESGPGLVKPLQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGTTYY
NPSLKSRVTISVDTSKNQFALKLNSVTAADTAVYYCARADYDFWSGYFDYWGQGTLVTVSS

231 Light Chain DNA:
H4_116_1_1N1K
atgagggtccctgctcagctcctggggctcctgctgctctggttcccaggtgccaggtgtg
acatccagatgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccat
cacttgccgggcaggtcagggcattagaaatgatttaggctggtatcagcagaaaccaggg
aaagcccctcagcgcctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggt
tcagcggcagtggatctgggacagaattctctctcacaatctccagcctgcagcctgaaga
ttttgcaacttattactgtctacagcataatagttacccgtggacgttcggccaagggacc
aaggtggaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatg
agcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagaga
ggccaaagtacagtggaaggtggataacgccttccaatcggg

232 Light Chain Protein
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAGQGIRNDLGWYQQKPGKAPQRLIYAASSLQSGVPSR
FSGSGSGTEFSLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK

【0236】

【化４】

配列表

プライマー（配列番号：233):
CGGGATCCATGTCCTAGCCTAGGGGC

プライマー（配列番号：234):
GCTCTAGATTAATGATGATGATGATGATGTTGTCCTAAA

【０２３７】

【表１２】

CDR配列の表

抗体鎖	Pat. 番号:	CDR1	CDR2	CDR3
重	U1-1	GGSINSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNSYPWT
重	U1-2	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLRS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNGYPWT
重	U1-3	GGSISSGGYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	DGYDSSGYYHGYFDY
軽		KSSQSVLYSSNNKNYLA	WASTRES	QQYYSTPLT
重	U1-4	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNNYPWT
重	U1-5	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNTYPWT
重	U1-6	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWNGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNTYPWT
重	U1-7	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQDIRNDLG	AASSLQS	LQHNSYPWT
重	U1-8	GYTLTELSMY	GFDPEDGETIYAQKFQG	GWNYVFDY
軽		RSSQSLLHSNGYNYLD	LDSHRAS	MQALQTPLT
重	U1-9	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWNGYFDY
軽		RASQDIRNDLG	AASSLQS	LQHNSYPWT
重	U1-10	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNNYPWT
重	U1-11	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNTYPWT
重	U1-12	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNNYPWT
重	U1-13	GGSISSGGYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	EDDGMDV
軽		RSSQSLLHSNGYNYLE	LGSNRAS	MQALQTPIT
重	U1-14	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNTYPWT

重	U1-15	GGSVSSGGYYWS	YIYYSGSTNYNPSLKS	DGDVDTAMVDAFDI
軽		RASQSLSGNYLA	GASSRAT	QQYDRSPLT
重	U1-16	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNSYPWT
重	U1-17	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNSSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNSYPWT
重	U1-18	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNSYPWT
重	U1-19	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	GDYDFWSGEFDY
軽		sequence not available		
重	U1-20	GGSISSGGYYWS	YIYDSGSTYYNPSLKS	DQGQDGYSYGYGYYYGMDV
軽		QASQDISNYLN	VASNLET	QQCDNLPLT
重	U1-21	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQDIRNDLG	AASRLQS	LQHNSYPWT
重	U1-22	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQN	LQHNSYPWT
重	U1-23	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNSYPWT
重	U1-24	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWNGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNNYPWT
重	U1-25	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQN	LQHNSYPWT
重	U1-26	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDF
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNGYPWT
重	U1-27	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDF
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNGYPWT
重	U1-28	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDS
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNGYPWT
重	U1-29	GFTFNSYDMH	VIWYDGSNKYYADSVKG	DRLCTNGVCYEDYGMDV
軽		QASQDISNYLN	DASNLET	QHYDTLPLT
重	U1-30	GGSISSGDYYWS	YIYYSGTTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RAGQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNSYPWT

重	U1-31	GYTFTNYGIS	WISAYDGYRNYAQKLQG	DVQDYGDYDYFDY
軽		RASQSISSYLN	AASSLQS	QQSYSTPIT
重	U1-32	GGSISSGDYYWS	YIYYSGTTYYNPSLKS	ADYDFWSGYFDY
軽		RAGQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNSYPWT
重	U1-33	GGSISSGDYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	ADYDFWSGHFDC
軽		RASQGIRDDLG	AESSLQS	LQHHSYPWT
重	U1-34	GYTFTNYGIS	WISAYDGYRNYAQKLQG	DVQDYGDYDYFDY
軽		RASQSISSYLN	AASSLQS	QQSYSTPIT
重	U1-35	GFTFSDYYMS	YISSSGNNIYHADSVKG	ERYSGYDDPDGFDI
軽		QASQDISNYLS	DASNLET	QQYDNPPCS
重	U1-36	GGSISSGYYYWS	YIYYSGTTYYNPSFKS	ADYDFWSGHFDY
軽		RASQGIRNDLG	AASSLQS	LQHNSYPWT
重	U1-37	GYTFTSYGIS	WISAYDGHTNYAQKLQG	DPHDYSNYEAFDF
軽		RASQSISSYLN	AASSLQS	QQSYSTPIT
重	U1-38	GFSLSTSGVGVG	LIYWNDDKRYSPSLKS	RDEVRGFDY
軽		RSSQSLVYSDGYTYLH	KVSNWDS	MQGAHWPIT
重	U1-39	GFTVSSNYMS	VIYSGGSTYYADSVKG	GQWLDV
軽		RSSQSLLHSNGYNYLD	LGFHRAS	RQALQTPLT
重	U1-40	GGSISSGGYYWS	YIYSSGSTYYNPSLKS	DRELELYYYYYGMDV
軽		RSSQSLLYSNGYNYLD	LGSNRAS	MQALQTPLT
重	U1-41	GGSISSGGYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	DRELEGYSNYYGVDV
軽		RASQAISNYLN	AASSLQS	QQNNSLPIT
重	U1-42	GYSFTSYWIG	IIYPGDSDTRYSPSFQG	HENYGDYNY
軽		RASQSIRSYLN	AASSLQS	QQSNGSPLT
重	U1-43	GGSISSGGYYWS	YIYYSGSTYYNPSLRS	DREREWDDYGDPQGMDV

軽		RASQSISSYLH	AASSLQS	QQSYSNPLT
重	U1-44	GYSFTSYWIG	IIWPGDSDTIYSPSFQG	HENYGDYNY
軽		RASQSIRSYLN	AASSLQS	QQSISSPLT
重	U1-45	GYTFTSYDIN	WMNPNSGDTGYAQVFQG	FGDLPYDYSYYEWFDP
軽		RASQSISSYLN	AASSLQS	QQSYSTPLT
重	U1-46	GDSVSSNSAAWN	RTYYRSKWYNDYAVSVKS	DLYDFWSGYPYYYGMDV
軽		配列入手不能		
重	U1-47	GDSVSSNSAAWN	RTYYRSKWYNDYAVSVKS	DYYGSGSFYYYYGMDV
軽		RASQSISSYLN	AASNLQS	QQSYSTPRT
重	U1-48	GGSISSYYWS	HIYTSGSTNYNPSLKS	EAIFGVGPYYYYGMDV
軽		配列入手不能		
重	U1-49	GYTFTGYYMH	WINPNIGGTNCAQKFQG	GGRYSSSWSYYYYGMDV
軽		KSSQSLLLSDGGTYLY	EVSNRFS	MQSMQLPIT
重	U1-50	GGSVSSGGYYWS	YIYYSGSTNYNPSLKS	GGDSNYEDYYYYYGMDV
軽		RASQSISIYLH	AASSLQS	QQSYTSPIT
重	U1-51	GGSISSYYWS	YIYYSGSTNYNPSLKS	DSSYYDSSGYYLYYYAMDV
軽		KSSQSVLYSSNNKNYLA	WASTRES	QQYYTTPLT
重	U1-52	GGSISSGGYYWS	NIYYSGSTYYNPSLKS	GGTGTNYYYYYGMDV
軽		RASQSVSSSYLA	GASSWAT	QQYGSSPLT
重	U1-53	GFTFSIYSMN	YISSSSSTIYYADSVKG	DRGDFDAFDI
軽		QASQDITNYLN	DASNLET	QQCENFPIT
重	U1-55.1	GGSVSSGGYYWN	YINYSGSTNYNPSLKS	DRELELYYYYYGMDV
軽		U1-55と同一		
重	U1-55	U1-55.1と同一		
軽		RSSQSLLYSNGYKYLD	LGSNRAS	MQALQTPIT
重	U1-57.1	U1-57と同一		

軽		RSSQSLLYSNGYKYLD	LGSNRAS	MQALQTPIT
重	U1-57	GGSVSSGGYYWN	YINYSGSTNYNPSLKS	DRELELYYYYYGMDV
軽		U1-57.1と同一		
重	U1-58	GFTFSSYGMH	VIWYDGSNKYYADSVKG	AARLDYYYGMDV
軽		RASQSINSYLN	GASGLQS	QQSYSSPLT
重	U1-59	GGSFSGYYWS	EINHSGSTNYNPSLKS	DKWTWYFDL
軽		RSSQSVLYSSSNRNYLA	WASTRES	QQYYSTPRT
重	U1-61.1	GVSISSGGYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	DSESEYSSSSNYGMDV
軽		RASQTISSYLN	AASSLQG	QQSYSNPLT
重	U1-61	GVSISSGGYYWS	YIYYSGSTYYNPSLKS	DSESEYSSSSNYGMDV
軽		U1-61.1と同一		
重	U1-62	GYSFTSYWIG	IIYPGDSDTRYSPSFQG	QMAGNYYYGMDV
軽		RASQSVISIYLA	GASSRAT	QQYGSSPCS

【図１】

Fig. 1

細胞株	組織	発現レベル
Hs578T	乳房	++
T47D	乳房	++
SKBr3	乳房	+++
ZR 75-1	乳房	++
MDA-MB-435s	乳房	+++
MCF-7	乳房	++
BT474	乳房	+++
MDA-MB 453	乳房	+++
MDA-MB 361	乳房	++
HCT116	大腸	+
HT29	大腸	++
LoVo		+
CaCo-2	大腸	+
SW480	大腸	++
A431	類上皮	+
HT1080	繊維肉腫	O/+
CaKi-1	腎臓	O
CaKi-2	腎臓	O
Calu6	肺	O
A549	肺	O
M19	悪性黒色腫	++
M14	悪性黒色腫	+++

細胞株	組織	発現レベル
RPMI-7951	悪性黒色腫	O/+
MelJuso	悪性黒色腫	++
MelGerlach	悪性黒色腫	++
C32	悪性黒色腫	+++
HT144	悪性黒色腫	+++
SK-Mel2	悪性黒色腫	+++
MALME3	悪性黒色腫	+++
Hs294T	悪性黒色腫	+++
A375p	悪性黒色腫	+++
SK-Mel3	悪性黒色腫	+++
SK-Mel5	悪性黒色腫	++
KB	上咽頭	+
SCC9	扁平上皮細胞癌	+
SKOV3	卵巣	+
Capan-1	膵臓	+
Capan-2	膵臓	+
Bx-PC-3	膵臓	+
LNCap	前立腺	++
DU145	前立腺	+
PC-3	前立腺	+
BM1604	前立腺	++
TSU	前立腺	+

O=発現なし；+=弱い；++=中程度；+++=強い

【図２】

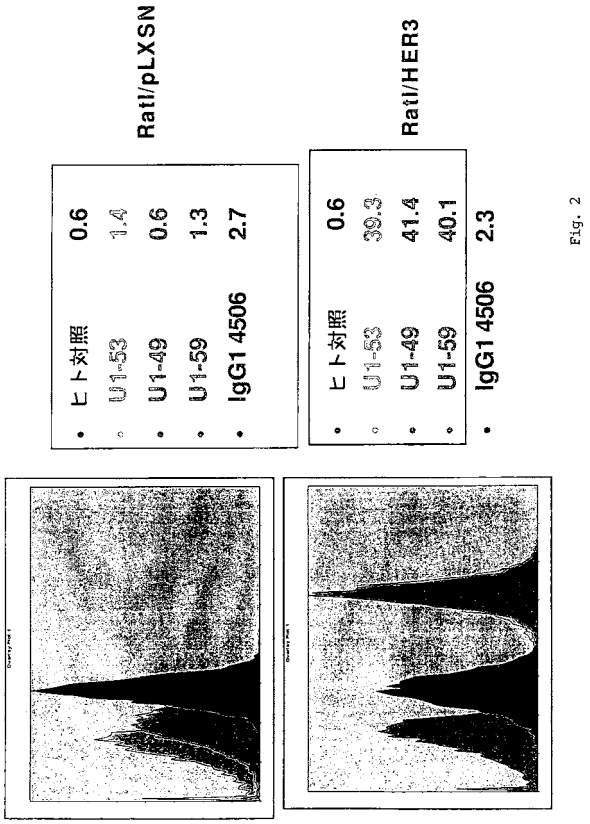


Fig. 2

【図３】

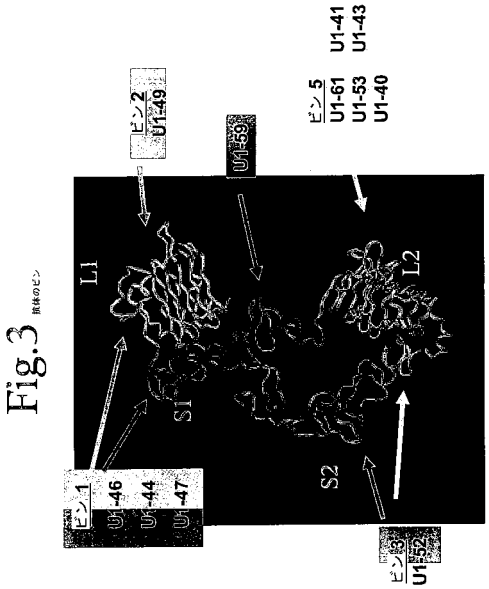


Fig.3 抗体のピン

【図４】

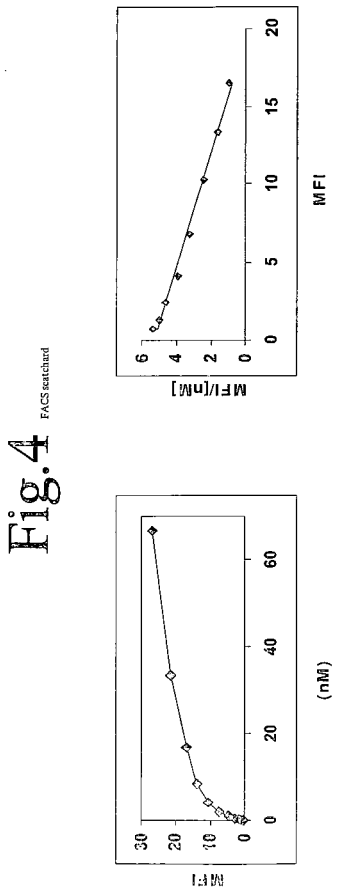
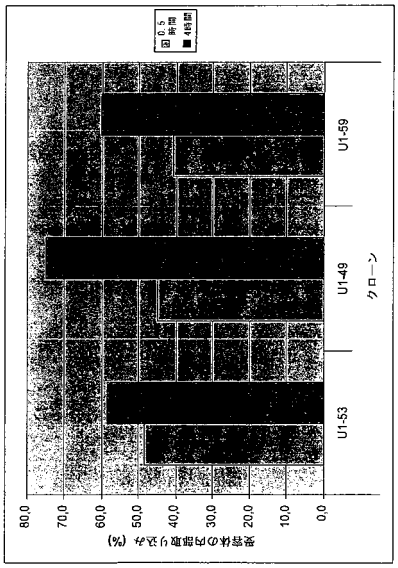


Fig.4 FACS scatchard

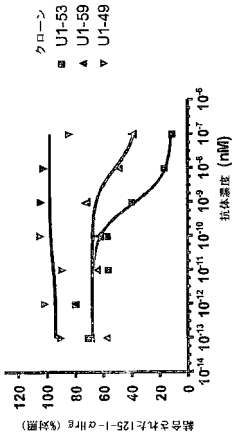
【図５】

Fig. 5 内部取り込み



【図６ａ】

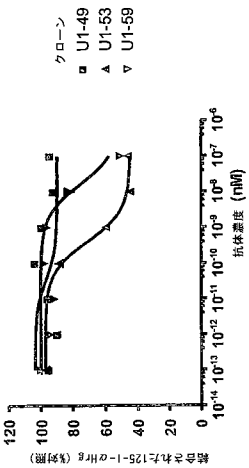
Fig. 6a ERG ブロッキング



クローン	EC50 (nM)
U1-59	9,65
U1-49	-
U1-53	0,71

【図６ｂ】

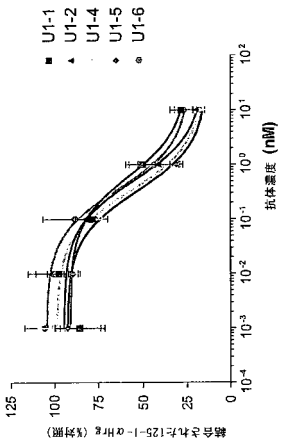
Fig. 6b ERG ブロッキング



クローン	EC50 (nM)
U1-59	32,1
U1-49	-
U1-53	0,49

【図６ｃ】

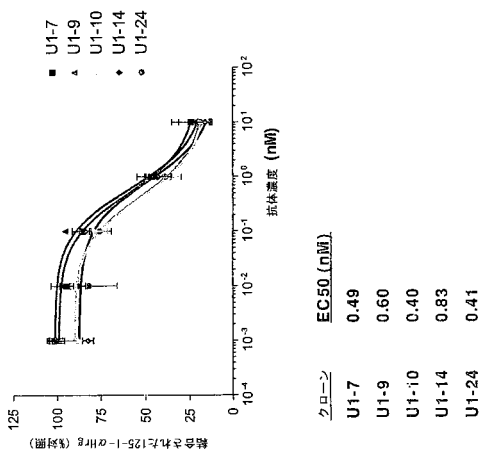
Fig. 6c



クローン	EC50 (nM)
U1-1	0.61
U1-2	0.51
U1-4	0.32
U1-5	0.33
U1-6	0.35

【図６ｄ】

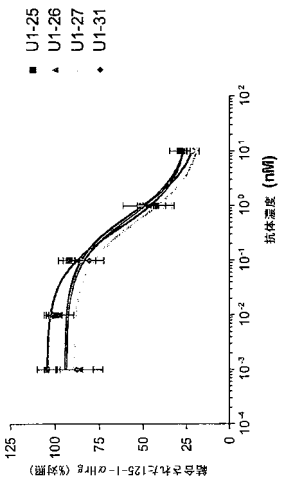
Fig. 6d



クローン	EC50 (nM)
U1-7	0.49
U1-9	0.60
U1-i0	0.40
U1-14	0.83
U1-24	0.41

【図６ｅ】

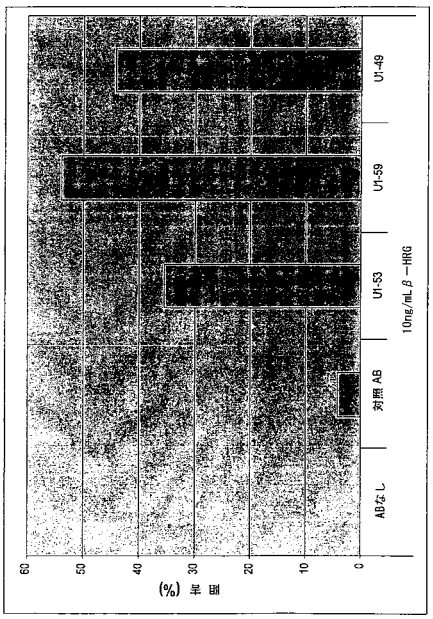
Fig. 6e



クローン	EC50 (nM)
U1-25	0.38
U1-26	0.60
U1-27	0.56
U1-31	0.77

【図７ａ】

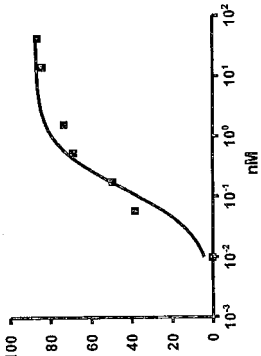
Fig. 7a HER3 チロシンリン酸化



【図７ｂ】

Fig. 7b HER3 チロシンリン酸化

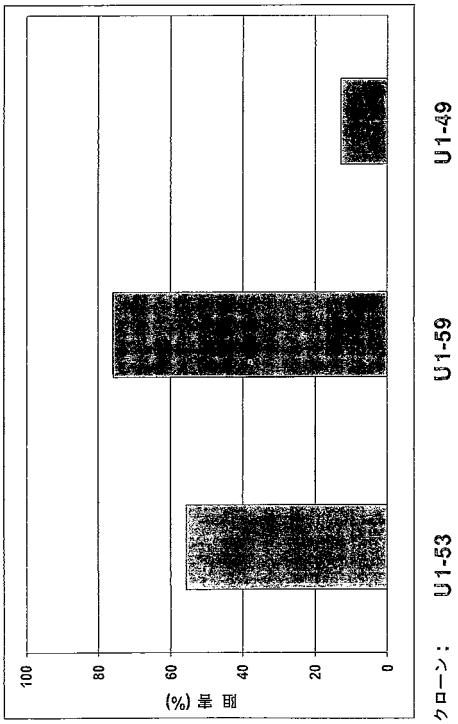
精製されたHER3抗体（クローンU1-53）による、β-HRGによって誘導された
HER3リン酸化の阻害



EC50 | 0.1353

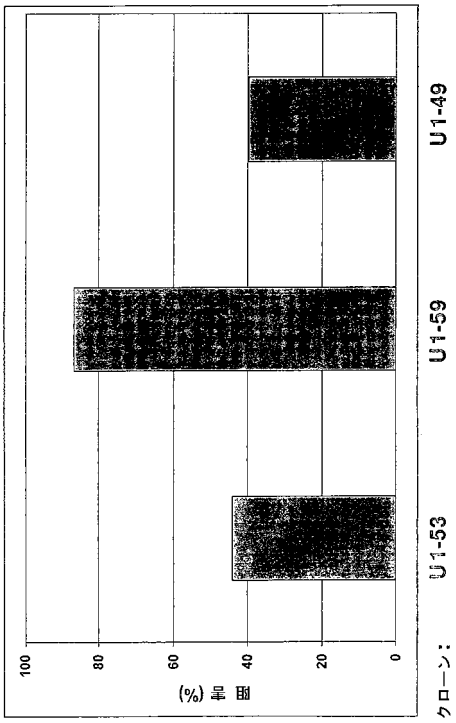
【図８】

Fig. 8 MAP キナーゼ



【図９】

Fig. 9 AKT



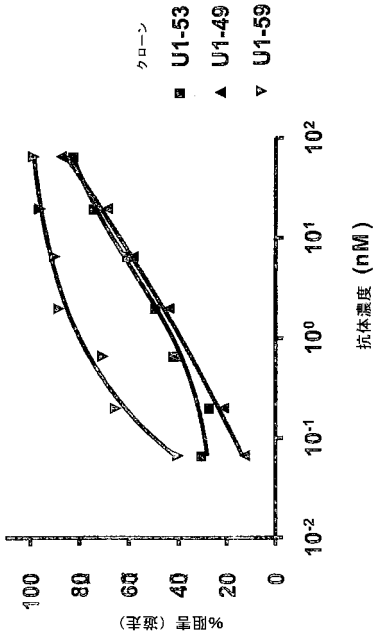
【図１０】

Fig. 10 増殖



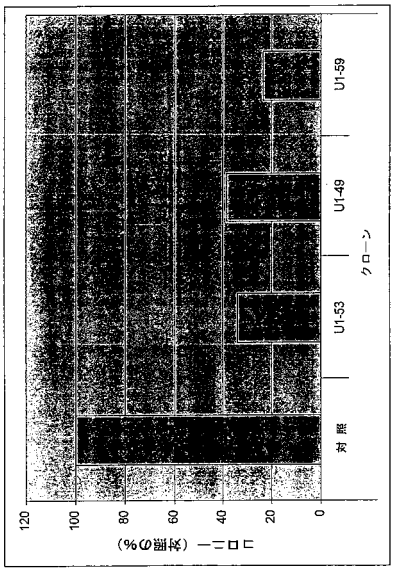
【図１１】

Fig. 11 遊走



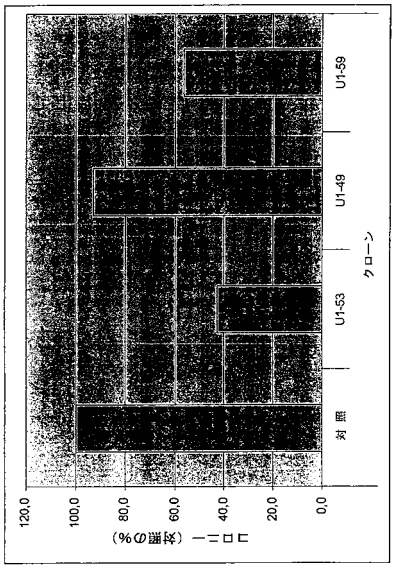
【図１２ａ】

Fig. 12a 軟寒天 MB361



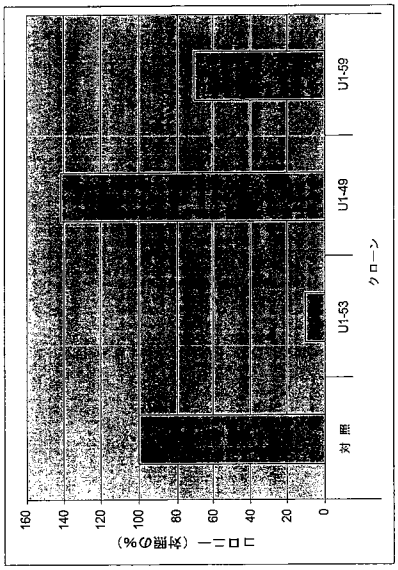
【図１２ｂ】

Fig. 12b 軟寒天 NCI



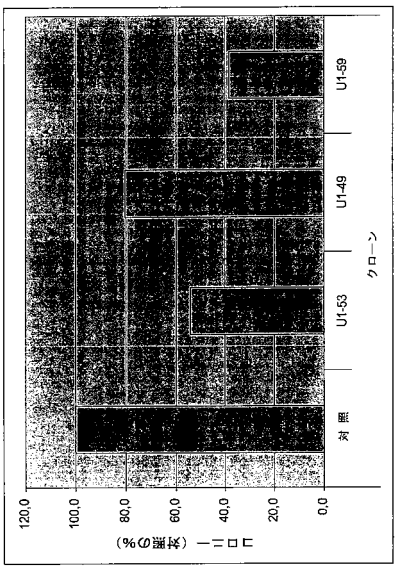
【図１２ｃ】

Fig. 12c 軟寒天 MKN-28



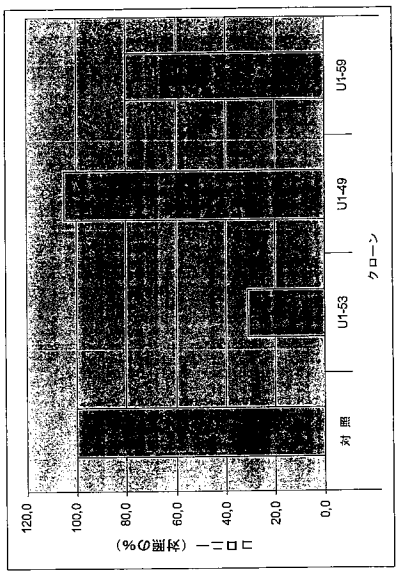
【図１２ｄ】

Fig. 12d 軟寒天 HT-144



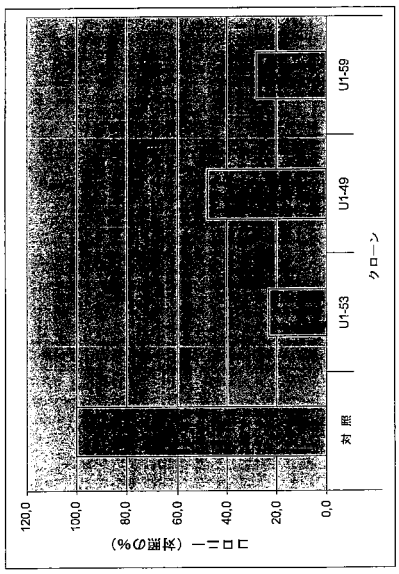
【図１２ｅ】

Fig. 12e 軟寒天 Stov-3



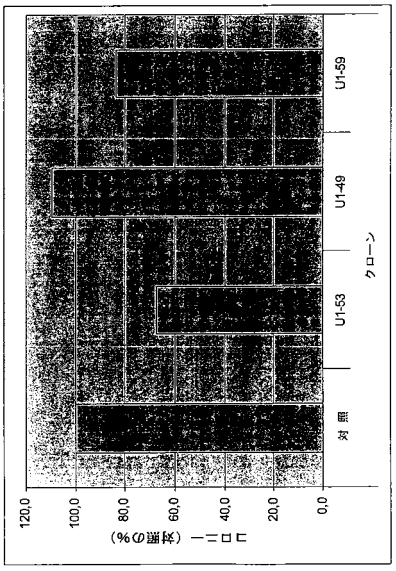
【図１２ｆ】

Fig. 12f 軟寒天 PPC1



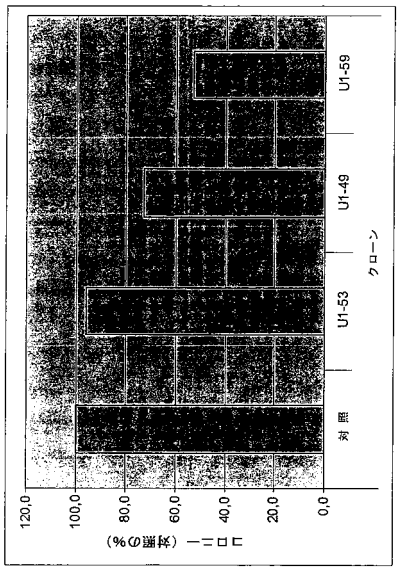
【図１２ｇ】

Fig. 12g 軟寒天 BX-PC3



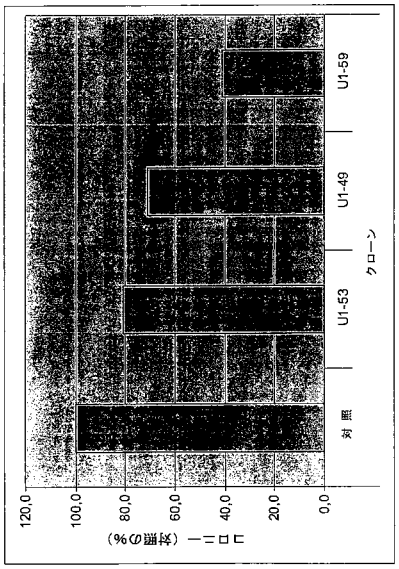
【図１２ｈ】

Fig. 12h 軟寒天 A549



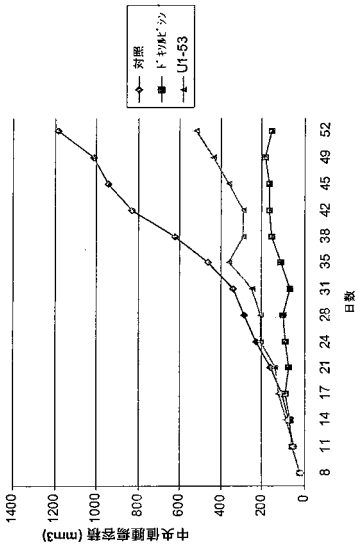
【図１２ｉ】

Fig. 12i 軟寒天懸上皮



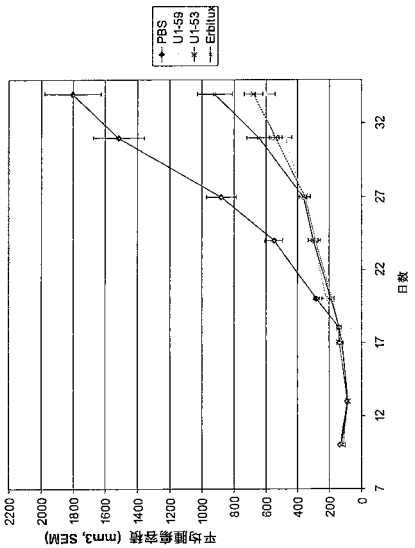
【図１３】

Fig. 13 インビボT47D



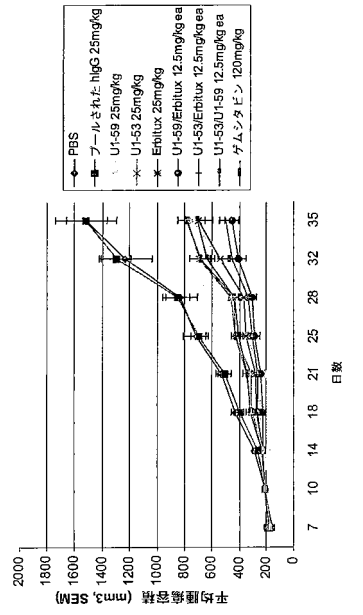
【図１４】

Fig. 14 BxPC3



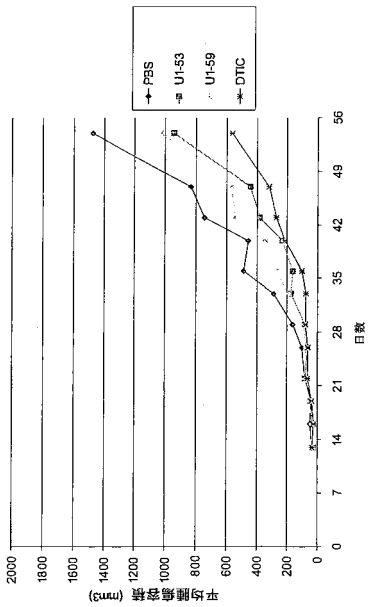
【図１５】

Fig. 15 BxPC3 組み合わせ



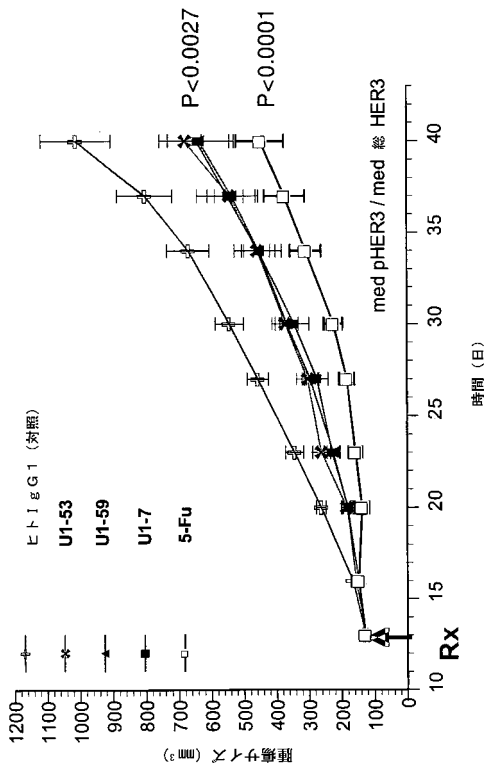
【図１６】

Fig. 16



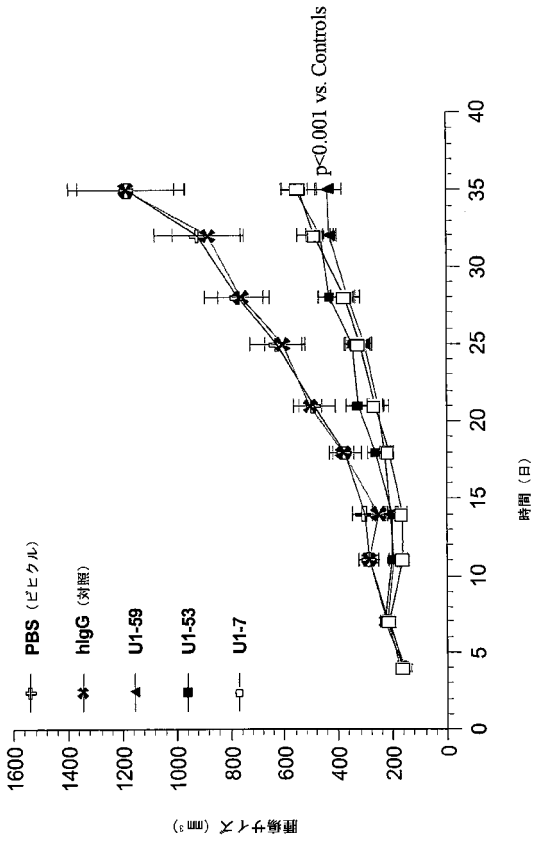
【図１７】

Fig. 17



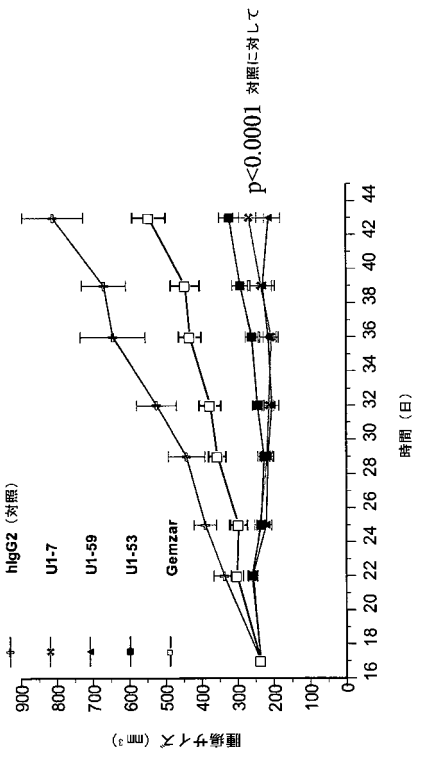
【図１８】

Fig. 18



【図１９】

Fig. 19



【図２０】

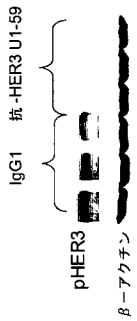


Fig. 20

【配列表】
2013056884000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成24年11月1日(2012.11.1)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＨＥＲ－３に結合する単離された結合タンパク質であり、前記結合タンパク質が、
（ａ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ１；（ｂ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ２；並びに（ｃ）配列番号２、６、１０、１４、１８、２２、２６、３０、３４、３６、４０、４２、４６、５０、５４、６０

、６２、６６、７０、７４、７８、８０、８４、８８、９２、９６、１００、１０４、１０８、１１２、１１６、１２０、１２２、１２６、１３０、１３４、１３８、１４２、１４６、１５０、１５４、１５８、１６２、１６６、１７０、１７４、１７８、１８２、１８６、１９０、１９４、１９８、２０２、２０６、２１０、２１４、２１８、２２２、２２６及び２３０に示されているＣＤＲＨ３からなる群から選択されるＣＤＲの少なくとも１つを含む重鎖アミノ酸配列、並びに

（ｄ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ１；（ｅ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ２；並びに（ｆ）配列番号４、８、１２、１６、２０、２４、２８、３２、３８、４４、４８、５２、５６、５８、６４、６８、７２、７６、８２、８６、９０、９４、９８、１０２、１０６、１１０、１１４、１１８、１２４、１２８、１３２、１３６、１４０、１４４、１４８、１５２、１５６、１６０、１６４、１６８、１７２、１７６、１８０、１８４、１８８、１９２、１９６、２００、２０４、２０８、２１２、２１６、２２０、２２４、２２８及び２３２に示されているＣＤＲＬ３からなる群から選択されるＣＤＲの少なくとも１つを含む軽鎖アミノ酸配列を含む、タンパク質。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*35/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/04		
Ａ６１Ｋ	*38/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	37/02		
Ｇ０１Ｎ	*33/574*	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/574	Ａ	

(74)代理人 100140523
弁理士 渡邉 千尋
(74)代理人 100103920
弁理士 大崎 勝真
(72)発明者 マイク・ロテ
ドイツ国、８２１５２・クライリング、エリーゼシユトラーセ・４
(72)発明者 マルテイーン・トレーダー
ドイツ国、８２１５２・マルテインスライド、グロスハーダーナーシユトラーセ・７
(72)発明者 スーザン・ハートマン
ドイツ国、８５５７９・ノイビベルク、イルムシユトラーセ・３
(72)発明者 ダン・フリーマン
アメリカ合衆国、カリフオルニア・９１３２０－１７９９、サウザンド・オークス、ワン・アムジエン・センター・ドライブ、アムジエン・インコーポレーテツド
(72)発明者 ボブ・ラデインスキー
アメリカ合衆国、カリフオルニア・９１３２０－１７９９、サウザンド・オークス、ワン・アムジエン・センター・ドライブ、アムジエン・インコーポレーテツド
(72)発明者 エリツク・ボルヘス
オーストリア国、アー２３４４・マリア・エンツエルスドルフ、ローズグレツグガツセ・２５

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA53 CA04 DA01 DA02 DA05 DA11 EA04 FA01
GA11 HA03 HA11
4C084 AA07 BA02 BA08 BA22 BA23 NA14 ZB212 ZB262
4H045 AA11 AA20 AA30 DA76 EA20 EA50 FA74

【外国語明細書】
2013056884000001.pdf