(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2012-162572
(P2012-162572A)
(43)公開日　平成24年8月30日(2012.8.30)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	N	4C085
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	105	4H045
A61P 9/10	(2006.01)	A61P	9/10	101	
A61P 31/18	(2006.01)	A61P	31/18		
C07K 16/24	(2006.01)	A61P	43/00	121	

審査請求 有　請求項の数 1　ＯＬ　外国語出願　（全 186 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2012-126356 (P2012-126356)
(22)出願日　平成24年6月1日 (2012.6.1)
(62)分割の表示　特願2008-524146 (P2008-524146)の分割
原出願日　平成18年7月27日 (2006.7.27)
(31)優先権主張番号　60/703,191
(32)優先日　平成17年7月28日 (2005.7.28)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　504389991
ノバルティス　アーゲー
スイス国　バーゼル　リヒトシュトラーセ　３５
(71)出願人　500570793
ゾーマ　テクノロジー　リミテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４７１０，　バークレー，　セブンス　ストリート　２９１０
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】Ｍ－ＣＳＦに対する抗体の使用

(57)【要約】
【課題】アテローム性動脈硬化症およびＨＩＶを含むマクロファージ関連疾患を治療するためにＭ－ＣＳＦ抗体を使用する方法の提供。
【解決手段】本発明の１つの実施形態では、それぞれ配列番号２および４に示す重鎖および軽鎖アミノ酸配列を含むモノクローナル抗体ＲＸ１と、Ｍ－ＣＳＦへの結合に関して７５％以上競合する非マウス抗体を、マクロファージ関連疾患を有する被験体に投与することを含む、マクロファージ関連疾患を治療する方法が提供される。もう１つの実施形態では、上記非マウス抗体は、モノクローナル抗体ＲＸ１と同じＭ－ＣＳＦのエピトープに特異的に結合する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
本願明細書に記載された発明。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
アテローム性動脈硬化症およびＨＩＶを含むマクロファージ関連疾患を治療するためにＭ－ＣＳＦ抗体を使用する方法を提供する。
【背景技術】
【０００２】
（発明の背景）
マクロファージコロニー刺激因子（Ｍ－ＣＳＦ）としても知られる、コロニー刺激因子（ＣＳＦ－１）は、マクロファージの産生および増殖を刺激する。マクロファージはじゅく状硬化過程の周知のメディエイターであり、初期病変内に移動して脂質を取り込むことにより閉塞性プラークの形成に寄与する。それによって生じる、心臓、脳および四肢に供給する動脈を含む血管の狭窄は、狭心症および血管閉塞の他の症状を引き起こす。マクロファージはまた、安定なプラークを不安定にさせるプロテアーゼおよび他の生物活性分子を分泌することにより、不安定プラークの形成にも寄与し得る。不安定プラークは、心筋梗塞または発作を生じさせる、血管の完全な閉塞を引き起こし得る血液凝固の引き金を引く原因的役割を果たす。最後に、マクロファージはまた、血管形成術後の再狭窄を導く過増殖性修復過程においても役割を果たし得る。数多くの使用可能な治療法にもかかわらず、アテローム硬化性血管疾患およびその関連症状と損傷結果のためのより有効な予防および治療戦略に対する大きな医学的需要がなおも存在する。そこで、そのような疾患を予防または治療するための新しい薬剤および方法を同定することが当技術分野において求められている。
【０００３】
マクロファージコロニー刺激因子（Ｍ－ＣＳＦ）は、一部にはＣＤ４およびＣＣＲ５の発現を上昇させることによって（非特許文献１）、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）による感染に対するマクロファージの感受性を高める。インビトロでＨＩＶ－１に感染させたヒト単球由来マクロファージ（ＭＤＭ）は、ウイルス複製と平行する速度で、感染の拡大増強を導き得るＭ－ＣＳＦを内因的に産生する。試験は、Ｍ－ＣＳＦがＨＩＶ複製を維持するように自己分泌／パラ分泌的に機能し得ること、およびＭ－ＣＳＦ活性の阻害剤はＨＩＶ－１複製を劇的に低下させることを示唆する（非特許文献２）。これらの結果は、Ｍ－ＣＳＦについての生物学的拮抗物質が、マクロファージにおけるウイルス複製をブロックし、感染マクロファージのＨＩＶレザバーとしての確立と維持を妨げることによってＨＩＶ－１の拡大を阻害するための新規戦略であり得ることを示唆する。
【０００４】
数多くの使用可能な治療法にもかかわらず、ＨＩＶ感染およびその関連合併症のためのより有効な治療戦略に対する大きな医学的需要がなおも存在する。そこで、そのような疾患を予防または治療するための新しい薬剤および方法を同定することが当技術分野において求められている。
【先行技術文献】
【非特許文献】
【０００５】
【非特許文献１】Ｋｕｔｚａ，Ｊ．ら、ＡＩＤＳ Ｒｅｓ Ｈｕｍ Ｒｅｔｒｏｖｉｒｕｓｅｓ，（２００２）１８（９）：６１９－２５
【非特許文献２】Ｋｕｔｚａ，Ｊ．ら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ，（２０００）１６４（９）：４９５５－６０
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】

【０００６】
発明の要旨
本発明の物質および方法は、当技術分野における上記および他の関連する需要を満たすものである。本発明の１つの実施形態では、それぞれ配列番号２および４に示す重鎖および軽鎖アミノ酸配列を含むモノクローナル抗体ＲＸ１と、Ｍ－ＣＳＦへの結合に関して７５％以上競合する非マウス抗体を、マクロファージ関連疾患を有する被験体に投与することを含む、マクロファージ関連疾患を治療する方法が提供される。もう１つの実施形態では、上記非マウス抗体は、モノクローナル抗体ＲＸ１と同じＭ－ＣＳＦのエピトープに特異的に結合する。本発明に従って治療されるマクロファージ関連疾患は、たとえばアテローム硬化性疾患またはＨＩＶ感染に関連する状態であり得る。しかし、本発明に従って治療されるマクロファージ関連疾患は、マクロファージ活性が病理に寄与するいかなる疾患状態を治療するためにも有用であると考えられる。
【０００７】
本発明の例示的実施形態では、非マウス抗体は、配列番号１２０または１２１の少なくとも４個連続する残基を含むＭ－ＣＳＦのエピトープに結合する。他の例示的実施形態では、非マウス抗体は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト遺伝子操作抗体（ｈｕｍａｎ　ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）、ヒト抗体、一本鎖抗体またはＩｇＧ抗体である。
【０００８】
本発明の治療法において有用な非マウス抗体は、配列番号９のＭ－ＣＳＦに関して、たとえば少なくとも10^{-7}Ｍまたはそれ以上、少なくとも10^{-8}Ｍまたはそれ以上、または少なくとも10^{-9}Ｍまたは10^{-10}Ｍまたはそれ以上の親和性K_d（解離平衡定数）を保持し得る。例示的実施形態では、非マウス抗体は、配列番号２４と９０％同一であるアミノ酸配列を含むか、または配列番号２４を含む。本発明の他の例示的実施形態では、非マウス抗体は、（ａ）配列番号１８、２１、２４、２９、３２および３６；または（ｂ）配列番号１８、２１、２４、３２、３６およびＱＡＳＱＳＩＧＴＳＩＨ（配列番号＿）の少なくとも１、少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５または全部を含む。
【０００９】
上記実施形態のいずれかの非マウス抗体は、５Ｈ４からの配列番号１６、１９、２２、２７、３０または３４；ＭＣ１からの配列番号１７、２０、２３、２８、３１または３５；ＭＣ３からの配列番号１８、２１、２５、２９、３２または３７；または配列番号１８、２１、２６、２９、３３または３８に示すコンセンサスＣＤＲなどの、もう１つ別の抗Ｍ－ＣＳＦ抗体からの１またはそれ以上のＣＤＲをさらに含み得る。他の例示的実施形態では、非マウス抗体は、ＣＤＲ内の少なくとも１個のアミノ酸がもう１つ別の抗Ｍ－ＣＳＦ抗体の対応するＣＤＲの対応する残基によって置換されているＣＤＲを含む。
【００１０】
もう１つの例示的実施形態では、非マウス抗体は、配列番号４に示すアミノ酸配列と少なくとも６５％相同である可変軽鎖アミノ酸配列、および／または配列番号２に示すアミノ酸配列と少なくとも６５％相同である可変重鎖アミノ酸配列を含む。
【００１１】
上述した実施形態のいずれかでは、非マウス抗体は、ヒト抗体配列の１個の定常領域およびヒト抗体配列の１またはそれ以上の重および軽鎖可変フレームワーク領域を含み得る。例示的ヒト抗体配列は、個々のヒト配列、ヒトコンセンサス配列、個々のヒト生殖細胞系配列またはヒトコンセンサス生殖細胞系配列を含む。例示的ヒト抗体配列は、Ｋａｂａｔ，ＮＣＢＩ　Ｉｇ　Ｂｌａｓｔ，ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｉｇｂｌａｓｔ／ｓｈｏｗＧｅｒｍｌｉｎｅ．ｃｇｉ，
Ｋａｂａｔデータベースｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｂｉｏｉｎｆ．ｏｒｇ．ｕｋ／ａｂｓ／ｓｅｑｔｅｓｔ．ｈｔｍｌ，
Ｋａｂａｔ　Ｒｅｌｅａｓｅ　５．０（１９９２）についてのＦＴＰサイト　ｆｔｐ：／

／ｆｔｐ．ｎｃｂｉ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｒｅｐｏｓｉｔｏｒｙ／ｋａｂａｔ／Ｒｅｌ５．０／，
ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓデータベース（Ｍｏｎｔｐｅｌｌｉｅｒ Ｆｒａｎｃｅ）ｈｔｔｐ：／／ｉｍｇｔ．ｃｎｕｓｃ．ｆｒ：８１０４／，
Ｖ－Ｂａｓｅ ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｍｒｃ－ ｃｐｅ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／ＬＩＳＴ．ｐｈｐ？ｍｅｎｕ＝９０１，
Ｚｕｒｉｃｈ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｕｎｉｚｈ．ｃｈ／～ａｎｔｉｂｏｄｙ／Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ／ｉｎｄｅｘ．ｈｔｍｌ，
Ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｈｕｍａｎ Ｈｏｍｏｌｏｇｙ Ｐｒｏｊｅｃｔ（ＴＡＨＨＰ） ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｐａｔｈ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／～ｍｒｃ７／ｈｕｍａｎｉｓａｔｉｏｎ／ＴＡＨＨＰ．ｈｔｍｌ，
Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｄｏｍａｉｎｓ ｈｔｔｐ：／／ｈｏｗ．ｔｏ／ＡｎａｌｙｓｅＡｎｔｉｂｏｄｉｅｓ／，
Ｈｕｍａｎｉｚａｔｉｏｎ ｂｙ ｄｅｓｉｇｎ ｈｔｔｐ：／／ｐｅｏｐｌｅ．ｃｒｙｓｔ．ｂｂｋ．ａｃ．ｕｋ／～ｕｂｃｇ０７ｓ／，
Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｒｅｓｏｕｒｃｅｓ ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ａｎｔｉｂｏｄｙｒｅｓｏｕｒｃｅ．ｃｏｍ／ｅｄｕｃａｔｉｏｎａｌ．ｈｔｍｌ，
Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（ｂｙ ＴＴ Ｗｕ），Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓに認められる。上述した抗体のいずれかは、場合により抗体依存性細胞毒性または補体依存性細胞毒性活性を低下させるＩｇＧ１定常領域内の突然変異を含む、ＩｇＧ１定常領域のフラグメントを含み得る。あるいは、上述した抗体のいずれかは、場合により半抗体（ｈａｌｆ－ａｎｔｉｂｏｄｙ）の形成を低下させるＩｇＧ４定常領域内の突然変異を含む、ＩｇＧ４定常領域のフラグメントを含み得る。

【００１２】

本発明の他の例示的実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列

【００１３】

【化１５】

XVXLXEXGXXXXXXXXXXLXLXCXVXDYSITSDYAWNWIXQXXXXXLXWMGYISY
SGSTSXNXXLXXXIXIXRXXXXXXFXLXLXXVXXXDXAXYYCASFDYAHAMDYW
GXGTXVXVXX,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］を含む重鎖可変領域を含む。１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列

【００１４】

【化１６】

DVXLXEXGPXXVXPXXXLXLXCXVTDYSITSDYAWNWIRQXPXXKLEWMGYISYS
GSTSYNPSLKXRIXIXRXTXXNXFXLXLXXVXXXDXATYYCASFDYAHAMDYWGX
GTXVXVXX,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］を含む重鎖可変領域を含む。もう１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列

【００１５】

【化１７】

XVQLQESGPGLVKPSQXLSLTCTVXDYSITSDYAWNWIRQFPGXXLEWMGYISYSGS
TSYNPSLKSRIXIXRDTSKNQFXLQLNSVTXXDTAXYYCASFDYAHAMDYWGQGTX
VTVSS,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］を含む重鎖可変領域を含む。さらにもう１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列

【００１６】
【化１８】
DVQLQESGPGLVKPSQXLSLTCTVTDYSITSDYAWNWIRQFPGXKLEWMGYISYSGS
TSYNPSLKSRIXIXRDTSKNQFXLQLNSVTXXDTATYYCASFDYAHAMDYWGQGTX
VTVSS,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］を含む重鎖可変領域を含む。もう１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列
【００１７】
【化１９】
DVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTDYSITSDYAWNWIRQFPGKKLEWMGYISYSGS
TSYNPSLKSRITISRDTSKNQFSLQLNSVTAADTATYYCASFDYAHAMDYWGQGTTV
TVSS.

を含む重鎖可変領域を含む。もう１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列
【００１８】
【化２０】
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSDYSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGS
TSYNPSLKSRITISRDTSKNQFSLQLNSVTAADTAVYYCASFDYAHAMDYWGQGTT
VTVSS.

を含む重鎖可変領域を含む。
【００１９】
他の例示的実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列
【００２０】
【化２１】
XIXLXQXXXXXXVXXXXXVXFXCXAXQSIGTSIHWYXQXXXXXPXLLIKYASEXX
XXIXXXFXGXGXGXXFXLXIXXVXXXDXADYYCQQINSWPTTFGXGTXLXXXXX,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］を含む軽鎖可変領域を含む。１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列
【００２１】
【化２２】
XIXLXQXPXXLXVXPXXXVXFXCXASQSIGTSIHWYQQXTXXSPRLLIKYASEXISXI
PXRFXGXGXGXXFXLXIXXVXXXDXADYYCQQINSWPTTFGXGTXLXXXXX

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］を含む軽鎖可変領域を含む。もう１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列
【００２２】
【化２３】
XIXLTQSPXXLSVSPGERVXFSCRASQSIGTSIHWYQQXTXXXPRLLIKYASEXXXGIP
XRFSGSGSGTDFTLXIXXVESEDXADYYCQQINSWPTTFGXGTKLEIKRX

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］を含む軽鎖可変領域を含む。
【００２３】
さらにもう１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列
【００２４】

【化２４】

XIXLTQSPXXLSVSPGERVXFSCRASQSIGTSIHWYQQXTXXSPRLLIKYASEXISGIPX

RFSGSGSGTDFTLXIXXVESEDXADYYCQQINSWPTTFGXGTKLEIKRX

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］を含む軽鎖可変領域を含む。もう１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列

【００２５】

【化２５】

XIXLTQSPXXLSVSPGERVXFSCRASQSIGTSIHWYQQXTXXXPRLLIKYASESISGIPX

RFSGSGSGTDFTLXIXXVESEDXADYYCQQINSWPTTFGXGTKLEIKRX

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］を含む軽鎖可変領域を含む。もう１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列

【００２６】

【化２６】

EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIHWYQQKTGQAPRLLIKYASESISGIPD

RFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPTTFGQGTKLEIKRT.

を含む軽鎖可変領域を含む。

【００２７】

本発明のもう１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列

【００２８】

【化２７】

EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIHWYQQKTGQAPRLLIKYASERATGIP

DRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPTTFGQGTKLEIKRT.

を含む軽鎖可変領域を含む。もう１つの実施形態では、非マウス抗体は、アミノ酸配列

【００２９】

【化２８】

EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIHWYQQKTGQSPRLLIKYASERISGIPD

RFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPTTFGQGTKLEIKRT.

を含む軽鎖可変領域を含む。

【００３０】

本発明の上述した実施形態のいずれかでは、上記抗体の少なくとも１個のＸは、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いる配列番号２または４内の同じ対応位置のアミノ酸と同じである。本発明の上述した実施形態のいずれかでは、少なくとも１個のＸは、Ｋａｂａｔナンバリングを用いて配列番号２または４内の同じ対応位置のアミノ酸の保存的置換である。さらに、本発明の上述した実施形態のいずれかでは、少なくとも１個のＸは、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いる配列番号２または４内の同じ対応位置のアミノ酸の非保存的置換である。上記実施形態の例において、少なくとも１個のＸは、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いて、ヒト抗体配列内の同じ対応位置のアミノ酸である。上記ヒト抗体配列は、たとえばヒトコンセンサス配列、ヒト生殖細胞系配列、ヒトコンセンサス生殖細胞系配列、またはＫａｂａｔにおけるヒト抗体配列のいずれか１つであり得る。

【００３１】

上記Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体は、ヒト抗体コンセンサス配列、ヒト生殖細胞系配列、ヒトコンセンサス生殖細胞系配列、またはＫａｂａｔ，ＮＣＢＩ　Ｉｇ　Ｂｌａｓｔ，ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｉｇｂｌａｓｔ／ｓｈｏｗＧｅｒｍｌｉｎｅ．ｃｇｉ，
Ｋａｂａｔデータベースｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｂｉｏｉｎｆ．ｏｒｇ．ｕｋ／ａｂｓ／

ｓｅｑｔｅｓｔ．ｈｔｍｌ，
Ｋａｂａｔ Ｒｅｌｅａｓｅ ５．０（１９９２）についてのＦＴＰサイト ｆｔｐ：／／ｆｔｐ．ｎｃｂｉ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｒｅｐｏｓｉｔｏｒｙ／ｋａｂａｔ／Ｒｅｌ５．０／，
ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓデータベース（Ｍｏｎｔｐｅｌｌｉｅｒ Ｆｒａｎｃｅ）ｈｔｔｐ：／／ｉｍｇｔ．ｃｎｕｓｃ．ｆｒ：８１０４／，
Ｖ－Ｂａｓｅ ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｍｒｃ－ ｃｐｅ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／ＬＩＳＴ．ｐｈｐ？ｍｅｎｕ＝９０１，
Ｚｕｒｉｃｈ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｕｎｉｚｈ．ｃｈ／～ａｎｔｉｂｏｄｙ／Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ／ｉｎｄｅｘ．ｈｔｍｌ，
Ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｈｕｍａｎ Ｈｏｍｏｌｏｇｙ Ｐｒｏｊｅｃｔ（ＴＡＨＨＰ） ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｐａｔｈ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／～ｍｒｃ７／ｈｕｍａｎｉｓａｔｉｏｎ／ＴＡＨＨＰ．ｈｔｍｌ，
Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｄｏｍａｉｎｓ ｈｔｔｐ：／／ｈｏｗ．ｔｏ／ＡｎａｌｙｓｅＡｎｔｉｂｏｄｉｅｓ／，
Ｈｕｍａｎｉｚａｔｉｏｎ ｂｙ ｄｅｓｉｇｎ ｈｔｔｐ：／／ｐｅｏｐｌｅ．ｃｒｙｓｔ．ｂｂｋ．ａｃ．ｕｋ／～ｕｂｃｇ０７ｓ／，
Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｒｅｓｏｕｒｃｅｓ ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ａｎｔｉｂｏｄｙｒｅｓｏｕｒｃｅ．ｃｏｍ／ｅｄｕｃａｔｉｏｎａｌ．ｈｔｍｌ，
Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（ｂｙ ＴＴ Ｗｕ），Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓにおけるヒト抗体配列のいずれか１つの一部に由来する、基づくまたはそれを含む。

【００３２】

例示的実施形態では、上記非マウス抗体は、配列番号１１４、１１６または１１９に示す重鎖配列のいずれか１つを含む。他の例示的実施形態では、非マウス抗体は、配列番号４１または４３に示す重鎖可変領域配列のいずれか１つを含む。さらに他の例示的実施形態では、非マウス抗体は、配列番号４５、４７、４８、５１、５３または１３６に示す軽鎖配列のいずれか１つを含む。１つの実施形態では、非マウス抗体は、配列番号１１４に示す重鎖配列および配列番号４７に示す軽鎖配列を含む。もう１つの実施形態では、非マウス抗体は、配列番号１１６に示す重鎖配列および配列番号４７に示す軽鎖配列を含む。さらにもう１つの実施形態では、非マウス抗体は、配列番号１１９に示す重鎖配列および配列番号４７に示す軽鎖配列を含む。

【００３３】

本発明の上記実施形態のいずれかでは、非マウス抗体は、配列番号４１または４３に示す可変重鎖アミノ酸配列と少なくとも６５％または少なくとも８０％同一である可変重鎖アミノ酸配列、および／または配列番号４５、４７、４８、５１または５３に示す可変軽鎖アミノ酸配列と少なくとも６５％または少なくとも８０％同一である可変軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００３４】

軽鎖可変領域または重鎖可変領域の上述した例示的実施形態のありとあらゆる組合せが本発明の方法において使用し得る。

【００３５】

本発明の抗体は、たとえば約１μｇ／ｋｇ－１００ｍｇ／ｋｇ体重、約２μｇ／ｋｇ－３０ｍｇ／ｋｇ体重、約０．１ｍｇ／ｋｇ－３０ｍｇ／ｋｇ体重、または約０．１ｍｇ／ｋｇ－１０ｍｇ／ｋｇ体重の用量で投与し得る。他の態様では、上記方法は、第二の治療薬を投与することをさらに含み得る。

【００３６】

本発明のもう１つの態様では、凍結乾燥または溶液形態で、バイアルまたはビンまたは薬剤充填済み注射器などの容器中に包装された、治療有効量の上記抗体を含むキット。容

器は、容器に添付されたまたは容器と共に包装された、容器の内容物を説明し、マクロファージ関連疾患を治療するための容器の内容物の使用に関する指示および／または指図を与えるラベルをさらに含み得る。容器は、場合により凍結乾燥抗体を再溶解するための適切な溶液を含むもう１つ別のバイアルを含む。

例えば、本願発明は以下の項目を提供する。

（項目１）

マクロファージ関連疾患を治療する方法であって、モノクローナル抗体ＲＸ１と、Ｍ－ＣＳＦへの結合に関して７５％を超えて競合する非マウス抗体を、マクロファージ関連疾患を有する被験体に投与する工程を含み、該モノクローナル抗体ＲＸ１は、それぞれ配列番号２および４に示す重鎖および軽鎖アミノ酸配列を含む、方法。

（項目２）

前記非マウス抗体が前記モノクローナル抗体ＲＸ１と同じＭ－ＣＳＦのエピトープに特異的に結合する、項目１に記載の方法。

（項目３）

前記マクロファージ関連疾患がアテローム硬化性疾患である、項目１または２に記載の方法。

（項目４）

前記マクロファージ関連疾患がＨＩＶ感染に関連する状態である、項目１または２に記載の方法。

（項目５）

前記非マウス抗体が、配列番号１２０または１２１の少なくとも４個連続する残基を含むＭ－ＣＳＦのエピトープに結合する、項目２に記載の方法。

（項目６）

前記非マウス抗体がモノクローナル抗体である、項目１－５のいずれか一項に記載の方法。

（項目７）

前記非マウス抗体が、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト遺伝子操作抗体、ヒト抗体、または一本鎖抗体である、項目１－５のいずれか一項に記載の方法。

（項目８）

前記非マウス抗体がＩｇＧ抗体である、項目１－７のいずれか一項に記載の方法。

（項目９）

前記非マウス抗体が、配列番号９のＭ－ＣＳＦに関して少なくとも10^{-7}Ｍまたはそれ以上の親和性K_d（解離平衡定数）を保持する、項目１－８のいずれか一項に記載の方法。

（項目１０）

前記非マウス抗体が、配列番号９のＭ－ＣＳＦに関して少なくとも10^{-8}Ｍまたはそれ以上の親和性K_dを保持する、項目９に記載の方法。

（項目１１）

前記非マウス抗体が、配列番号９のＭ－ＣＳＦに関して少なくとも10^{-9}Ｍまたはそれ以上の親和性K_dを保持する、項目１０に記載の方法。

（項目１２）

前記非マウス抗体が、配列番号２４に９０％同一なアミノ酸配列を含む、項目１－１１のいずれか一項に記載の方法。

（項目１３）

前記非マウス抗体が配列番号２４を含む、項目１１に記載の方法。

（項目１４）

前記非マウス抗体が、

（ａ）配列番号１８、２１、２４、２９、３２および３６から成る群；または

（ｂ）配列番号　、２１、２４、３２、３６およびＱＡＳＱＳＩＧＴＳＩＨ（配列番号＿）から成る群

より選択される少なくとも１個の配列を含む、項目１－１３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１５）
前記非マウス抗体が、
（ａ）配列番号１８、２１、２４、２９、３２および３６から成る群；または
（ｂ）配列番号　、２１、２４、３２、３６およびＱＡＳＱＳＩＧＴＳＩＨ（配列番号＿）から成る群
より選択される少なくとも２個の配列を含む、項目１－１３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１６）
前記非マウス抗体が、
（ａ）配列番号１８、２１、２４、２９、３２および３６から成る群；または
（ｂ）配列番号　、２１、２４、３２、３６およびＱＡＳＱＳＩＧＴＳＩＨ（配列番号＿）から成る群
より選択される少なくとも３個の配列を含む、項目１－１３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１７）
前記非マウス抗体が、
（ａ）配列番号１８、２１、２４、２９、３２および３６から成る群；または
（ｂ）配列番号　、２１、２４、３２、３６およびＱＡＳＱＳＩＧＴＳＩＨ（配列番号＿）から成る群
より選択される少なくとも４個の配列を含む、項目１－１３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１８）
前記非マウス抗体が、
（ａ）配列番号１８、２１、２４、２９、３２および３６から成る群；または
（ｂ）配列番号　、２１、２４、３２、３６およびＱＡＳＱＳＩＧＴＳＩＨ（配列番号＿）から成る群
より選択される少なくとも５個の配列を含む、項目１－１３のいずれか一項に記載の方法。
（項目１９）
前記非マウス抗体が、
（ａ）配列番号１８、２１、２４、２９、３２および３６；または
（ｂ）配列番号１８、２１、２４、３２、３６およびＱＡＳＱＳＩＧＴＳＩＨ（配列番号＿）
の全部を含む、項目１－１３のいずれか一項に記載の方法。
（項目２０）
前記非マウス抗体が、配列番号１６、１９、２２、２７、３０および３４のうちの１個またはそれ以上をさらに含む、項目１１－１８のいずれか一項に記載の方法。
（項目２１）
前記非マウス抗体が、配列番号１７、２０、２３、２８、３１および３５のうちの１個またはそれ以上をさらに含む、項目１１－１８のいずれか一項に記載の方法。
（項目２２）
前記非マウス抗体が、配列番号１８、２１、２５、２９、３２および３７のうちの１個またはそれ以上をさらに含む、項目１１－１８のいずれか一項に記載の方法。
（項目２３）
前記非マウス抗体が、配列番号１８、２１、２６、２９、３３および３８に示す１またはそれ以上のコンセンサスＣＤＲをさらに含む、項目１１－１８のいずれか一項に記載の方法。
（項目２４）

前記非マウス抗体が、ＣＤＲ内の少なくとも１個のアミノ酸がもう１つ別の抗Ｍ－ＣＳＦ抗体の対応するＣＤＲの対応する残基によって置換されているＣＤＲを含む、項目１１－２３のいずれか一項に記載の方法。

（項目２５）

前記非マウス抗体が、配列番号４に示すアミノ酸配列に少なくとも６５％相同である可変軽鎖アミノ酸配列を含む、項目１１－２４のいずれか一項に記載の方法。

（項目２６）

前記非マウス抗体が、配列番号２に示すアミノ酸配列に少なくとも６５％相同である可変重鎖アミノ酸配列を含む、項目１１－２５のいずれか一項に記載の方法。

（項目２７）

前記非マウス抗体が、ヒト抗体配列の１個の定常領域およびヒト抗体配列の１またはそれ以上の重および軽鎖可変フレームワーク領域を含む、項目１－２６のいずれか一項に記載の方法。

（項目２８）

前記ヒト抗体配列が、個々のヒト配列、ヒトコンセンサス配列、個々のヒト生殖細胞系配列またはヒトコンセンサス生殖細胞系配列である、項目２７に記載の方法。

（項目２９）

前記非マウス抗体がＩｇＧ１定常領域のフラグメントを含む、項目２７に記載の方法。

（項目３０）

前記非マウス抗体が、抗体依存性細胞毒性または補体依存性細胞毒性活性を低下させるＩｇＧ１定常領域内の突然変異を含む、項目２９に記載の方法。

（項目３１）

前記非マウス抗体がＩｇＧ４定常領域のフラグメントを含む、項目２７に記載の方法。

（項目３２）

前記非マウス抗体が、半抗体の形成を低下させるＩｇＧ４定常領域内の突然変異を含む、項目３１に記載の方法。

（項目３３）

前記非マウス抗体が、アミノ酸配列

【化１】

XVXLXEXGXXXXXXXXXLXLXCXVXDYSITSDYAWNWIXQXXXXXLXWMGYISY
SGSTSXNXXLXXXIXIXRXXXXXXFXLXLXXVXXXDXAXYYCASFDYAHAMDYW
GXGTXVXVXX,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］

を含む重鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。

（項目３４）

前記非マウス抗体が、アミノ酸配列

【化２】

DVXLXEXGPXXVXPXXXLXLXCXVTDYSITSDYAWNWIRQXPXXKLEWMGYISYS
GSTSYNPSLKXRIXIXRXTXXNXFXLXLXXVXXXDXATYYCASFDYAHAMDYWGX
GTXVXVXX,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］

を含む重鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。

（項目３５）

前記非マウス抗体が、アミノ酸配列

【化３】

XVQLQESGPGLVKPSQXLSLTCTVXDYSITSDYAWNWIRQFPGXXLEWMGYISYSGS
TSYNPSLKSRIXIXRDTSKNQFXLQLNSVTXXDTAXYYCASFDYAHAMDYWGQGTX
VTVSS,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］
を含む重鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目３６）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列
【化４】
DVQLQESGPGLVKPSQXLSLTCTVTDYSITSDYAWNWIRQFPGXKLEWMGYISYSGS
TSYNPSLKSRIXIXRDTSKNQFXLQLNSVTXXDTATYYCASFDYAHAMDYWGQGTX
VTVSS,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］
を含む重鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目３７）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列
【化５】
DVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTDYSITSDYAWNWIRQFPGKKLEWMGYISYSGS
TSYNPSLKSRITISRDTSKNQFSLQLNSVTAADTATYYCASFDYAHAMDYWGQGTTV
TV
SS.

を含む重鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目３８）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列
【化６】
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSDYSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGS
TSYNPSLKSRITISRDTSKNQFSLQLNSVTAADTAVYYCASFDYAHAMDYWGQGTT
VTV
SS.

を含む重鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目３９）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列
【化７】
XIXLXQXXXXXXVXXXXXVXFXCXAXQSIGTSIHWYXQXXXXXPXLLIKYASEXX
XXIXXXFXGXGXGXXFXLXIXXVXXXDXADYYCQQINSWPTTFGXGTXLXXXXX,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］
を含む軽鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目４０）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列
【化８】
XIXLXQXPXXLXVXPXXXVXFXCXASQSIGTSIHWYQQXTXXSPRLLIKYASEXISXI
PXRFXGXGXGXXFXLXIXXVXXXDXADYYCQQINSWPTTFGXGTXLXXXXX,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］
を含む軽鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目４１）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列

【化９】
XIXLTQSPXXLSVSPGERVXFSCRASQSIGTSIHWYQQXTXXXPRLLIKYASEXXXGIP
XRFSGSGSGTDFTLXIXXVESEDXADYYCQQINSWPTTFGXGTKLEIKRX,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］
を含む軽鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目４２）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列
【化１０】
XIXLTQSPXXLSVSPGERVXFSCRASQSIGTSIHWYQQXTXXSPRLLIKYASEXISGIPX
RFSGSGSGTDFTLXIXXVESEDXADYYCQQINSWPTTFGXGTKLEIKRX,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］
を含む軽鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目４３）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列
【化１１】
XIXLTQSPXXLSVSPGERVXFSCRASQSIGTSIHWYQQXTXXXPRLLIKYASESISGIPX
RFSGSGSGTDFTLXIXXVESEDXADYYCQQINSWPTTFGXGTKLEIKRX,

［式中、Ｘは任意のアミノ酸である］
を含む軽鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目４４）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列
【化１２】
EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIHWYQQKTGQAPRLLIKYASESISGIPD
RFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPTTFGQGTKLEIKRT.

を含む軽鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目４５）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列
【化１３】
EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIHWYQQKTGQAPRLLIKYASERATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPTTFGQGTKLEIKRT.

を含む軽鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目４６）
前記非マウス抗体が、アミノ酸配列
【化１４】
EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIHWYQQKTGQSPRLLIKYASERISGIPD
RFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPTTFGQGTKLEIKRT.

を含む軽鎖可変領域を含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目４７）
少なくとも１個のＸが、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いる配列番号２または４内の同じ対応位置のアミノ酸と同じである、項目３３－４６のいずれか一項に記載の方法。
（項目４８）
少なくとも１個のＸが、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いる配列番号２または４内の同じ対応位置のアミノ酸の保存的置換である、項目３３－４６のいずれか一項に記載の方法。
（項目４９）

少なくとも１個のＸが、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いる配列番号２または４内の同じ対応位置のアミノ酸の非保存的置換である、項目３３－４６のいずれか一項に記載の方法。
（項目５０）
少なくとも１個のＸが、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いて、ヒト抗体配列内の同じ対応位置のアミノ酸である、項目３３－４６のいずれか一項に記載の方法。
（項目５１）
少なくとも１個のＸが、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いて、ヒトコンセンサス抗体配列内の同じ対応位置のアミノ酸である、項目３３－４６のいずれか一項に記載の方法。
（項目５２）
前記ヒト抗体配列が、ヒトコンセンサス配列、ヒト生殖細胞系配列、ヒトコンセンサス生殖細胞系配列、またはＫａｂａｔにおけるヒト抗体配列のいずれか１つである、項目５０に記載の方法。
（項目５３）
前記非マウス抗体が、配列番号１１４、１１６または１１９に示す重鎖配列のいずれか１つを含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目５４）
前記非マウス抗体が、配列番号４１または４３に示す重鎖可変領域配列のいずれか１つを含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目５５）
前記非マウス抗体が、配列番号４５、４７、４８、５１、５３または１３６に示す軽鎖配列のいずれか１つを含む、項目１－３２のいずれか一項に記載の方法。
（項目５６）
前記非マウス抗体が、配列番号１１４に示す重鎖配列および配列番号４７に示す軽鎖配列を含む、項目１に記載の方法。
（項目５７）
前記非マウス抗体が、配列番号１１６に示す重鎖配列および配列番号４７に示す軽鎖配列を含む、項目１に記載の方法。
（項目５８）
前記非マウス抗体が、配列番号１１９に示す重鎖配列および配列番号４７に示す軽鎖配列を含む、項目１に記載の方法。
（項目５９）
前記非マウス抗体が、配列番号４１または４３に示す可変重鎖アミノ酸配列に少なくとも６５％同一である可変重鎖アミノ酸配列を含む、項目３３－４６のいずれか一項に記載の方法。
（項目６０）
前記非マウス抗体が、配列番号４１または４３に示す可変重鎖アミノ酸配列に少なくとも８０％同一である可変重鎖アミノ酸配列を含む、項目５９に記載の方法。
（項目６１）
前記非マウス抗体が、配列番号４５、４７、４８、５１または５３に示す可変軽鎖アミノ酸配列に少なくとも６５％同一である可変軽鎖アミノ酸配列を含む、項目３３－４６のいずれか一項に記載の方法。
（項目６２）
前記非マウス抗体が、配列番号４５、４７、４８、５１または５３に示す可変軽鎖アミノ酸配列に少なくとも８０％同一である可変軽鎖アミノ酸配列を含む、項目６１に記載の方法。
（項目６３）
前記非マウス抗体が、項目３３－３８、５３または５９－６０のいずれかに示す重鎖および項目３９－４６、５４または６１－６２のいずれかに示す軽鎖を含む方法。
（項目６４）
前記非マウス抗体が少なくとも10^{-7}の親和性Ｋｄを有する、項目１２－６３のいず

れか一項に記載の方法。
（項目６５）
前記非マウス抗体が少なくとも１０$^{-9}$の親和性Ｋｄを有する、項目６４に記載の方法。
（項目６６）
第二治療薬を投与することをさらに含む、項目１２－６５のいずれか一項に記載の方法。
（項目６７）
バイアルまたはビンまたは薬剤充填済み注射器などの容器中に包装された、治療有効量の項目１－６５のいずれか一項に記載の抗体を含むキットであって、該容器に添付または共に包装されたラベルをさらに含み、該ラベルは、該容器の内容物を説明し、マクロファージ関連疾患を治療するための該容器の内容物の使用に関する指示および／または指図を提供する、キット。
【図面の簡単な説明】
【００３７】
【図１】図１は、トランケート型二量体Ｍ－ＣＳＦにおけるジスルフィド結合を示すトポロジー図である。
【図２】図２は、１０番目の残基ごとに表示し、非結晶対称軸を点線によって指示した、Ｍ－ＣＳＦのＣ－α骨格の立体図である。
【図３Ａ】図３Ａは、Ｍ－ＣＳＦ特異的マウス抗体ＲＸ１のアミノ酸配列（配列番号２および４）（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－６１１３の下にＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ，ＵＳＡに寄託されたプラスミドのｃＤＮＡ挿入物によってコードされる）および対応する核酸配列（配列番号１および３）を示す。ＣＤＲ領域に番号を付し、太字で示している。
【００３８】
図３Ｂおよび３Ｃは、それぞれ、Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、国際公開番号第ＷＯ９３／１１７９４号に従った同定された高危険度（太字）、中危険度（下線）および低危険度残基を有する、Ｍ－ＣＳＦ特異的マウス抗体ＲＸ１軽（配列番号５）および重鎖（配列番号６）のアミノ酸配列を示す。
【図３Ｂ】図３Ａは、Ｍ－ＣＳＦ特異的マウス抗体ＲＸ１のアミノ酸配列（配列番号２および４）（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－６１１３の下にＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ，ＵＳＡに寄託されたプラスミドのｃＤＮＡ挿入物によってコードされる）および対応する核酸配列（配列番号１および３）を示す。ＣＤＲ領域に番号を付し、太字で示している。
【００３９】
図３Ｂおよび３Ｃは、それぞれ、Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、国際公開番号第ＷＯ９３／１１７９４号に従った同定された高危険度（太字）、中危険度（下線）および低危険度残基を有する、Ｍ－ＣＳＦ特異的マウス抗体ＲＸ１軽（配列番号５）および重鎖（配列番号６）のアミノ酸配列を示す。
【図３Ｃ】図３Ａは、Ｍ－ＣＳＦ特異的マウス抗体ＲＸ１のアミノ酸配列（配列番号２および４）（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－６１１３の下にＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ，ＵＳＡに寄託されたプラスミドのｃＤＮＡ挿入物によってコードされる）および対応する核酸配列（配列番号１および３）を示す。ＣＤＲ領域に番号を付し、太字で示している。
【００４０】
図３Ｂおよび３Ｃは、それぞれ、Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、国際公開番号第ＷＯ９３／１１７９４号に従った同定された高危険度（太字）、中危険度（下線）および低危険度残基を有する、Ｍ－ＣＳＦ特異的マウス抗体ＲＸ１軽（配列番号５）および重鎖（配列番号６）のアミノ酸配列を示す。
【図４Ａ】図４Ａは、Ｍ－ＣＳＦ抗体ＲＸ１および５Ａ１が種特異的であることを示す。

図４Ｂは、抗体ＭＣ１およびＭＣ３のＭ－ＣＳＦ中和活性を示す。
【図４Ｂ】図４Ａは、Ｍ－ＣＳＦ抗体ＲＸ１および５Ａ１が種特異的であることを示す。図４Ｂは、抗体ＭＣ１およびＭＣ３のＭ－ＣＳＦ中和活性を示す。
【図５】図５は、Ｍ－ＣＳＦαのアミノ酸配列（配列番号７）である。
【図６】図６は、Ｍ－ＣＳＦβのアミノ酸配列（配列番号８）である。
【図７】図７は、Ｍ－ＣＳＦγのアミノ酸配列（配列番号９）である。ＤＮＡ配列内の多くの多型はアミノ酸相違を生じさせ得る。たとえば一般的な多型は１０４位にＰｒｏではなくＡｌａを与える。
【図８】図８、９および１０は、それぞれＭ－ＣＳＦ特異的マウス抗体５Ｈ４（配列番号１０および１１）、ＭＣ１（配列番号１２および１３）（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－６２６３の下に寄託されたハイブリドーマによって生産される）およびＭＣ３（配列番号１４および１５）（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－６２６４の下に寄託されたハイブリドーマによって生産される）のアミノ酸配列を示す。
【図９】図８、９および１０は、それぞれＭ－ＣＳＦ特異的マウス抗体５Ｈ４（配列番号１０および１１）、ＭＣ１（配列番号１２および１３）（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－６２６３の下に寄託されたハイブリドーマによって生産される）およびＭＣ３（配列番号１４および１５）（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－６２６４の下に寄託されたハイブリドーマによって生産される）のアミノ酸配列を示す。
【図１０】図８、９および１０は、それぞれＭ－ＣＳＦ特異的マウス抗体５Ｈ４（配列番号１０および１１）、ＭＣ１（配列番号１２および１３）（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－６２６３の下に寄託されたハイブリドーマによって生産される）およびＭＣ３（配列番号１４および１５）（ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－６２６４の下に寄託されたハイブリドーマによって生産される）のアミノ酸配列を示す。
【図１１Ａ】図１１Ａおよび１１Ｂは、ヒトＭ－ＣＳＦ特異的マウス抗体ＲＸ１；５Ｈ４；ＭＣ１；およびＭＣ３の重および軽鎖アミノ酸配列（配列番号１６－３８）のＣＤＲ領域のアラインメントである。
【００４１】
図１１Ｃは、ＲＸ１対５Ｈ４についての無傷対Ｆａｂフラグメントの中和活性を示す。
【図１１Ｂ】図１１Ａおよび１１Ｂは、ヒトＭ－ＣＳＦ特異的マウス抗体ＲＸ１；５Ｈ４；ＭＣ１；およびＭＣ３の重および軽鎖アミノ酸配列（配列番号１６－３８）のＣＤＲ領域のアラインメントである。
【００４２】
図１１Ｃは、ＲＸ１対５Ｈ４についての無傷対Ｆａｂフラグメントの中和活性を示す。
【図１１Ｃ】図１１Ａおよび１１Ｂは、ヒトＭ－ＣＳＦ特異的マウス抗体ＲＸ１；５Ｈ４；ＭＣ１；およびＭＣ３の重および軽鎖アミノ酸配列（配列番号１６－３８）のＣＤＲ領域のアラインメントである。
【００４３】
図１１Ｃは、ＲＸ１対５Ｈ４についての無傷対Ｆａｂフラグメントの中和活性を示す。
【図１２】図１２は、ＲＸ１、５Ｈ４およびＭＣ３エピトープ（配列番号１２０、１２２および１２３）を強調した、Ｍ－ＣＳＦの構造を示す。
【図１３Ａ】図１３Ａは、（ａ）マウスＲＸ１重鎖についての危険度ライン（Ｈ＝高危険度、Ｍ＝中危険度、Ｌ＝低危険度）、（ｂ）ＲＸ１重鎖アミノ酸配列（配列番号６）、（ｃ）ＲＸ１に対して整列した、最も近いヒトコンセンサス配列、Ｋａｂａｔ　Ｖｈ２コンセンサスのアミノ酸配列（配列番号３９）および（ｄ）２個の例示的なＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列（配列番号４１および４３）を作製するために施された変化を示す。図１３Ｂは、「低危険度」および「低＋中危険度」と表わされる、２個の例示的な重鎖Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列のアミノ酸配列（配列番号４１および４３）ならびに対応する核酸配列（配列番号４０および４２）を示す。
【図１３Ｂ】図１３Ａは、（ａ）マウスＲＸ１重鎖についての危険度ライン（Ｈ＝高危険度、Ｍ＝中危険度、Ｌ＝低危険度）、（ｂ）ＲＸ１重鎖アミノ酸配列（配列番号６）、（

ｃ）ＲＸ１に対して整列した、最も近いヒトコンセンサス配列、Ｋａｂａｔ　Ｖｈ２コンセンサスのアミノ酸配列（配列番号３９）および（ｄ）２個の例示的なＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列（配列番号４１および４３）を作製するために施された変化を示す。図１３Ｂは、「低危険度」および「低＋中危険度」と表わされる、２個の例示的な重鎖Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列のアミノ酸配列（配列番号４１および４３）ならびに対応する核酸配列（配列番号４０および４２）を示す。

【図１４Ａ】図１４Ａは、（ａ）マウスＲＸ１軽鎖についての危険度ライン（Ｈ＝高危険度、Ｍ＝中危険度、Ｌ＝低危険度）、（ｂ）ＲＸ１軽鎖アミノ酸配列（配列番号５）、（ｃ）ＲＸ１に対して整列した、最も近いヒトコンセンサス配列、Ｋａｂａｔ　Ｖｋ３コンセンサスのアミノ酸配列（配列番号４９）および（ｄ）２個の例示的なＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列（配列番号４５および４７）を作製するために施された変化を示す。図１４Ｂは、「低危険度」および「低＋中危険度」と表わされる、２個の例示的な軽鎖Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列のアミノ酸配列（配列番号４５および４７）ならびに対応する核酸配列（配列番号４４および４６）を示す。

【図１４Ｂ】図１４Ａは、（ａ）マウスＲＸ１軽鎖についての危険度ライン（Ｈ＝高危険度、Ｍ＝中危険度、Ｌ＝低危険度）、（ｂ）ＲＸ１軽鎖アミノ酸配列（配列番号５）、（ｃ）ＲＸ１に対して整列した、最も近いヒトコンセンサス配列、Ｋａｂａｔ　Ｖｋ３コンセンサスのアミノ酸配列（配列番号４９）および（ｄ）２個の例示的なＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列（配列番号４５および４７）を作製するために施された変化を示す。図１４Ｂは、「低危険度」および「低＋中危険度」と表わされる、２個の例示的な軽鎖Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列のアミノ酸配列（配列番号４５および４７）ならびに対応する核酸配列（配列番号４４および４６）を示す。

【図１５Ａ】図１５Ａは、（ａ）マウスＲＸ１軽鎖についての危険度ライン（Ｈ＝高危険度、Ｍ＝中危険度、Ｌ＝低危険度）、（ｂ）ＲＸ１軽鎖アミノ酸配列（配列番号５）、（ｃ）ＲＸ１に対して整列した、最も近いヒトコンセンサス配列、Ｋａｂａｔ　Ｖｋ３コンセンサスのアミノ酸配列（配列番号４９）および（ｄ）５４－５６位を変化させなかった（すなわちマウス配列のままであった）、選択的な例示的アミノ酸配列（配列番号４８）を示す。図１５Ｂは、２個の例示的な選択的軽鎖Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列のアミノ酸配列（配列番号４８、１３６）ならびに対応する核酸配列（配列番号１３７および１３５）を示す。

【図１５Ｂ】図１５Ａは、（ａ）マウスＲＸ１軽鎖についての危険度ライン（Ｈ＝高危険度、Ｍ＝中危険度、Ｌ＝低危険度）、（ｂ）ＲＸ１軽鎖アミノ酸配列（配列番号５）、（ｃ）ＲＸ１に対して整列した、最も近いヒトコンセンサス配列、Ｋａｂａｔ　Ｖｋ３コンセンサスのアミノ酸配列（配列番号４９）および（ｄ）５４－５６位を変化させなかった（すなわちマウス配列のままであった）、選択的な例示的アミノ酸配列（配列番号４８）を示す。図１５Ｂは、２個の例示的な選択的軽鎖Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列のアミノ酸配列（配列番号４８、１３６）ならびに対応する核酸配列（配列番号１３７および１３５）を示す。

【図１６Ａ】図１６Ａは、（ａ）マウスＲＸ１軽鎖についての危険度ライン（Ｈ＝高危険度、Ｍ＝中危険度、Ｌ＝低危険度）、（ｂ）ＲＸ１軽鎖アミノ酸配列（配列番号５）、（ｃ）ＲＸ１に対して整列した、最も近いヒトコンセンサス生殖細胞系配列、Ｖｋ６サブグループ２－１－（１）Ａ１４のアミノ酸配列（配列番号５０）および（ｄ）２個の例示的なＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列（配列番号５１および５３）を作製するために行われた変化を示す。図１６Ｂは、「低危険度」および「低＋中危険度」と表わされる、２個の例示的な軽鎖Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列のアミノ酸配列（配列番号５１および５３）ならびに対応する核酸配列（配列番号５２）を示す。

【図１６Ｂ】図１６Ａは、（ａ）マウスＲＸ１軽鎖についての危険度ライン（Ｈ＝高危険度、Ｍ＝中危険度、Ｌ＝低危険度）、（ｂ）ＲＸ１軽鎖アミノ酸配列（配列番号５）、（ｃ）ＲＸ１に対して整列した、最も近いヒトコンセンサス生殖細胞系配列、Ｖｋ６サブグループ２－１－（１）Ａ１４のアミノ酸配列（配列番号５０）および（ｄ）２個の例示的

なＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列（配列番号５１および５３）を作製するために行われた変化を示す。図１６Ｂは、「低危険度」および「低＋中危険度」と表わされる、２個の例示的な軽鎖Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列のアミノ酸配列（配列番号５１および５３）ならびに対応する核酸配列（配列番号５２）を示す。

【図１７Ａ】図１７Ａおよび１７Ｂは、Ｋａｂａｔ番号付けシステムを用いた様々なヒトコンセンサスおよびヒト生殖細胞コンセンサス配列（「ＰＯＳ」と示された列に指示されているアミノ酸番号付け）（配列番号５５－８２）とマウスＲＸ１軽鎖アミノ酸配列（配列番号５４）のアラインメントを示す。

【図１７Ｂ】図１７Ａおよび１７Ｂは、Ｋａｂａｔ番号付けシステムを用いた様々なヒトコンセンサスおよびヒト生殖細胞コンセンサス配列（「ＰＯＳ」と示された列に指示されているアミノ酸番号付け）（配列番号５５－８２）とマウスＲＸ１軽鎖アミノ酸配列（配列番号５４）のアラインメントを示す。

【図１８Ａ】図１８Ａおよび１８Ｂは、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いた様々なヒトコンセンサスおよびヒト生殖細胞コンセンサス配列（「ＰＯＳ」と示された列に指示されているアミノ酸番号付け）（配列番号８４－１１２）とマウスＲＸ１重鎖アミノ酸配列（配列番号８３）のアラインメントを示す。図１８Ｃ－１８Ｅは、抗体５Ｈ４、ＭＣ１およびＭＣ３のアミノ酸残基がどのようにＫａｂａｔ番号付け法に対応するかを示す（それぞれ配列番号１０と１１；配列番号１２と１３；は１４と１５）。

【図１８Ｂ】図１８Ａおよび１８Ｂは、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いた様々なヒトコンセンサスおよびヒト生殖細胞コンセンサス配列（「ＰＯＳ」と示された列に指示されているアミノ酸番号付け）（配列番号８４－１１２）とマウスＲＸ１重鎖アミノ酸配列（配列番号８３）のアラインメントを示す。図１８Ｃ－１８Ｅは、抗体５Ｈ４、ＭＣ１およびＭＣ３のアミノ酸残基がどのようにＫａｂａｔ番号付け法に対応するかを示す（それぞれ配列番号１０と１１；配列番号１２と１３；は１４と１５）。

【図１８Ｃ】図１８Ａおよび１８Ｂは、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いた様々なヒトコンセンサスおよびヒト生殖細胞コンセンサス配列（「ＰＯＳ」と示された列に指示されているアミノ酸番号付け）（配列番号８４－１１２）とマウスＲＸ１重鎖アミノ酸配列（配列番号８３）のアラインメントを示す。図１８Ｃ－１８Ｅは、抗体５Ｈ４、ＭＣ１およびＭＣ３のアミノ酸残基がどのようにＫａｂａｔ番号付け法に対応するかを示す（それぞれ配列番号１０と１１；配列番号１２と１３；は１４と１５）。

【図１８Ｄ】図１８Ａおよび１８Ｂは、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いた様々なヒトコンセンサスおよびヒト生殖細胞コンセンサス配列（「ＰＯＳ」と示された列に指示されているアミノ酸番号付け）（配列番号８４－１１２）とマウスＲＸ１重鎖アミノ酸配列（配列番号８３）のアラインメントを示す。図１８Ｃ－１８Ｅは、抗体５Ｈ４、ＭＣ１およびＭＣ３のアミノ酸残基がどのようにＫａｂａｔ番号付け法に対応するかを示す（それぞれ配列番号１０と１１；配列番号１２と１３；は１４と１５）。

【図１８Ｅ】図１８Ａおよび１８Ｂは、Ｋａｂａｔ番号付け法を用いた様々なヒトコンセンサスおよびヒト生殖細胞コンセンサス配列（「ＰＯＳ」と示された列に指示されているアミノ酸番号付け）（配列番号８４－１１２）とマウスＲＸ１重鎖アミノ酸配列（配列番号８３）のアラインメントを示す。図１８Ｃ－１８Ｅは、抗体５Ｈ４、ＭＣ１およびＭＣ３のアミノ酸残基がどのようにＫａｂａｔ番号付け法に対応するかを示す（それぞれ配列番号１０と１１；配列番号１２と１３；は１４と１５）。

【図１９Ａ】図１９Ａは、低危険度アミノ酸変化を有するｈｅＲＸ１－ＩｇＧ１についてのアミノ酸配列（配列番号１１４）およびヌクレオチド配列（配列番号１１３）を示す。図１９Ｂは、低＋中危険度アミノ酸変化を有するｈｅＲＸ１－ＩｇＧ１についてのアミノ酸配列（配列番号１１６）およびヌクレオチド配列（配列番号１１５）を示す。

【図１９Ｂ】図１９Ａは、低危険度アミノ酸変化を有するｈｅＲＸ１－ＩｇＧ１についてのアミノ酸配列（配列番号１１４）およびヌクレオチド配列（配列番号１１３）を示す。図１９Ｂは、低＋中危険度アミノ酸変化を有するｈｅＲＸ１－ＩｇＧ１についてのアミノ酸配列（配列番号１１６）およびヌクレオチド配列（配列番号１１５）を示す。

【図２０】図２０は、低危険度アミノ酸変化を有するｈｅＲＸ１－ＩｇＧ４についてのアミノ酸配列（配列番号１１９）およびヌクレオチド配列（ｃＤＮＡ（配列番号１１８）およびゲノムＤＮＡ（配列番号１１７））を示す。

【発明を実施するための形態】

【００４４】

（詳細な説明）

マクロファージコロニー刺激因子（Ｍ－ＣＳＦ）としても知られる、コロニー刺激因子（ＣＳＦ－１）は、骨髄ストローマ細胞、破骨細胞および他の細胞によって発現される。Ｍ－ＣＳＦは、細胞の中でも特に、マクロファージおよび破骨細胞の産生と増殖を刺激することが示されている。マクロファージの作用は多くの状況において有益であるが、いくつかの状況ではマクロファージ活性は有害である。マクロファージは、じゅく状斑の形成、プラークの不安定化および血管形成術後の再狭窄において役割を果たすことが示された。マクロファージおよびＭ－ＣＳＦの産生はまた、ＨＩＶ複製に関係することが示されており、感染マクロファージはウイルスの貯蔵所として機能し得る。

【００４５】

本発明は、マクロファージ関連疾患を予防または治療するために抗Ｍ－ＣＳＦ抗体を使用する方法を提供する。ここで使用する「マクロファージ関連疾患」は、有害なマクロファージ活性に関連するまたはそれによって引き起こされる状態または疾患を意味する。例示的なマクロファージ関連疾患は、アテローム硬化性疾患、またはＨＩＶ感染とそれに関連する状態を含む。そのような方法における使用のために考慮される抗Ｍ－ＣＳＦ抗体は、ＲＸ１由来抗体、ＲＸ１競合抗体、５Ｈ４由来抗体、５Ｈ４競合抗体、ＭＣ１由来抗体、ＭＣ１競合抗体、ＭＣ３由来抗体およびＭＣ３競合抗体を包含する、ここで述べる抗体を含む。

【００４６】

「アテローム硬化性疾患」は、何らかの血管におけるアテローム性動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症から生じる疾患または状態、および血管の閉塞または血栓症の危険度上昇に関連する状態、たとえば高血圧、糖尿病および心筋梗塞または発作についての他の危険因子を含む。例示的なアテローム硬化性疾患は、動脈血栓症、狭窄または虚血；狭心症などの閉鎖性心臓血管疾患を含む、心臓血管疾患；冠状動脈血栓症などの動脈血栓症またはその結果生じる心筋虚血または心筋梗塞；特に血管造影法または血管形成術後の、再狭窄；大脳動脈血栓症またはその結果生じる脳虚血または発作；心臓内血栓症（たとえば心房性細動を原因とする）またその結果生じる発作；末梢血管疾患または末梢動脈血栓症または閉塞；新生内膜過形成、血管内皮における細胞間結合の崩壊、または血管損傷を含む。

【００４７】

ＨＩＶに関連する疾患または状態は、肺炎、ニューモシスティス・カリニ、肺炎連鎖球菌、インフルエンザ菌、黄色ブドウ球菌、Ｒｈｏｄｏｃｏｃｃｅｕｓ ｅｑｕｉ、Ｎｏｃａｒｄｉａ ａｓｔｅｒｏｉｄｓ、Ｈｉｓｔｏｐｌａｓｍａ ｃａｐｓｕｌａｔｕｍ、Ｃｏｃｃｉｄｉｏｉｄｅｓ ｉｍｍｉｔｉｓ、カンジダ種、アスペルギルス種、Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ａｖｉｕｍ－ｃｏｍｐｌｅｘ、トキソプラスマ、Ｓｔｒｏｎｇｙｌｏｉｄｅｓ ｓｔｅｒｃｏｒａｌｉｓ、サイトメガロウイルス、単純疱疹ウイルス、リンパ球性間質性肺炎、嚥下痛、毛髪状白斑、びらん性歯肉炎、アフタ性潰瘍、胃腸／大腸炎、サルモネラ種、赤痢菌種、Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ ｊｅｊｕｎｉ、Ｃｒｙｐｔｏｓｐｏｒｉｄｉｕｍ種、Ｉｓｏｓｐｏｒａ ｂｅｌｌｉ、Ｂｌａｓｔｏｃｙｓｔｉｓ ｈｏｍｉｎｉｓ、赤痢アメーバ、ランブル鞭毛虫、微胞子虫目、Ｓｔｒｏｎｇｙｌｏｉｄｅｓ ｓｔｅｒｃｏｒａｌｉｓ、アデノウイルス、非特異的腸症、直腸炎、トラコーマクラミジア、淋菌、梅毒トレポネーマ、胆嚢炎、肝臓外閉塞および硬化性胆管炎、杆菌性肝臓紫斑病、脳炎または認知症、亜急性脳症、進行性多病巣性白質脳症、水痘－帯状疱疹ウイルス、梅毒トラポネーマ、新生物、カポジ肉腫、原発性または転移性リンパ腫、Ｃｒｙｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｎｅｏｆｏｒｍａｎｓ、Ｃｏｃｃｉｄｉｏｉｄｅｓ ｉｍｍｉｔｉｓ、鵞

口瘡カンジダ、ヒト型結核菌、Ｎｏｃａｒｄｉａ ａｓｔｅｒｏｉｄｓ、髄膜炎、リステリア菌、リンパ腫性髄膜炎、脊髄炎または神経障害、空胞状ミエロパシー、慢性炎症性多発神経障害、遠位対称性感覚運動神経障害、水痘－帯状疱疹ウイルス神経根炎、網膜炎、角結膜炎、ネコ引っ掻き病、非ホジキンリンパ腫を含むが、これらに限定されない。

【００４８】

完全長ヒトＭ－ＣＳＦ ｍＲＮＡは、５５４アミノ酸の前駆タンパクをコードする。選択的ｍＲＮＡスプライシングおよび差別的翻訳後タンパク質分解プロセシングを通して、Ｍ－ＣＳＦは、糖タンパク質またはコンドロイチン硫酸含有プロテオグリカンとして循環中に分泌され得るかまたはＭ－ＣＳＦ産生細胞の表面に膜貫通糖タンパク質として発現され得る。完全なインビトロ生物活性のために必要な最小配列である、細菌において発現されたヒトＭ－ＣＳＦのアミノ末端の１５０アミノ酸の三次元構造は、このタンパク質が、各々の単量体が４つのαヘリックス束と逆平行βシートから成る、ジスルフィド結合二量体であることを示す（Ｐａｎｄｉｔら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５８：１３５８－６２（１９９２））。３つの異なるＭ－ＣＳＦ種が選択的ｍＲＮＡスプライシングを通して生産される。３個のポリペプチド前駆体は、２５６アミノ酸のＭ－ＣＳＦα、５５４アミノ酸のＭ－ＣＳＦβおよび４３８アミノ酸のＭ－ＣＳＦγである。Ｍ－ＣＳＦβは、膜結合形態内で生じない分泌タンパク質である。Ｍ－ＣＳＦαは、タンパク質分解切断によって緩やかに放出される内在性膜タンパク質として発現される。Ｍ－ＣＳＦαは、図５に示す配列のアミノ酸１９１－１９７で切断される。膜結合形態のＭ－ＣＳＦは近接細胞上の受容体と相互作用することができ、それゆえ特異的細胞－細胞接触を媒介する。「Ｍ－ＣＳＦ」という用語はまた、図７のアミノ酸３６－４３８を含み得る。

【００４９】

様々な形態のＭ－ＣＳＦは、標的細胞上のその受容体Ｍ－ＣＳＦＲ（ＣＳＦ－１Ｒとしても知られる）に結合することによって機能する。Ｍ－ＣＳＦＲは、５つの細胞外免疫グロブリン様ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞内散在性（ｉｎｔｅｒｒｕｐｔｅｄ）Ｓｒｃ関連チロシンキナーゼドメインを有する膜貫通分子である。Ｍ－ＣＳＦＲはｃ－ｆｍｓ癌原遺伝子によってコードされる。Ｍ－ＣＳＦＲの細胞外ドメインへのＭ－ＣＳＦの結合は、細胞質キナーゼドメインを活性化する、受容体の二量体化を導き、自己リン酸化および他の細胞タンパク質のリン酸化を生じさせる（Ｈａｍｉｌｔｏｎ Ｊ．Ａ．，Ｊ Ｌｅｕｋｏｃ Ｂｉｏｌ．，６２（２）：１４５－５５（１９９７）；Ｈａｍｉｌｔｏｎ Ｊ，Ａ．，Ｉｍｍｕｎｏ Ｔｏｄａｙ．，１８（７）：３１３－７（１９９７））。

【００５０】

リン酸化細胞タンパク質は、細胞応答へと導く生化学的事象のカスケード：有糸分裂、サイトカインの分泌、膜ラッフリング、およびそれ自体の受容体の転写の調節を誘導する（ＦｉｘｅとＰｒａｌｏｒａｎ，Ｃｙｔｏｋｉｎｅ １０：３２－３７（１９９８））。

【００５１】

マウスＲＸ１と称される、配列番号１に示す配列を有する抗Ｍ－ＣＳＦ抗体は、他の抗体と比較して優れたＭ－ＣＳＦ中和特性を有することが発見された。マウスＲＸ１抗体を、ＳｔｕｄｎｉｃｋａらのＨｕｍａｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（商標）法に基づきヒトにおける免疫原性を低下させるように修飾した。好ましい実施形態では、軽鎖領域内の１６－１９個の表面暴露残基を、ヒト環境に関してその免疫原性を低下させながら、抗原結合またはタンパク質の折りたたみに有害な影響を及ぼす可能性が低いと判定された位置でヒト残基に改変した。修飾重および／または軽鎖可変領域を含む合成遺伝子を構築し、ヒトγ重鎖および／またはκ軽鎖定常領域に連結した。いかなるヒト重鎖および軽鎖定常領域も、Ｈｕｍａｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体可変領域と組み合わせて使用し得る。ヒト重および軽鎖遺伝子を哺乳動物細胞に導入し、生じる組換え免疫グロブリン産物を得て、特性決定した。５Ｈ４、ＭＣ１またはＭＣ３などの他の例示的抗Ｍ－ＣＳＦ抗体も同様にＨｕｍａｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）である。

【００５２】

「ＲＸ１由来抗体」という用語は以下のいずれか１つを含む：

１）相同性決定のために類似アミノ酸を考慮に入れて、図３に示すアミノ酸配列と少なくとも６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８または９９％相同である可変重鎖アミノ酸配列を含む、および／または図３に示すアミノ酸配列と少なくとも６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８または９９％相同である可変軽鎖アミノ酸配列を含む変異体を包含する、図３に示すアミノ酸配列を有するマウス抗体ＲＸ１のアミノ酸変異体；

２）図３に示すアミノ酸配列を有するマウス抗体ＲＸ１の１またはそれ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）を含み、好ましくは少なくともＲＸ１重鎖のＣＤＲ３を含み、および好ましくは２またはそれ以上、あるいは３またはそれ以上、あるいは４またはそれ以上、あるいは５またはそれ以上、あるいは６個全部のＣＤＲを含む、Ｍ－ＣＳＦ結合ポリペプチド（マウス抗体ＲＸ１を除く）；

３）図１３Ｂ－１６Ｂに示す重および軽鎖アミノ酸配列を有するＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体または図１３Ｂ－１６ＢのもとのＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）重または軽鎖と少なくとも６０％のアミノ酸配列同一性を有する、たとえば６５％、７０％、７５％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％および１００％の同一性を含む、より好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも８５％、より好ましくは少なくとも９０％、最も好ましくは少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を有する、重または軽鎖を含むその変異体；

４）図１３Ｂ－１６ＢのＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体の１またはそれ以上のＣＤＲの高危険度残基を含み、および好ましくは２またはそれ以上、あるいは３またはそれ以上、あるいは４またはそれ以上、あるいは５またはそれ以上、あるいは６個全部のＣＤＲを含む、Ｍ－ＣＳＦ結合ポリペプチド（マウス抗体ＲＸ１を除く）；

５）Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体または図３Ｂに示す高危険度アミノ酸残基を保持し、図３Ｂに示す低または中危険度残基に１またはそれ以上の変化を含む、

たとえば図３Ｂに示す低危険度残基の１またはそれ以上の変化および中危険度残基の保存的置換を含む、または

たとえば図３Ｂに示す中および高危険度アミノ酸残基を保持し、低危険度残基に１またはそれ以上の変化を含む、

［但し、変化は挿入、欠失または置換を含み、保存的置換であり得るかまたは遺伝子操作抗体（ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）の配列をヒト軽鎖または重鎖配列、ヒト生殖細胞軽鎖または重鎖配列、コンセンサスヒト軽鎖または重鎖配列、またはコンセンサスヒト生殖細胞軽鎖または重鎖配列により近いものにし得る］

Ｍ－ＣＳＦに結合する能力を保持する変異体。そのような抗体は、好ましくは少なくとも10^{-7}、10^{-8}または10^{-9}またはそれ以上の親和性でＭ－ＣＳＦに結合し、好ましくはＭ－ＣＳＦの所望生物活性を中和する。

【００５３】

同様に、「ＭＣ３由来抗体」という用語は以下のいずれか１つを含む：

１）相同性決定のために類似アミノ酸を考慮に入れて、図１０に示すアミノ酸配列と少なくとも６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８または９９％相同である可変重鎖アミノ酸配列を含む、および／または図１０に示すアミノ酸配列と少なくとも６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８または９９％相同である可変軽鎖アミノ酸配列を含む変異体を包含する、図１０に示すアミノ酸配列を有するマウス抗体ＭＣ３のアミノ酸変異体；

２）図１０に示すアミノ酸配列を有するマウス抗体ＭＣ３の１またはそれ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）を含み、好ましくは少なくともＭＣ３重鎖のＣＤＲ３を含み、および好ましくは２またはそれ以上、あるいは３またはそれ以上、あるいは４またはそれ以上、

あるいは５またはそれ以上、あるいは６個全部のＣＤＲを含む、Ｍ－ＣＳＦ結合ポリペプチド（場合によりマウス抗体ＭＣ３を含むまたは除く）；

３）低、中および高危険度残基を同定するために図１８Ｃ－１８Ｅに示すＫａｂａｔ番号付け法を使用して、Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、米国特許第５，７６６，８８６号および本文中の実施例３に述べられている方法に従ってマウス配列を変化させることによって作製されるＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体であって、以下の重鎖の少なくとも１つと以下の軽鎖の少なくとも１つ：（ａ）低危険度残基の全部が、必要に応じて、ヒト標準免疫グロブリン配列と同じ残基であるように修飾されている重鎖または（ｂ）低および中危険度残基の全部が、必要に応じて、ヒト標準免疫グロブリン配列と同じ残基であるように修飾されている重鎖、（ｃ）低危険度残基の全部が、必要に応じて、ヒト標準免疫グロブリン配列と同じ残基であるように修飾されている軽鎖または（ｂ）低および中危険度残基の全部が、必要に応じて、ヒト標準免疫グロブリン配列と同じ残基であるように修飾されている軽鎖、を含む抗体；

４）もとのＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）重または軽鎖と少なくとも６０％のアミノ酸配列同一性を有する、たとえば６５％、７０％、７５％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％および１００％の同一性を含む、より好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも８５％、より好ましくは少なくとも９０％、最も好ましく少なくとも９５％のアミノ酸配列同一性を有する重または軽鎖を含む、上記段落（３）における上記抗体の変異体；

５）図１０のマウスＭＣ３抗体の１またはそれ以上のＣＤＲの高危険度残基を含み、および好ましくは２またはそれ以上、あるいは３またはそれ以上、あるいは４またはそれ以上、あるいは５またはそれ以上、あるいは６個全部のＣＤＲを含む、Ｍ－ＣＳＦ結合ポリペプチド（場合によりマウス抗体ＭＣ３を含むまたは除く）；

６）Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体またはマウスＭＣ３抗体の高危険度アミノ酸残基を保持し、低または中危険度残基に１またはそれ以上の変化を含む、

たとえば低危険度残基の１またはそれ以上の変化および中危険度残基の保存的置換を含む、または

たとえば中および高危険度アミノ酸残基を保持し、低危険度残基に１またはそれ以上の変化を含む、

［但し、変化は挿入、欠失または置換を含み、保存的置換であり得るかまたは遺伝子操作抗体の配列をヒト軽鎖または重鎖配列、ヒト生殖細胞軽鎖または重鎖配列、コンセンサスヒト軽鎖または重鎖配列、またはコンセンサスヒト生殖細胞軽鎖または重鎖配列により近いものにし得る］

Ｍ－ＣＳＦに結合する能力を保持する変異体。そのような抗体は、好ましくは少なくとも10^{-7}、10^{-8}または10^{-9}またはそれ以上の親和性でＭ－ＣＳＦに結合し、好ましくはＭ－ＣＳＦの所望生物活性を中和する。

【００５４】

「５Ｈ４由来抗体」または「ＭＣ１由来抗体」という用語は、上記説明に従って同様に定義される。

【００５５】

Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体または変異体を含む、ＲＸ１、５Ｈ４、ＭＣ１またはＭＣ３由来抗体などの抗Ｍ－ＣＳＦ抗体は、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭまたはＩｇＥなどの種々のアイソタイプであり得る。ＩｇＧクラスの抗体は異なる定常領域を含んでもよく、たとえばＩｇＧ２抗体は、ＩｇＧ１またはＩｇＧ４定常領域を示すように修飾され得る。好ましい実施形態では、本発明は、修飾または非修飾ＩｇＧ１またはＩｇＧ４定常領域を含むＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体または変異体を提供する。ＩｇＧ１の場合は、定常領域、特にヒンジまたはＣＨ２領域への修飾は、ＡＤＣＣおよび／またはＣＤＣ活性を含むエフェクター機能を上昇または低下させ得る。他の実施形態では、ＩｇＧ２定常領域を、抗体－抗原凝集物形成を低下させるように修飾する。Ｉ

ｇＧ４の場合は、定常領域、特にヒンジ領域への修飾は半抗体の形成を減少させ得る。特定の例示的実施形態では、ＩｇＧ４ヒンジ配列Ｃｙｓ－Ｐｒｏ－Ｓｅｒ－ＣｙｓをＩｇＧ１ヒンジ配列Ｃｙｓ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｃｙｓに突然変異させることが提供される。

【００５６】

ＩｇＧ１またはＩｇＧ４定常領域を含むＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体は、ＩｇＧ２定常領域を含むＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体に比べて改善された性質を有する。ＩｇＧ１またはＩｇＧ４　Ｆｃ領域の選択は、結合親和性およびＭ－ＣＳＦ中和活性を改善した。加えて、ＩｇＧ１またはＩｇＧ４　Ｆｃ領域の選択は、親マウス抗体によって形成されるものにより密接に類似する抗原－抗体複合体を提供した。

【００５７】

ヒンジ領域の可動性は、それゆえ、二量体抗原Ｍ－ＣＳＦへの抗体の結合ならびに抗体の中和活性に著しく影響すると思われる。本発明は一般に、修飾または非修飾ＩｇＧ１またはＩｇＧ４定常領域、特にヒンジおよびＣＨ２ドメイン、または好ましくは少なくともヒンジドメインを含む重鎖を含む抗体の作製は、結合親和性を改善するおよび／または二量体抗原からの抗体の解離を緩慢化すると考える。

【００５８】

「ＲＸ１競合抗体」という用語は、

１）図３に示す完全な軽および重鎖配列を有するマウスＲＸ１と同じＭ－ＣＳＦのエピトープに結合する非マウスまたは非げっ歯動物モノクローナル抗体；

２）図７のＭ－ＣＳＦのアミノ酸９８－１０５の少なくとも４個の隣接アミノ酸に結合する非マウスまたは非げっ歯動物モノクローナル抗体；および

３）Ｍ－ＣＳＦへの結合に関して、図３に示す完全配列を有するマウス抗体ＲＸ１と７５％以上、８０％以上、または８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％または９５％以上競合する非マウスまたは非げっ歯動物モノクローナル抗体を含む。そのような抗体は、好ましくは少なくとも10^{-7}、10^{-8}または10^{-9}またはそれ以上の親和性でＭ－ＣＳＦに結合し、好ましくはＭ－ＣＳＦの所望生物活性を中和する。

【００５９】

「ＭＣ１競合抗体」または「ＭＣ３競合抗体」または「５Ｈ４競合抗体」は、それぞれ図８、９または１０に示す完全な軽および重鎖配列を有するマウス５Ｈ４、ＭＣ１またはＭＣ３抗体に関して、および抗体によって結合されるＭ－ＣＳＦのエピトープ、たとえば図７のアミノ酸６５－７３または１３８－１４４（５Ｈ４またはＭＣ３によって認識されるＭ－ＣＳＦエピトープに対応する）に関して、同様に定義される。

【００６０】

場合により、本発明の出願日以前に公的に開示された、または本発明の出願日以前に申請された出願において開示されたいかなるキメラ、ヒトまたはヒト化Ｍ－ＣＳＦ抗体も、本発明の範囲から除外される。

【００６１】

「非げっ歯動物」モノクローナル抗体は、ここで広く定義されるような、げっ歯動物ハイブリドーマによって産生される完全な無傷げっ歯動物モノクローナル抗体ではない、何らかの抗体である。それゆえ、非げっ歯動物抗体は特に、げっ歯動物抗体の変異体、げっ歯動物抗体フラグメント、線状抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体および、トランスジェニック動物からまたはファージディスプレイ技術によって生産されるヒト抗体を含む、ヒト抗体を含むが、これらに限定されない。同様に、非マウス抗体は、マウス抗体の変異体、マウス抗体フラグメント、線状抗体、キメラ、ヒト化、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）およびヒト抗体を含むが、これらに限定されない。

【００６２】

「治療」は、疾患の発症を予防するまたは病理を変化させることを意図して実施される

介入処置である。従って、「治療」は、治療処置と予防手段の両方を指す。治療を必要とする者は、既に疾患を有する者ならびに疾患を予防すべきである者を含む。マクロファージ関連疾患などの疾患の臨床、生化学的、放射線医学的または主観的症状を有する患者の治療は、そのような症状の一部または全部を緩和することまたは疾患への素因を低減することを含み得る。疾患の「病理」は、患者の健康を損なうすべての現象を含む。

【００６３】

治療のための「哺乳動物」は、ヒト、家畜、およびイヌ、ウマ、ネコ、ウシ等のような動物園、スポーツまたは愛玩動物を含む、哺乳動物して分類されるあらゆる動物を指す。

【００６４】

ここで使用する、「治療有効量」という語句は、本発明の実施のために適切であり、所望治療計画に従って投与したとき、疾患のそのような症状の一部または全部を緩和することまたは疾患への素因を低減することを含む、所望治療または予防効果または応答を惹起する、治療的または予防的Ｍ－ＣＳＦ抗体の量を指すことが意図されている。

【００６５】

ここで使用するヒト「Ｍ－ＣＳＦ」は、各々が参照によりここに組み込まれる、Ｋａｗａｓａｋｉら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２３０：２９１（１９８５），Ｃｅｒｒｅｔｔｉら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，２５：７６１（１９８８）、またはＬａｄｎｅｒら、ＥＭＢＯ　Ｊｏｕｒｎａｌ　６：２６９３（１９８７）に述べられている成熟ヒトＭ－ＣＳＦα、Ｍ－ＣＳＦβまたはＭ－ＣＳＦγポリペプチドと実質的に同じアミノ酸配列を有するヒトポリペプチドを指す。そのような用語は、上述したように、３つの成熟Ｍ－ＣＳＦが異なるアミノ酸配列を有しており、および活性形態のＭ－ＣＳＦがジスルフィド結合二量体であるという理解を反映する；それゆえ、「Ｍ－ＣＳＦ」という用語が生物学的に活性な形態を指すときは、二量体形態が意図される。「Ｍ－ＣＳＦ二量体」は、二量体化した２個のＭ－ＣＳＦポリペプチド単量体を指し、ホモ二量体（２個の同じ型のＭ－ＣＳＦ単量体から成る）およびヘテロ二量体（２個の異なる単量体から成る）の両方を含む。Ｍ－ＣＳＦ単量体は、参照によりここに組み込まれる、米国特許第４，９２９，７００号に述べられているようにインビトロでＭ－ＣＳＦ二量体に変換され得る。

【００６６】

抗Ｍ－ＣＳＦ抗体

本発明は、マクロファージ関連疾患に罹患している被験体を治療するための薬剤の製造を含む、ここで述べるＭ－ＣＳＦ特異的抗体を用いてマクロファージ関連疾患に罹患している被験体を治療する方法を提供する。「抗体」という用語は最も広い意味で使用され、完全構築抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（たとえば二重特異性抗体）、抗原に結合することができる抗体フラグメント（たとえばＦａｂ’、Ｆ’（ａｂ）２、Ｆｖ、一本鎖抗体、ダイアボディ）、およびそれらが所望生物活性を示す限り、前記を含む組換えポリペプチドを含む。無傷完全長分子に加えて、「抗体」という用語はまた、そのフラグメント（たとえばｓｃＦｖ、Ｆｖ、Ｆｄ、Ｆａｂ、Ｆａｂ'およびＦ（ａｂ）’２フラグメントなど）、または無傷分子および／またはＭ－ＣＳＦ（またはＭ－ＣＳＦＲ）に結合するフラグメントの多量体または凝集物を指す。これらの抗体フラグメントは抗原に結合し、たとえばガラクトース残基の組込みにより、清掃と取込みを促進する構造特徴を示すように誘導体化され得る。

【００６７】

ここで使用する「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る、天然に生じる可能性のある突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、単一抗原部位を対象とする。さらに、典型的には種々の決定基（エピトープ）に対する種々の抗体を含む従来の（ポリクローナル）抗体製剤と異なり、各々のモノクローナル抗体は抗原上の単一決定基を対象とする。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、それらが、異なる特異性と特徴を備える他の免疫グロブリンによって汚染されない、均一培養によって合成されるという点で有益である。

【００６８】
「モノクローナル」という修飾語は、実質的に均一な抗体の集団から得られるという抗体の特徴を指示するものであり、何らかの特定方法による抗体の生産を必要とすると解釈されるべきではない。たとえば本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、Ｋｏｈｌｅｒら、Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５［１９７５］によって最初に述べられたハイブリドーマ法によって作製し得るか、または組換えＤＮＡ法（たとえば米国特許第４，８１６，５６７号参照）によって作製し得る。「モノクローナル抗体」はまた、たとえばＣｌａｃｋｓｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ，３５２：６２４６２８［１９９１］およびＭａｒｋｓら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ，２２２：５８１－５９７（１９９１）に述べられている手法を用いてファージ抗体ライブラリーから単離し得る。

【００６９】
それらの重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に依存して、免疫グロブリンは種々のクラスに分類することができる。５つの主要なクラス、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧおよびＩｇＭがあり、これらのいくつかはさらにサブラスまたはアイソタイプ、たとえばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１およびＩｇＡ２に分類し得る。種々のクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれα、δ、ε、γおよびμと呼ばれる。種々のクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造および三次元立体配置は周知である。異なるアイソタイプは異なるエフェクター機能を有する；たとえばＩｇＧ１およびＩｇＧ３アイソタイプはＡＤＣＣ活性を有する。

【００７０】
「抗体フラグメント」は、無傷完全長抗体の一部、好ましくは無傷抗体の抗原結合領域または可変領域を含む。抗体フラグメントの例は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２およびＦｖフラグメント；ダイアボディ；線状抗体（Ｚａｐａｔａら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．，８（１０）：１０５７－１０６２（１９９５））；一本鎖抗体分子；および抗体フラグメントから形成される多重特異性抗体を含む。抗体のパパイン消化は、各々が１つの抗原結合部位を有する、「Ｆａｂ」フラグメントと呼ばれる２個の同じ抗原結合フラグメント、および残りの「Ｆｃ」フラグメントを生成し、Ｆｃフラグメントの名称は、容易に結晶化するその能力を反映する。ペプシン処理は、抗体のＶＨおよびＶＬドメインを含む２個の「一本鎖Ｆｖ」または「ｓＦｖ」抗体フラグメントを生じ、これらのドメインは一本のポリペプチド鎖内に存在する。好ましくは、Ｆｖポリペプチドは、Ｆｖが抗原結合のための所望構造を形成することを可能にする、ＶＨとＶＬドメインの間のポリペプチドリンカーをさらに含む。ｓＦｖの総説については、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ ｉｎ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，ＲｏｓｅｎｂｕｒｇとＭｏｏｒｅ編集、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐ．２６９－３１５（１９９４）参照。

【００７１】
「超可変」領域という用語は、抗原結合のための責任を担う抗体のアミノ酸残基を指す。超可変領域は、相補性決定領域またはＣＤＲからのアミノ酸残基［すなわちＫａｂａｔら、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，第５版、Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９９１）によって述べられている軽鎖可変ドメイン内の残基２４－３４（Ｌ１）、５０－５６（Ｌ２）および８９－９７（Ｌ３）および重鎖可変ドメイン内の３１－３５（Ｈ１）、５０－６５（Ｈ２）および９５－１０２（Ｈ３）］および／または超可変ループからの残基［すなわちＣｈｏｔｈｉａら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７）によって述べられている軽鎖可変ドメイン内の残基２６－３２（Ｌ１）、５０－５２（Ｌ２）および９１－９６（Ｌ３）および重鎖可変ドメイン内の２６－３２（Ｈ１）、５３－５５（Ｈ２）および９６－１０１（Ｈ３）］を含む。

【００７２】
「フレームワーク」またはＦＲ残基は、超可変領域残基以外の可変ドメイン残基である

。

【００７３】

「ダイアボディ」という用語は、２個の抗原結合部位を有する小さな抗体フラグメントを指し、前記フラグメントは、同じポリペプチド鎖（ＶＨ　ＶＬ）内に軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）に連結された重鎖可変ドメイン（ＶＨ）を含む。短すぎて同じ鎖上の２つのドメインの間の対合を許容しないリンカーを使用することにより、ドメインはもう１本の鎖の相補的ドメインと対合することを強いられ、２つの抗原結合部位を創造する。ダイアボディは、たとえば欧州特許第ＥＰ４０４，０９７号；国際公開番号第ＷＯ９３／１１１６１号；および３０　Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：６４４４－６４４８（１９９３）の中でより詳細に述べられている。

【００７４】

一部の実施形態では、少なくとも２つの異なるエピトープに対して結合特異性を有する、モノクローナル、ヒト、ヒト化、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）または変異抗Ｍ－ＣＳＦ抗体を含む多重特異性（たとえば二重特異性）モノクローナル抗体を作製することが望ましいと考えられる。例示的な二重特異性抗体はＭ－ＣＳＦの２つの異なるエピトープに結合し得る。あるいは、細胞防御機構をＭ－ＣＳＦ発現細胞に集中させるために、抗Ｍ－ＣＳＦの腕を、Ｔ細胞受容体分子（たとえばＣＤ２またはＣＤ３）などの白血球上の引き金分子、またはＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）、ＦｃγＲＩＩ（ＣＤ３２）およびＦｃγＲＩＩＩ（ＣＤ１６）などのＩｇＧについてのＦｃ受容体（ＦｃγＲ）に結合する腕と組み合わせ得る。二重特異性抗体はまた、治療薬を、Ｍ－ＣＳＦを発現する細胞に局在化させるために使用し得る。これらの抗体は、Ｍ－ＣＳＦ結合腕と治療薬に結合する腕を有する。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体フラグメント（たとえばＦ（ａｂ’）サブタイプ２二重特異性抗体）として作製できる。

【００７５】

二重特異性抗体を作製するためのもう１つのアプローチによれば、抗体分子の対の間の界面を、組換え細胞培養から回収されるヘテロ二量体のパーセンテージを最大化するように工作することができる。好ましい界面は、抗体定常ドメインのC_H3ドメインの少なくとも一部を含む。この方法では、第一抗体分子の界面からの１またはそれ以上の小さなアミノ酸側鎖をより大きな側鎖（たとえばチロシンまたはトリプトファン）で置換する。大きなアミノ酸側鎖をより小さな側鎖（たとえばアラニンまたはトレオニン）で置換することにより、大きな側鎖と同一または類似の大きさの代償性の「腔（ｃａｖｉｔｉｅｓ）」が第二抗体分子の界面に創造される。これは、ホモ二量体などの他の望ましくない最終産物に比べてヘテロ二量体の収率を上昇させるための機構を提供する。１９９６年９月６日公開の国際公開番号第ＷＯ９６／２７０１１号参照。

【００７６】

二重特異性抗体は、架橋抗体または「ヘテロ結合体」抗体を含む。たとえばヘテロ結合体における抗体の一方はアビジンに結合することができ、他方はビオチンに結合することができる。ヘテロ結合体抗体は何らかの好都合な架橋方法を用いて作製し得る。適切な架橋剤は当技術分野において周知であり、米国特許第４，６７６，９８０号の中で多くの架橋手法と共に開示されている。

【００７７】

抗体フラグメントから二重特異性抗体を作製するための手法も文献に記述されている。たとえば二重特異性抗体は化学結合を用いて作製できる。Ｂｒｅｎｎａｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２２９：８１（１９８５）は、$F(ab')_2$フラグメントを作製するために無傷抗体をタンパク質分解切断する手順を述べている。これらのフラグメントを、近接するジチオールを安定化し、分子間ジスルフィド形成を防ぐためにジチオール錯化剤亜ヒ酸ナトリウムの存在下で還元する。作製されたＦａｂ’フラグメントを、次に、チオニトロベンゾエート（ＴＮＢ）誘導体に変換する。次にＦａｂ’－ＴＮＢ誘導体の一方をメルカプトエチルアミンでの還元によってＦａｂ’－チオールに再変換し、等モル量の他方のＦａｂ’－ＴＮＢ誘導体と混合して二重特異性抗体を形成する。生成された二重特異性抗体は、

酵素の選択的固定化のための作用物質として使用できる。さらなる実施形態では、二重特異性抗体を形成するために大腸菌から直接回収されたＦａｂ’－ＳＨフラグメントをインビトロで化学的に結合することができる。（Ｓｈａｌａｂｙら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１７５：２１７－２２５（１９９２））。

【００７８】

Ｓｈａｌａｂｙら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１７５：２１７－２２５（１９９２）は、完全ヒト化二重特異性抗体Ｆ（ａｂ’）$_2$分子の生産を述べている。各々のＦａｂ’分子は大腸菌から別々に分泌され、二重特異性抗体を形成するためにインビトロで指定化学結合に供された。このようにして形成された二重特異性抗体は、ＨＥＲ２受容体を過剰発現する細胞および正常ヒトＴ細胞に結合することができ、ならびにヒト乳癌標的に対するヒト細胞傷害性リンパ球の細胞溶解活性の引き金を引くことができた。

【００７９】

組換え細胞培養から直接二重特異性抗体フラグメントを作製し、単離するための様々な手法も記述されている。たとえばロイシンジッパーを使用して二重特異性抗体が生産された。（Ｋｏｓｔｅｌｎｙら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８（５）：１５４７－１５５３（１９９２））。ＦｏｓおよびＪｕｎタンパク質からのロイシンジッパーペプチドを遺伝子融合によって２個の異なる抗体のＦａｂ’部分に連結した。単量体を形成するために抗体ホモ二量体をヒンジ領域で還元し、次に抗体ヘテロ二量体を形成するために再び酸化した。この方法はまた、抗体ホモ二量体の生産のためにも利用できる。Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：６４４４－６４４８（１９９３）によって述べられた「ダイアボディ」技術は、二重特異性抗体フラグメントを作製するための選択的機序を提供した。

【００８０】

フラグメントは、短すぎて同じ鎖上の２つのドメインの間の対合を許容しないリンカーによって軽鎖可変領域（V_L）に連結された重鎖可変領域（V_H）を含む。従って、１つのフラグメントのV_HおよびV_Lドメインは、もう１つのフラグメントの相補的V_LおよびV_Hドメインと対合することを強いられ、それによって２つの抗原結合部位を形成する。一本鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体の使用によって二重特異性抗体フラグメントを作製するためのもう１つの戦略も報告された。Ｇｒｕｂｅｒら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５２：５３６８（１９９４）参照。

【００８１】

あるいは二重特異性抗体は、Ｚａｐａｔａら、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．８（１０）：１０５７－１０６２（１９９５）に述べられているように生産される「線状抗体」であり得る。簡単に述べると、これらの抗体は、一対の抗原結合領域を形成する一対の縦列Ｆｄセグメント（V_H－C_H１－V_H－C_H１）を含む。線状抗体は二重特異性または単一特異性であり得る。

【００８２】

３以上の原子価を有する抗体も考慮される。たとえば三重特異性抗体が作製できる。（Ｔｕｔｔら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０（１９９１））。

【００８３】

ある実施形態では、モノクローナル、ヒト、ヒト化、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）または変異抗Ｍ－ＣＳＦ抗体は、ＲＸ１、５Ｈ４、ＭＣ１またはＭＣ３抗体フラグメントなどの抗体フラグメントである。抗体フラグメントの生産のために様々な手法が開発されてきた。伝統的に、これらのフラグメントは無傷抗体のタンパク質分解消化によって導かれた（たとえばＭｏｒｉｍｏｔｏら、Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ　ａｎｄ　Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　２４：１０７－１１７（１９９２）およびＢｒｅｎｎａｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２２９：８１（１９８５））。しかし、これらのフラグメントは、現在は組換え宿主細胞によって直接生産することができる。Ｂｅｔｔｅｒら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４０：１０４１－１０４３（１９８８）は、バクテリアからの機能性抗体フラグメントの分泌を開示している。（Ｂｅｔｔｅｒら、Ｓｋ

ｅｒｒａら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１０３８－１０４１（１９８８）参照）。たとえばＦａｂ’－ＳＨフラグメントを大腸菌から直接回収し、Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメントを形成するために化学結合することができる（Ｃａｒｔｅｒら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：１６３－１６７（１９９２））、もう１つの実施形態では、Ｆ（ａｂ’）$_2$は、Ｆ（ａｂ’）$_2$分子の構築を促進するためにロイシンジッパーＧＣＮ４を使用して形成される。もう１つのアプローチによれば、Ｆｖ、ＦａｂまたはＦ（ａｂ’）$_2$フラグメントを組換え宿主細胞培養から直接単離することができる。抗体フラグメントの生産のための他の手法は当業者に明らかである。

【００８４】

「単離」抗体は、その天然環境の成分から同定され、分離され、回収されたものである。その天然環境の夾雑成分は、抗体についての診断または治療的使用に干渉する物質であり、酵素、ホルモンおよび他のタンパク質様または非タンパク質様溶質を含み得る。好ましい実施形態では、抗体は、（１）ローリー法によって測定したとき抗体の９５重量％以上、最も好ましくは９９重量％以上に、（２）スピニングカップ配列決定装置を使用してＮ末端または内部アミノ酸配列の少なくとも１５残基を得るために十分な程度に、または（３）クマシーブルーまたは、好ましくは、銀染色を用いて還元または非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥによって均質に、精製される。単離抗体は、抗体の天然環境の少なくとも１つの成分が存在しないので、組換え細胞内のインサイチュー抗体を含む。通常は、しかしながら、単離抗体は少なくとも１つの精製工程によって作製される。

【００８５】

抗体の構造と作製の詳細な説明については、Ｒｏｔｈ，Ｄ．Ｂ．とＣｒａｉｇ，Ｎ．Ｌ．，Ｃｅｌｌ，９４：４１１－４１４（１９９８）、およびその全体が参照によりここに組み込まれる、米国特許第６，２５５，４５８号参照。簡単に述べると、重および軽鎖免疫グロブリン遺伝子をコードするＤＮＡを生成するための工程は、主として発生中のＢ細胞において起こる。様々な免疫グロブリン遺伝子セグメントの再編成と連結の前には、Ｖ、Ｄ、Ｊおよび定常（Ｃ）遺伝子セグメントは一般に単一染色体上で比較的近接して認められる。Ｂ細胞分化の間に、Ｖ、Ｄ、Ｊ（または軽鎖遺伝子の場合にはＶとＪだけ）遺伝子セグメントの適切なファミリー成員の各々の１つが、機能的に再編成された重および軽鎖免疫グロブリン遺伝子を形成するように組み換えられる。この遺伝子セグメント再編成工程は連続的であると思われる。最初に、重鎖Ｄ－Ｊ結合部が作製され、次に重鎖Ｖ－ＤＪ結合部と軽鎖Ｖ－Ｊ結合部が作られる。

【００８６】

機能的重および軽鎖可変領域を形成するための可変領域遺伝子セグメントの組換えは、組換えに関して適格なＶ、ＤおよびＪセグメントに隣接する組換えシグナル配列（ＲＳＳ）によって媒介される。組換えを指令するために必要且つ十分なＲＳＳは、二回対称ヘプタマー（七量体）、ＡＴに富むノナマー（九量体）および１２または２３塩基対の介在スペーサー領域を含む。これらのシグナルは、種々の遺伝子座およびＤ－Ｊ（またはＶ－Ｊ）組換えを行う種の間で保存されており、機能的に交換可能である。Ｏｅｔｔｉｎｇｅｒら（１９９０），Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４８，１５１７－１５２３およびその中で引用されている参考文献参照。ヘプタマーは、配列ＣＡＣＡＧＴＧまたはその類似体、続いて非保存配列のスペーサーおよび次に、配列ＡＣＡＡＡＡＡＣＣを有するノナマーまたはその類似体を含む。これらの配列は、Ｊ上、または各々のＶおよびＤ遺伝子セグメントの下流側に認められる。生殖細胞ＤおよびＪセグメントの直前にやはり２個の組換えシグナル配列が存在し、最初がノナマー、次がヘプタマーであって、やはり非保存配列によって分けられている。V_L、V_HまたはＤセグメントの後のヘプタマーおよびノナマー配列は、それらが組み換えるJ_L、ＤまたはJ_Hセグメントに先立つ配列に相補的である。ヘプタマーとノナマー配列の間のスペーサーは、１２塩基対長または２２－２４塩基対長のいずれかである。

【００８７】

Ｖ、ＤおよびＪセグメントの再編成に加えて、軽鎖のＶとＪセグメントが結合し、重鎖

のＤとＪセグメントが結合する位置での可変組換えによって免疫グロブリン重および軽鎖の一次レパートリーにさらなる多様性が生じる。軽鎖におけるそのような変動は、典型的にはＶ遺伝子セグメントの最後のコドンおよびＪセグメントの最初のコドン内で起こる。同様の結合の不正確さは、重鎖染色体上でＤとＪ$_{H}$セグメントの間に起こり、１０ヌクレオチドにも及び得る。さらに、いくつかのヌクレオチドが、ゲノムＤＮＡによってコードされないＤとＪ$_{H}$およびＶ$_{H}$とＤ遺伝子セグメントの間に挿入され得る。これらのヌクレオチドの付加はＮ領域の多様性として知られる。

【００８８】

可変領域遺伝子セグメントにおけるそのような再編成およびそのような結合の間に起こり得る可変組換えの正味の作用は、一次抗体レパートリーの生産である。

【００８９】

「Ｆｖ」は、完全な抗原認識および結合部位を含む最小抗体フラグメントである。この領域は、密接に非共有結合で連結された１個の重鎖可変ドメインと１個の軽鎖可変ドメインから成る。各々の可変ドメインの３つのＣＤＲが、ＶＨ　ＶＩ二量体の表面の抗原結合部位を定義するために相互作用するのはこの立体配置である。共同して、６つのＣＤＲが抗体に抗原結合特異性を付与する。しかし、単一可変ドメイン（または抗原に特異的な３つのＣＤＲだけを含むＦｖの半分）でも、結合部位全体よりは低い親和性であるが、抗原を認識し、結合する能力を有する。

【００９０】

Ｆａｂフラグメントも、軽鎖の定常ドメインと重鎖の第一定常ドメイン（ＣＨ１）を含む。Ｆａｂフラグメントは、抗体ヒンジ領域からの１またはそれ以上のシステインを含む、重鎖ＣＨ１ドメインのカルボキシ末端における数個の残基の付加によってＦａｂ’フラグメントと異なる。Ｆａｂ’－ＳＨは、ここでは、定常ドメインのシステイン残基が遊離チオール基を担持するＦａｂ’についての名称である。Ｆ（ａｂ’）２抗体フラグメントはもともと、その間にヒンジシステインを有するＦａｂ’フラグメントの対として生産された。

【００９１】

「中和抗体」とは、それが結合する標的抗原のエフェクター機能を排除するまたは有意に低下させることができる抗体分子を意味する。従って、「中和」抗標的抗体は、酵素活性、リガンド結合または細胞内シグナル伝達などのエフェクター機能を排除するまたは有意に低下させることができる。

ここで提供する、マクロファージ関連疾患を治療するための組成物および方法は、所望効果を達成するために単独でまたは他の治療薬と組み合わせて使用される１またはそれ以上の抗体を利用し得る。本発明に従った抗体は、環境抗原との直接接触または抗原による免疫のいずれかの結果として抗体を産生する動物から単離し得る。あるいは、抗体は、当技術分野で周知の抗体発現系の１つを用いて組換えＤＮＡ法によって生産し得る（たとえばＨａｒｌｏｗとＬａｎｅ，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（１９８８）参照）。そのような抗体は、すべて本発明に従ってマクロファージ関連疾患の治療のために使用し得る、組換えＩｇＧ、免疫グロブリン由来配列を有するキメラ融合タンパク質または「Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）」抗体を含み得る。

【００９２】

本発明の１つの実施形態では、Ｍ－ＣＳＦモノクローナル抗体は、基本的に、参照によりここに組み込まれる、Ｈａｌｅｎｂｅｃｋら、米国特許第５，４９１，０６５号（１９９７）に述べられているように作製し得る。例示的なＭ－ＣＳＦモノクローナル抗体は、付随する生物活性の中和を伴う組換えまたは天然二量体Ｍ－ＣＳＦに結合した明白な立体配座エピトープに結合するものを含む。これらの抗体は、単量体および化学的に誘導体化された二量体Ｍ－ＣＳＦを含む、生物学的に不活性な形態のＭ－ＣＳＦと実質的に非反応性である。

【００９３】

本発明の他の実施形態では、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗Ｍ－ＣＳＦモノクローナル抗体が提供される。「Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体」という語句は、非ヒト抗体、典型的にはマウスモノクローナル抗体に由来する抗体を指す。あるいは、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体は、親の非ヒト抗体の抗原結合特性を保持するまたは実質的に保持するが、ヒトに投与したとき親抗体と比較して低い免疫原性を示すキメラ抗体に由来し得る。ここで使用する「キメラ抗体」という語句は、典型的には異なる種を起源とする２つの異なる抗体に由来する配列を含む抗体を指す（たとえば米国特許第４，８１６，５６７号参照）。最も典型的には、キメラ抗体はヒトとマウスの抗体フラグメントを含み、一般にヒト定常領域とマウス可変領域を含む。

【００９４】

「相補性決定領域」という語句または「ＣＤＲ」という用語は、共に天然免疫グロブリン結合部位の天然Ｆｖ領域の結合親和性と特異性を規定するアミノ酸配列を指す（たとえばＣｈｏｔｈｉａら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１　９１７（１９８７）；Ｋａｂａｔら、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ　ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏ．９１　３２４２（１９９１）参照）。「定常領域」という語句は、エフェクター機能を付与する抗体分子の部分を指す。本発明では、マウス定常領域が、好ましくはヒト定常領域によって置換される。本発明の抗体の定常領域はヒト免疫グロブリンに由来する。重鎖定常領域は、５つのアイソタイプ：α、δ、ε、γまたはμのいずれかから選択できる。

【００９５】

本発明の抗体は、それらが約$10^{6}M^{-1}$またはそれ以上、好ましくは約$10^{7}M^{-1}$またはそれ以上、より好ましくは約$10^{8}M^{-1}$またはそれ以上、最も好ましくは約$10^{9}M^{-1}$、$10^{10}M^{-1}$、$10^{11}M^{-1}$または$10^{12}M^{-1}$またはそれ以上のK_aで抗原に結合する場合、免疫特異的であるまたは特異的に結合すると称される。抗Ｍ－ＣＳＦ抗体は、種々の天然に生じる形態のＭ－ＣＳＦに結合し得る。ＲＸ１、５Ｈ４、ＭＣ１またはＭＣ３抗体などのここで開示するモノクローナル抗体は、Ｍ－ＣＳＦに対して親和性を有し、少なくとも10^{-4}Ｍ、好ましくは少なくとも約10^{-7}Ｍ－約10^{-8}Ｍ、より好ましくは少なくとも約10^{-9}Ｍ、10^{-10}Ｍ、10^{-11}Ｍまたは10^{-12}Ｍの解離平衡定数（Ｋｄ）によって特徴づけられる。そのような親和性は、従来の手法を用いて、たとえば平衡透析法によって；製造者によって概説されている一般手順を用いて、ＢＩＡｃｏｒｅ　２０００装置を使用することによって；^{125}Ｉ標識Ｍ－ＣＳＦを用いた放射免疫測定法によって；または当業者に公知の別の方法によって容易に測定し得る。親和性データは、たとえばＳｃａｔｃｈａｒｄら、Ａｎｎ　Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ，５１：６６０（１９４９）の方法によって分析し得る。それゆえ、好ましいＭ－ＣＳＦ抗体がＭ－ＣＳＦに対して高度の特異性を示し、他の分子に対しては実質的により低い親和性で結合することは明白である。好ましい抗体は、図３のマウスＲＸ１がＭ－ＣＳＦに結合するのと同様の親和性でＭ－ＣＳＦに結合し、低い免疫原性を示し、動物モデルにおいて試験したときマクロファージ関連疾患を抑制する。他の例示的な抗体は、それぞれ図８、９または１０のマウス５Ｈ４、ＭＣ１またはＭＣ３がＭ－ＣＳＦに結合するのと同様の親和性でＭ－ＣＳＦに結合する。

【００９６】

抗体の生産のために使用される抗原は、たとえば無傷Ｍ－ＣＳＦまたは、場合によりエピトープがその天然立体配座で提示されることを許容するもう１つ別のポリペプチドに融合した、所望エピトープを保持するＭ－ＣＳＦのフラグメントであり得る。あるいは、その細胞表面でＭ－ＣＳＦを発現する細胞は、抗体を作製するために使用できる。そのような細胞は、Ｍ－ＣＳＦを発現するように形質転換できるか、またはＭ－ＣＳＦを発現する他の天然に生じる細胞であり得る。抗体を作製するために有用な他の形態のＭ－ＣＳＦは当業者に明らかである。

【００９７】

ポリクローナル抗体

ポリクローナル抗体は、好ましくは関連抗原とアジュバントの多回皮下（ｓｃ）または腹腔内（ｉｐ）注射により動物において惹起される。関連抗原を、二官能性または誘導体化試薬、たとえばマレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル（システイン残基を通して複合）、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（リシン残基を通して）、グルタルアルデヒド、無水コハク酸または当技術分野で公知の他の試薬を用いて、免疫する種において免疫原性であるタンパク質、たとえばキーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリンまたはダイズトリプシンインヒビターに複合することにより、改善された抗体応答が得られ得る。

【００９８】

動物を、たとえばタンパク質または複合体１００μｇまたは５μｇ（それぞれウサギまたはマウスについて）を３容のフロイント完全アジュバントと組み合わせ、この溶液を多数の部位に皮内注射することにより、抗原、免疫原性複合体または誘導体に対して免疫する。１ヵ月後、フロイント完全アジュバント中、最初の量の１／５－１／１０のペプチドまたは複合体で動物を追加免疫する。追加免疫注射後７－１４日目に、動物から採血し、血清を抗体力価に関して検定する。力価が横ばい状態になるまで動物を追加免疫する。好ましくは、同じ抗原の複合体であるが、異なるタンパク質に複合したおよび／または異なる架橋試薬を通して複合した複合体で動物を追加免疫する。複合体はまた、タンパク質融合物として組換え細胞培養においても作製できる。また、ミョウバンなどの凝集剤も免疫応答を増強するために適切に使用される。

【００９９】

モノクローナル抗体

モノクローナル抗体は、Ｋｏｈｌｅｒら、Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５（１９７５）によって最初に述べられたハイブリドーマ法を用いて作製し得るかまたは組換えＤＮＡ法によって作製し得る。

【０１００】

ハイブリドーマ法では、マウス、あるいはハムスターまたはマカク属のサルなどの他の適切な宿主動物を、免疫のために使用するタンパク質に特異的に結合する抗体を産生するまたは産生することができるリンパ球を惹起するためにここで述べるように免疫する。また、リンパ球はインビトロで免疫してもよい。リンパ球を、次に、ハイブリドーマ細胞を形成するためにポリエチレングリコールなどの適切な融合剤を用いて骨髄腫細胞と融合する（Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，ｐ．５９－１０３（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８６））。

【０１０１】

このようにして作製したハイブリドーマ細胞を、好ましくは融合していない親骨髄腫細胞の増殖または生存を阻害する１またはそれ以上の物質を含む、適切な培地に接種し、増殖させる。たとえば親骨髄腫細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴまたはＨＰＲＴ）を欠く場合、ハイブリドーマのための培地は、典型的にはヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジンを含み（ＨＡＴ培地）、これらの物質はＨＧＰＲＴ欠損細胞の増殖を妨げる。

【０１０２】

好ましい骨髄腫細胞は、効率的に融合し、選択抗体産生細胞による抗体の安定な高レベル産生を支持し、培地に対して感受性であるものである。ヒト骨髄腫およびマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞系もヒトモノクローナル抗体の生産に関して記述されている（Ｋｏｚｂｏｒ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１（１９８４）；Ｂｒｏｄｅｕｒら、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐ．５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７））。例示的なマウス骨髄腫細胞系は、Ｓａｌｋ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｃｅｌｌ Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．ＵＳＡより入手可能なＭＯＰ－２１およびＭ．Ｃ．－１１マウス

腫瘍に由来するもの、およびＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，Ｍｄ．ＵＳＡより入手可能なＳＰ－２またはＸ６３－Ａｇ８－６５３細胞を含む。

【０１０３】

ハイブリドーマ細胞が増殖中である培地を、抗原に対するモノクローナル抗体の生産に関して検定する。好ましくは、ハイブリドーマ細胞によって生産されるモノクローナル抗体の結合特異性を、免疫沈降法によって、あるいは放射免疫測定法（ＲＩＡ）または酵素結合イムノソルベント検定法（ＥＬＩＳＡ）などのインビトロ結合アッセイによって測定する。モノクローナル抗体の結合親和性は、たとえばスカッチャード分析によって測定できる（Ｍｕｎｓｏｎら、Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１０７：２２０（１９８０））。

【０１０４】

所望特異性、親和性および／または活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定した後、クローンを限界希釈法によってサブクローニングし、標準方法によって増殖させ得る（Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，ｐ．５９－１０３（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，１９８６））。このための適切な培地は、たとえばＤ－ＭＥＭまたはＲＰＭＩ－１６４０培地を含む。加えて、ハイブリドーマ細胞は、動物における腹水腫瘍としてインビボで増殖させ得る。サブクローンによって分泌されるモノクローナル抗体を、たとえばプロテインＡ－セファロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析またはアフィニティークロマトグラフィーなどの従来の免疫グロブリン精製手法によって培地、腹水または血清から適切に分離する。

【０１０５】

抗体の組換え生産

モノクローナル抗体をコードするＤＮＡは、従来の手法を用いて（たとえばモノクローナル抗体の重および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドを使用することによって）ハイブリドーマ細胞から単離し、配列決定し得る。配列決定は一般に、対象とする遺伝子またはｃＤＮＡの少なくとも一部の単離を必要とする。通常これは、モノクローナル抗体をコードするＤＮＡまたは、好ましくはｍＲＮＡ（すなわちｃＤＮＡ）をクローニングすることを必要とする。クローニングは標準手法を用いて実施される（たとえば参照によりここに組み込まれる、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（１９８９）Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｇｕｉｄｅ，Ｖｏｌｓ １－３，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ参照）。たとえばｃＤＮＡライブラリーをポリＡ＋ｍＲＮＡ、好ましくは膜結合ｍＲＮＡの逆転写によって構築し、ヒト免疫グロブリンポリペプチド遺伝子配列に特異的なプローブを用いてライブラリーをスクリーニングし得る。好ましい実施形態では、しかし、対象免疫グロブリン遺伝子セグメント（たとえば軽鎖可変セグメント）をコードするｃＤＮＡ（または完全長ｃＤＮＡの部分）を増幅するためにポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）を使用する。増幅された配列は、何らかの適切なベクター、たとえば発現ベクター、ミニ遺伝子ベクターまたはファージディスプレイベクターに容易にクローニングすることができる。使用するクローニングの特定方法は、対象免疫グロブリンペプチドのある程度の部分の配列を決定することが可能である限り、決定的に重要でないことは認識される。ここで使用する、「単離」核酸分子または「単離」核酸配列は、（１）同定され、核酸の天然ソースにおいて通常結合している少なくとも１つの汚染核酸分子から分離されている、または（２）対象核酸の配列が決定できるようにクローニングされ、増幅され、標識化されている、またはさもなければバックグラウンド核酸から区別される、単離されているとみなされる核酸分子である。単離核酸分子は、それが天然で認められる形態または環境以外である。単離核酸分子は、それゆえ、天然細胞において存在する核酸分子とは区別される。しかし、単離核酸分子は、たとえば核酸分子が天然細胞の位置とは異なる染色体位置にある抗体を通常発現する細胞に含まれる核酸分子を包含する。

【０１０６】

クローニングと配列決定のために使用されるＲＮＡの１つのソースは、トランスジェニックマウスからＢ細胞を得て、そのＢ細胞を不死化細胞に融合することによって作製されるハイブリドーマである。ハイブリドーマを使用することの利点は、それらが容易にスクリーニングできること、および対象ヒトモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを容易に選択できることである。あるいは、ＲＮＡを免疫動物のＢ細胞（または全脾）から単離することができる。ハイブリドーマ以外のソースを使用するときは、特異的結合特徴を有する免疫グロブリンまたは免疫グロブリンポリペプチドをコードする配列に関してスクリーニングすることが望ましいと考えられる。そのようなスクリーニングのための１つの方法は、ファージディスプレイ技術の使用である。ファージディスプレイは、たとえば、各々が参照によりここに組み込まれる、Ｄｏｗｅｒら、国際公開番号第ＷＯ９１／１７２７１号、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、ＷＯ９２／０１０４７号、およびＣａｔｏｎとＫｏｐｒｏｗｓｋｉ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８７：６４５０－６４５４（１９９０）に述べられている。ファージディスプレイ技術を使用する１つの実施形態では、免疫したトランスジェニックマウスからｃＤＮＡ（または全脾ｃＤＮＡ）を単離し、ポリメラーゼ連鎖反応を用いて免疫グロブリンポリペプチドの一部、たとえばＣＤＲ領域をコードするｃＤＮＡを増幅し、増幅した配列をファージベクターに挿入する。対象ペプチド、たとえば所望結合特徴を有する可変領域ペプチドをコードするｃＤＮＡを、パニングなどの標準手法によって同定する。

【０１０７】

次に、増幅またはクローニングした核酸の配列を決定する。典型的には、免疫グロブリンポリペプチドの可変領域全体をコードする配列を決定するが、時として可変領域の一部だけ、たとえばＣＤＲコード部分だけを配列決定することで十分である。典型的には、配列決定される部分は少なくとも３０塩基長であり、しばしば可変領域の長さの少なくとも約３分の１または少なくとも約２分の１をコードする塩基が配列決定される。

【０１０８】

配列決定は、ｃＤＮＡライブラリーから単離されたクローンに関して、またはＰＣＲを使用するときは、増幅配列をサブクローニングした後または増幅セグメントの直接ＰＣＲ配列決定によって実施できる。配列決定は標準手法によって実施される（たとえば参照によりここに組み込まれる、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（１９８９）Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｇｕｉｄｅ，Ｖｏｌｓ １－３，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ、およびＳａｎｇｅｒ，Ｆ．ら（１９７７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７４：５４６３－５４６７参照）。クローニングした核酸の配列をヒト免疫グロブリン遺伝子およびｃＤＮＡの公表されている配列と比較することにより、当業者は、配列決定する領域に依存して、（ｉ）ハイブリドーマ免疫グロブリンポリペプチドの生殖細胞セグメント使用頻度（重鎖のアイソタイプを含む）および（ｉｉ）Ｎ領域付加および体細胞突然変異の過程から生じる配列を含む、重および軽鎖可変領域の配列を容易に決定することができる。免疫グロブリン遺伝子配列情報の１つのソースは、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｌｉｂｒａｒｙ ｏｆ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄである。

【０１０９】

ひとたび単離されれば、ＤＮＡを発現ベクターに導入することができ、次にそれを、組換え宿主細胞におけるモノクローナル抗体の合成を得るために、大腸菌細胞、シミアンＣＯＳ細胞、ヒト胚腎２９３細胞（たとえば２９３Ｅ細胞）、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、またはさもなければ免疫グロブリンタンパク質を産生しない骨髄腫細胞などの宿主細胞にトランスフェクトする。抗体の組換え生産は当技術分野において周知である。

【０１１０】

発現制御配列は、特定宿主生物における作動可能に連結されたコード配列の発現のため

に必要なＤＮＡ配列を指す。原核生物に適する制御配列は、たとえばプロモーター、場合によりオペレーター配列、およびリボソーム結合部位を含む。真核細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナルおよびエンハンサーを利用することが知られる。

【０１１１】

核酸は、もう１つ別の核酸配列と機能的関係に置かれているとき、作動可能に連結されている。たとえばプレ配列または分泌リーダーについてのＤＮＡは、それがポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現される場合、ポリペプチドについてのＤＮＡに作動可能に連結されている；プロモーターまたはエンハンサーは、それが配列の転写に影響を及ぼす場合、コード配列に作動可能に連結されている；あるいはリボソーム結合部位は、それが翻訳を促進するように位置づけられている場合、コード配列に作動可能に連結されている。一般に、作動可能に連結されるとは、連結されるＤＮＡ配列が隣接すること、および分泌リーダーの場合は、隣接し、リーディング相内にあることを意味する。しかし、エンハンサーは隣接する必要がない。連結は、好都合な制限部位での連結によって達成される。そのような部位が存在しない場合は、合成オリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーが従来の慣例に従って使用される。

【０１１２】

細胞、細胞系および細胞培養はしばしば交換可能に使用され、ここではそのような名称はすべて子孫を含む。形質転換体および形質転換細胞は、転移の数に関わりなく一次対象細胞およびそれに由来する培養物を含む。また、すべての子孫が、意図的または偶発的突然変異のために、ＤＮＡ含量において厳密に同じでなくてもよいことは了解される。最初に形質転換した細胞においてスクリーニングされたときと同じ機能または生物活性を有する突然変異子孫は包含される。異なる名称が意図される場合は、文脈から明らかである。

【０１１３】

選択的実施形態では、対象免疫グロブリンのアミノ酸配列は、直接タンパク質配列決定によって決定され得る。適切なコードヌクレオチド配列は、普遍コドン表に従って設計できる。

【０１１４】

所望抗体のアミノ酸配列変異体は、コードＤＮＡに適切なヌクレオチド変化を導入することによって、またはペプチド合成によって作製し得る。そのような変異体は、たとえば抗体のアミノ酸配列内の残基からの欠失および／または残基への挿入および／または残基の置換を含む。最終構築物が所望特徴を有することを条件として、欠失、挿入および置換のいかなる組合せも、最終構築物に到達するために作製し得る。グリコシル化部位の数または位置の変化などのアミノ酸変化も、モノクローナル、ヒト、ヒト化、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）または変異抗体の翻訳後工程を変化させ得る。

【０１１５】

抗体のアミノ酸配列変異体をコードする核酸分子は、当技術分野で公知の様々な方法によって作製される。これらの方法は、天然ソースからの単離（天然に生じるアミノ酸配列変異体の場合）、あるいはオリゴヌクレオチドを介した（または部位指定）突然変異誘発、ＰＣＲ突然変異誘発、および先に作製された変異体または非変異型抗体のカセット突然変異誘発による作製を含むが、これらに限定されない。

【０１１６】

本発明はまた、場合により宿主細胞によって認識される制御配列に作動可能に連結された、本発明の抗体をコードする単離核酸、前記核酸を含むベクターおよび宿主細胞、および、核酸が発現されるように宿主細胞を培養することおよび、場合により、宿主細胞培養物または培地から抗体を回収することを含み得る、抗体の生産のための組換え手法を提供する。

【０１１７】

抗体の組換え生産のために、抗体をコードする核酸を単離し、さらなるクローニング（ＤＮＡの増幅）のためまたは発現のために複製可能ベクターに挿入する。モノクローナル抗体をコードするＤＮＡは、従来の手順を用いて（たとえば抗体の重および軽鎖をコード

する遺伝子に特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）容易に単離され、配列決定される。多くのベクターが使用可能である。ベクターの成分は一般に以下のうちの１個またはそれ以上を含むが、これらに限定されない：シグナル配列、複製起点、１またはそれ以上の選択マーカー遺伝子、エンハンサーエレメント、プロモーター、および転写終結配列。

【０１１８】

（１）シグナル配列成分

本発明の抗体は、組換えによって直接生産され得るだけでなく、好ましくはシグナル配列または成熟タンパク質またはポリペプチドのＮ末端に特異的切断部位を有する他のポリペプチドである、異種ポリペプチドとの融合ポリペプチドとしても生産され得る。選択されるシグナル配列は、好ましくは宿主細胞によって認識され、プロセシングされる（すなわちシグナルペプチダーゼによって切断される）ものである。原核生物宿主細胞が天然抗体シグナル配列を認識およびプロセシングしない場合、シグナル配列を、たとえばペクチン酸リアーゼ（たとえばｐｅｌＢ）アルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、ｌｐｐ、または熱安定エンテロトキシンＩＩリーダーの群から選択されるシグナル配列によって置換し得る。酵母分泌のためには、天然シグナル配列を、たとえば酵母インベルターゼリーダー、α因子リーダー（ＳａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓおよびＫｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓα因子リーダーを含む）、または酸性ホスファターゼリーダー、鵞口瘡カンジダグルコアミラーゼリーダー、または国際公開番号第ＷＯ９０／１３６４６号に述べられているシグナルによって置換し得る。哺乳動物細胞発現においては、哺乳動物シグナル配列ならびにウイルス分泌リーダー、たとえば単純疱疹ｇＤシグナルが使用可能である。

【０１１９】

そのような前駆体領域についてのＤＮＡを、リーディングフレーム内で、抗体をコードするＤＮＡに連結する。

【０１２０】

（２）複製起点成分

発現およびクローニングベクターはどちらも、ベクターが１またはそれ以上の選択宿主細胞において複製することを可能にする核酸配列を含む。一般に、クローニングベクターではこの配列は、ベクターが宿主染色体ＤＮＡとは独立して複製することを可能にするものであり、複製起点または自律複製配列を含む。そのような配列は様々な細菌、酵母およびウイルスに関して周知である。プラスミドｐＢＲ３２２からの複製起点は大部分のグラム陰性細菌に適し、２μプラスミド起点は酵母に適し、様々なウイルス起点は哺乳動物細胞におけるクローニングベクターのために有用である。一般に、複製起点成分は哺乳動物発現ベクターのためには必要ない（ＳＶ４０起点は、単にそれが初期プロモーターを含むので、典型的に使用され得る）。

【０１２１】

（３）選択マーカー成分

発現およびクローニングベクターは、選択マーカーとも称される、選択遺伝子を含み得る。典型的な選択遺伝子は、（ａ）抗生物質または他の毒素、たとえばアンピシリン、ネオマイシン、メトトレキセート、テトラサイクリン、Ｇ４１８、ゲネチシン、ヒスチジノールまたはミコフェノール酸に対する耐性を与える、（ｂ）栄養要求性欠損を補う、または（ｃ）複合培地からは得られない重要な栄養素を供給するタンパク質をコードし、たとえばバチルス属についてはＤ－アラニンラセマーゼをコードする遺伝子である。

【０１２２】

選択スキームの一例は、宿主細胞の増殖を停止させる薬剤を利用する。異種遺伝子で成功裏に形質転換されたそれらの細胞は、薬剤耐性を与えるタンパク質を生産し、それゆえ選択レジメンを生き延びる。そのような優性選択の例は、薬剤メトトレキセート、ネオマシン、ヒスチジノール、ピューロマイシン、ミコフェノール酸およびハイグロマイシンを使用する。

【０１２３】

哺乳動物細胞のための適切な選択マーカーのもう１つの例は、ＤＨＦＲ、チミジンキナーゼ、メタロチオネイン－Ｉおよび－ＩＩ、好ましくは霊長動物メタロチオネイン遺伝子、アデノシンデアミナーゼ、オルニチンデカルボキシラーゼ等のような、抗体をコードする核酸を採集するために適格な細胞の同定を可能にするものである。

【０１２４】

たとえばＤＨＦＲ選択遺伝子で形質転換した細胞を、最初に、ＤＨＦＲの競合的拮抗物質であるメトトレキセート（Ｍｔｘ）を含む培地ですべての形質転換体を培養することによって同定する。野生型ＤＨＦＲを使用するとき、適切な宿主細胞は、ＤＨＦＲ活性を有さないチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞系である。

あるいは、本発明の抗体をコードするＤＮＡ配列、野生型ＤＨＦＲタンパク質、およびアミノグリコシド３’－ホスホトランスフェラーゼ（ＡＰＨ）などのもう１つ別の選択マーカーで形質転換または共形質転換した宿主細胞（特に内因性ＤＨＦＲを含む野生型宿主）は、アミノグリコシド系抗生物質、たとえばカナマイシン、ネオマイシン、またはＧ４１８などの選択マーカーのための選択試薬を含む培地での細胞増殖によって選択できる。たとえば米国特許第４，９６５，１９９号参照。

【０１２５】

酵母における使用のための適切な選択遺伝子は、酵母プラスミドＹＲｐ７に存在するｔｒｐ１遺伝子である（Ｓｔｉｎｃｈｃｏｍｂら、Ｎａｔｕｒｅ，２８２：３９（１９７９））。ｔｒｐ１遺伝子は、トリプトファン中で増殖する能力を欠く突然変異型菌株の酵母、たとえばＡＴＣＣ　Ｎｏ．４４０７６またはＰＥＰ４－１についての選択マーカーを提供する。Ｊｏｎｅｓ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，８５：１２（１９７７）。酵母宿主細胞ゲノムにおけるｔｒｐ１病変の存在は、その後、トリプトファンの不在下での増殖によって形質転換を検出するための有効な環境を提供する。同様に、Ｌｅｕ２欠損酵母菌株（ＡＴＣＣ　２０，６２２または３８，６２６）は、Ｌｅｕ２遺伝子を担持する公知のプラスミドによって補足される。Ｕｒａ３欠損酵母菌株は、ｕｒａ３遺伝子を担持するプラスミドによって補足される。

【０１２６】

加えて、１．６μｍ環状プラスミドｐＫＤ１に由来するベクターは、Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ酵母の形質転換のために使用できる。あるいは、組換え仔ウシキモシンの大規模生産のための発現系がＫ．ｌａｃｔｉｓに関して報告された。Ｖａｎ　ｄｅｎ　Ｂｅｒｇ，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，８：１３５（１９９０）。Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓの工業的菌株による成熟組換えヒト血清アルブミンの分泌のための安定な多コピー発現ベクターも開示されている。Ｆｌｅｅｒら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，９：９６８－９７５（１９９１）。

【０１２７】

（４）プロモーター成分

発現およびクローニングベクターは通常、宿主生物によって認識され、抗体をコードする核酸に作動可能に連結されたプロモーターを含む。原核生物宿主に関する使用に適するプロモーターは、アラビノース（たとえばａｒａＢ）プロモーター、ｐｈｏＡプロモーター、β－ラクタマーゼおよびラクトースプロモーター系、アルカリホスファターゼ、トリプトファン（ｔｒｐ）プロモーター系、およびｔａｃプロモーターなどのハイブリッドプロモーターを含む。しかし、他の公知の細菌プロモーターも適切である。細菌系における使用のためのプロモーターはまた、本発明の抗体をコードするＤＮＡに作動可能に連結されたシャイン－ダルガーノ配列を含む。

【０１２８】

真核生物に関しては、プロモーター配列は公知である。実質的にすべての真核生物遺伝子が、転写が開始される部位から約２５－３０塩基上流に位置する、ＡＴに富む領域を有する。多くの遺伝子の転写開始部位から７０－８０塩基上流に認められるもう１つの配列は、ＣＮＣＡＡＴ領域［Ｎはいかなるヌクレオチドでもよい］である。大部分の真核生物遺伝子の３’末端には、コード配列の３’末端へのポリＡ尾部の付加のためのシグナルと

考えられるＡＡＴＡＡＡ配列が存在する。これらの配列はすべて、真核生物発現ベクターに適切に挿入される。

【０１２９】

酵母宿主に関する使用のための適切なプロモーター配列の例は、３－ホスホグリセリン酸キナーゼ、またはエノラーゼ、グリセルアルデヒド－３－リン酸デヒドロゲナーゼ、ヘキソキナーゼ、ピルビン酸デカルボキシラーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、グルコース－６－リン酸イソメラーゼ、３－ホスホグリセリン酸ムターゼ、ピルビン酸キナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、ホスホグルコースイソメラーゼおよびグルコキナーゼなどの他の解糖系酵素を含む。

【０１３０】

転写が増殖条件によって制御されるという付加的な利点を有する誘導的プロモーターである他の酵母プロモーターは、アルコールデヒドロゲナーゼ２、イソシトクロムＣ、酸性ホスファターゼ、窒素代謝に関連する分解酵素、メタロチオネイン、グリセルアルデヒド－３－リン酸デヒドロゲナーゼ、およびマルトースおよびガラクトース利用の役割を担う酵素についてのプロモーター領域である。酵母発現における使用のための適切なベクターおよびプロモーターは、欧州特許第ＥＰ７３，６５７号においてさらに説明されている。酵母エンハンサーも、酵母プロモーターと共に好都合に使用される。

【０１３１】

哺乳動物宿主細胞におけるベクターからの抗体転写は、プロモーターが宿主細胞系と適合性であることを条件として、たとえばアベルソン白血病ウイルス、ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス（アデノウイルス２など）、ウシパピローマウイルス、鳥類肉腫ウイルス、最も好ましくはサイトメガロウイルス、レトロウイルス、Ｂ型肝炎ウイルス、シミアンウイルス４０（ＳＶ４０）などのウイルスのゲノムから得られるプロモーター、異種哺乳動物プロモーターから得られるプロモーター、たとえばアクチンプロモーターまたは免疫グロブリンプロモーター、熱ショックプロモーターから得られるプロモーターによって制御される。

【０１３２】

ＳＶ４０ウイルスの初期および後期プロモーターは、ＳＶ４０ウイルス複製起点を同時に含むＳＶ４０制限フラグメントとして好都合に得られる。ヒトサイトメガロウイルスの最初期プロモーターは、ＨｉｎｄＩＩＩ　Ｅ制限フラグメントとして好都合に得られる。ウシパピローマウイルスをベクターとして使用して哺乳動物宿主においてＤＮＡを発現するための系が米国特許第４，４１９，４４６号に開示されている。この系の修飾が米国特許第４，６０１，９７８号に述べられている。単純疱疹ウイルスからのチミジンキナーゼプロモーターの制御下でのマウス細胞におけるヒトβ－インターフェロンｃＤＮＡの発現に関して、Ｒｅｙｅｓら、Ｎａｔｕｒｅ　２９７：５９８－６０１（１９８２）も参照のこと。あるいは、ラウス肉腫ロングターミナルリピートがプロモーターとして使用できる。

【０１３３】

（５）エンハンサーエレメント成分

高等真核生物による、本発明の抗体をコードするＤＮＡの転写は、しばしばエンハンサー配列をベクターに挿入することによって上昇する。多くのエンハンサー配列が哺乳動物遺伝子から現在公知である（グロビン、エラスターゼ、アルブミン、α－フェトプロテインおよびインスリン）。典型的には、しかしながら、真核細胞ウイルスからのエンハンサーを使用する。例は、複製起点の後期側のＳＶ４０エンハンサー（ｂｐ１００－２７０）、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、複製起点の後期側のポリオーマエンハンサーおよびアデノウイルスエンハンサーを含む。真核生物プロモーターの活性化のためのエンハンサーエレメントに関して、Ｙａｎｉｖ，Ｎａｔｕｒｅ　２９７：１７－１８（１９８２）も参照のこと。エンハンサーは、抗体コード配列の５’または３’側の位置でベクターにスプライシングされ得るが、好ましくはプロモーターから５’側の部位に位置する。

【０１３４】
（６）転写終結成分
真核宿主細胞（酵母、真菌、昆虫、植物、動物、ヒト、または他の多細胞生物からの有核細胞）において使用される発現ベクターは、転写の終結のためおよびｍＲＮＡを安定化するために必要な配列も含む。そのような配列は、一般に真核生物またはウイルスＤＮＡまたはｃＤＮＡの５’および場合により３’非翻訳領域から得られ得る。これらの領域は、抗体をコードするｍＲＮＡの非翻訳部分内にポリアデニル化フラグメントとして転写されるヌクレオチドセグメントを含む。１つの有用な転写終結成分は、ウシ成長ホルモンポリアデニル化領域である。国際公開番号第ＷＯ９４／１１０２６号およびその中で開示される発現ベクター参照。もう１つは、マウス免疫グロブリン軽鎖転写ターミネーターである。
【０１３５】
（７）宿主細胞の選択および形質転換
ここでベクターにおいてＤＮＡをクローニングまたは発現するための適切な宿主細胞は、上述した原核生物、酵母または高等真核生物細胞である。このための適切な原核生物は、グラム陰性またはグラム陽性生物などの真正細菌、たとえばＥｓｃｈｅｒｉｃｈｉａなどのＥｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒｉａｃｅａｅ、たとえば大腸菌、Ｅｎｔｅｒｏｂａｃｔｅｒ、Ｅｒｗｉｎｉａ、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ、Ｐｒｏｔｅｕｓ、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、たとえばネズミチフス菌、Ｓｅｒｒａｔｉａ、たとえば霊菌、およびＳｈｉｇｅｌｌａ、ならびに枯草菌およびＢ．ｌｉｃｈｅｎｉｆｏｒｍｉｓ（たとえば１９８９年４月１２日公開のドイツ特許第ＤＤ２６６，７１０号に開示されているＢ．ｌｉｃｈｅｎｉｆｏｒｍｉｓ　４１Ｐ）などのＢａｃｉｌｌｉ、緑膿菌などのＰｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ、およびＳｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓを含む。１つの好ましい大腸菌クローニング宿主は、大腸菌２９４（ＡＴＣＣ　３１，４４６）であるが、大腸菌Ｂ、大腸菌Ｘ１７７６（ＡＴＣＣ　３１，５３７）および大腸菌Ｗ３１１０（ＡＴＣＣ　２７，３２５）などの他の菌株も適切である。これらの例は限定ではなく例示である。
【０１３６】
原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物は、抗体をコードするベクターのための適切なクローニングまたは発現宿主である。ビール酵母菌または一般的なパン酵母は、下等真核宿主微生物において最も一般的に使用される。しかし、Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｐｏｍｂｅ；たとえばＫ．ｌａｃｔｉｓ、Ｋ．ｆｒａｇｉｌｉｓ（ＡＴＣＣ　１２，４２４）、Ｋ．ｂｕｌｇａｒｉｃｕｓ（ＡＴＣＣ　１６，０４５）、Ｋ．ｗｉｃｋｅｒａｍｉｉ（ＡＴＣＣ　２４，１７８）、Ｋ．ｗａｌｔｉｉ（ＡＴＣＣ　５６，５００）、Ｋ．ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａｒｕｍ（ＡＴＣＣ　３６，９０６）、Ｋ．ｔｈｅｒｍｏｔｏｌｅｒａｎｓおよびＫ．ｍａｒｘｉａｎｕｓなどのＫｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ宿主；ｙａｒｒｏｗｉａ（欧州特許第ＥＰ４０２，２２６号）；Ｐｉｃｈｉａ　ｐａｓｔｏｒｓ（欧州特許第ＥＰ１８３，０７０号）；Ｃａｎｄｉｄａ；Ｔｒｉｃｈｏｄｅｒｍａ　ｒｅｅｓｉａ（欧州特許第ＥＰ２４４，２３４号）；Ｎｅｕｒｏｓｐｏｒａ　ｃｒａｓｓａ；　Ｓｃｈｗａｎｎｉｏｍｙｃｅｓ　ｏｃｃｉｄｅｎｔａｌｉｓなどのＳｃｈｗａｎｎｉｏｍｙｃｅｓ；およびたとえばＮｅｕｒｏｓｐｏｒａ、Ｐｅｎｉｃｉｌｌｉｕｍ、Ｔｏｌｙｐｏｃｌａｄｉｕｍなどの糸状菌、およびＡ．ｎｉｄｕｌａｎｓおよび黒色アスペルギルスなどのＡｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ宿主などの、多くの他の属、種および菌株が一般的に入手可能であり、ここで有用である。
【０１３７】
グリコシル化抗体の発現のための適切な宿主細胞は多細胞生物に由来する。無脊椎動物細胞の例は、植物および昆虫細胞を含む。Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ　ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ（毛虫）、Ａｅｄｅｓ　ａｅｇｙｐｔｉ（蚊）、Ａｅｄｅｓ　ａｌｂｏｐｉｃｔｕｓ（蚊）、キイロショウジョウバエ（ハエ）およびＢｏｍｂｙｘ　ｍｏｒｉなどの宿主から数多くのバキュロウイルス菌株および変異体および対応する許容昆虫宿主細胞が同定された。トランスフェクションのための様々なウイルス菌株、たとえばＡｕｔｏｇｒａｐｈａ

ｃａｌｉｆｏｒｎｉｃａ ＮＰＶおよびＢｏｍｂｙｘ ｍｏｒｉ ＮＰＶのＢｍ－５菌株が公的に入手可能であり、そのようなウイルスは、特にＳｐｏｄｏｐｔｅｒａ ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ細胞のトランスフェクションのために、本発明に従ってここでウイルスとして使用し得る。

【０１３８】

綿、トウモロコシ、ジャガイモ、ダイズ、ペチュニア、トマト、タバコ、ウキクサ（ｋｅｍｎａ）、および他の植物細胞も宿主として利用できる。

【０１３９】

しかし、脊椎動物細胞が最も興味深く、培養（組織培養）下での脊椎動物細胞の増殖は常套的手段となっている。有用な哺乳動物宿主細胞系の例は、ＣＨＯＫ１細胞（ＡＴＣＣ ＣＣＬ６１）、ＤＸＢ－１１、ＤＧ－４４を含むチャイニーズハムスター卵巣細胞、およびチャイニーズハムスター卵巣細胞／－ＤＨＦＲ（ＣＨＯ、Ｕｒｌａｕｂら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４２１６（１９８０））；ＳＶ４０によって形質転換されたサル腎ＣＶ１系統（ＣＯＳ－７、ＡＴＣＣ ＣＲＬ １６５１）；ヒト胚腎細胞系統（２９３または懸濁液培養中での増殖のためにサブクローニングされた２９３細胞［Ｇｒａｈａｍら、Ｊ．Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ．３６：５９（１９７７）］；ベビーハムスター腎細胞（ＢＨＫ、ＡＴＣＣ ＣＣＬ １０）；マウスセルトリ細胞（ＴＭ４、Ｍａｔｈｅｒ，Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．２３：２４３－２５１（１９８０））；サル腎細胞（ＣＶ１ ＡＴＣＣ ＣＣＬ ７０）；アフリカミドリザル腎細胞（ＶＥＲＯ－７６、ＡＴＣＣ ＣＲＬ－１５８７）；ヒト子宮頸癌細胞（ＨＥＬＡ、ＡＴＣＣ ＣＣＬ ２）；イヌ腎細胞（ＭＤＣＫ、ＡＴＣＣ ＣＣＬ ３４）；バッファローラット肝細胞（ＢＲＬ ３Ａ、ＡＴＣＣ ＣＲＬ１４４２）；ヒト肺細胞（Ｗ１３８、ＡＴＣＣ ＣＣＬ ７５）；ヒト肝細胞（Ｈｅｐ Ｇ２、ＨＢ ８０６５）；マウス乳腺癌（ＭＭＴ ０６０５６２、ＡＴＣＣ ＣＣＬ５１）；ＴＲＩ細胞（Ｍａｔｈｅｒら、Ａｎｎａｌｓ Ｎ．Ｙ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．３８３：４４－６８（１９８２））；ＭＲＣ ５細胞；ＦＳ４細胞；およびヒト肝細胞癌系統（Ｈｅｐ Ｇ２）である。

【０１４０】

宿主細胞を、抗体生産のために上述した発現またはクローニングベクターで形質転換またはトランスフェクトして、プロモーターを誘導する、形質転換体を選択する、または所望配列をコードする遺伝子を増幅するために適宜に改変した従来の栄養培地で培養する。加えて、新規ベクターおよび選択マーカーによって分離された多コピーの転写ユニットを有するトランスフェクト細胞系は特に有用であり、Ｍ－ＣＳＦを標的する抗体の発現のために好ましい。

【０１４１】

（８）宿主細胞の培養

本発明の抗体を生産するために使用する宿主細胞は様々な培地で培養し得る。Ｈａｍ’ｓ Ｆ１０（Ｓｉｇｍａ）、最小必須培地（（ＭＥＭ）、（Ｓｉｇｍａ）、ＲＰＭＩ－１６４０（Ｓｉｇｍａ）およびダルベッコ改変イーグル培地（（ＤＭＥＭ）、Ｓｉｇｍａ）などの市販の培地が宿主細胞を培養するのに適する。加えて、Ｈａｍら、Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚ．５８： ４４（１９７９）、Ｂａｒｎｅｓら、Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１０２：２５５（１９８０）、米国特許第４，７６７，７０４号；同第４，６５７，８６６号；同第４，９２７，７６２号；同第４，５６０，６５５号；または５，１２２，４６９号；国際公開番号第ＷＯ９０１０３４３０号；同第ＷＯ８７／００１９５号；または米国特許第３０，９８５号に述べられている培地のいずれかを宿主細胞のための培地として使用し得る。これらの培地のいずれかに、ホルモンおよび／または他の成長因子（インスリン、トランスフェリンまたは上皮増殖因子など）、塩（塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウムおよびリン酸塩など）、緩衝剤（ＨＥＰＥＳなど）、ヌクレオチド（アデノシンおよびチミジンなど）、抗生物質（Ｇｅｎｔａｍｙｃｉｎ（商標）薬剤など）、微量元素（通常マイクロモル範囲内の最終濃度で存在する無機化合物と定義される）、およびグルコースまたは等価エネルギー源を必要に応じて添加し得る。他のいかなる必要な添加物も、当

業者に公知の適切な濃度で含まれ得る。温度、ｐＨ等のような培養条件は、発現のために選択される宿主細胞に関してこれまでに使用されたものであり、当業者には明白である。

【０１４２】

（９）抗体の精製

組換え手法を使用するとき、抗体は、細胞内で、細胞周辺腔で生産され得るか、または微生物培養からを含めて、培地に直接分泌され得る。抗体が細胞内で生産される場合は、最初の工程として、宿主細胞または溶解フラグメントである、微粒子デブリを、たとえば遠心分離または限外ろ過によって除去する。Ｂｅｔｔｅｒら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１０４１－１０４３（１９８８）；ＩＣＳＵ Ｓｈｏｒｔ Ｒｅｐｏｒｔｓ １０：１０５（１９９０）；およびＰｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：４５７－４６１（１９９３）は、大腸菌の細胞周辺腔に分泌された抗体を単離するための手順を述べている［Ｃａｒｔｅｒら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：１６３－１６７（１９９２）も参照］。

【０１４３】

微生物または哺乳動物細胞から調製される抗体組成物は、たとえばヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、陽イオンまたは陰イオン交換クロマトグラフィー、およびアフィニティークロマトグラフィーを使用して精製することができ、アフィニティークロマトグラフィーが好ましい精製手法である。アフィニティーリガンドとしてのプロテインＡの適否は、抗体内に存在する免疫グロブリンＦｃドメインの種およびアイソタイプに依存する。プロテインＡは、ヒトγ１、γ２またはγ４重鎖に基づく抗体を精製するために使用できる（Ｌｉｎｄｍａｒｋら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．６２：１－１３（１９８３））。プロテインＧは、すべてのマウスアイソタイプおよびヒトγ３に関して推奨される（Ｇｕｓｓら、ＥＭＢＯ Ｊ．５：１５６７－１５７５（１９８６））。アフィニティーリガンドが結合するマトリックスはほとんどの場合アガロースであるが、他のマトリックスも使用可能である。細孔性ガラスまたはポリ（スチレンジビニル）ベンゼンなどの機械的に安定なマトリックスは、アガロースで達成できるよりも速い流速と短い処理時間を可能にする。抗体がC_H3ドメインを含む場合、Ｂａｋｅｒｂｏｎｄ ＡＢＸ（商標）樹脂（Ｊ．Ｔ．Ｂａｋｅｒ，Ｐｈｉｌｌｉｐｓｂｕｒｇ，Ｎ．Ｊ．）は精製のために有用である。イオン交換カラムでの分別、エタノール沈殿、逆相ＨＰＬＣ、シリカでのクロマトグラフィー、ヘパリンＳＥＰＨＡＲＯＳＥ（商標）でのクロマトグラフィー、陰イオンまたは陽イオン交換樹脂（ポリアスパラギン酸カラムなど）でのクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、および硫酸アンモニウム沈殿などのタンパク質精製のための他の手法も、回収する抗体に依存して使用可能である。

【０１４４】

キメラおよびヒト化抗体

キメラおよびヒト化抗体は親マウスモノクローナル抗体よりもヒトにおいて免疫原性が低いので、はるかに低いアナフィラキシーの危険度でヒトの治療のために使用できる。それゆえ、これらの抗体は、ヒトへのインビボ投与を含む治療適用において好ましいと考えられる。

【０１４５】

マウスモノクローナル抗体の可変Ｉｇドメインがヒト定常Ｉｇドメインに融合した、キメラモノクローナル抗体は、当技術分野で公知の標準手順を用いて作製できる（Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，Ｓ．Ｌ．ら（１９８４）Ｃｈｉｍｅｒｉｃ Ｈｕｍａｎ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ；Ｍｏｕｓｅ Ａｎｔｉｇｅｎ Ｂｉｎｄｉｎｇ Ｄｏｍａｉｎｓ ｗｉｔｈ Ｈｕｍａｎ Ｃｏｎｓｔａｎｔ Ｒｅｇｉｏｎ Ｄｏｍａｉｎｓ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８１，６８４１－６８５５；およびＢｏｕｌｉａｎｎｅ，Ｇ．Ｌ．ら、Ｎａｔｕｒｅ ３１２，６４３－６４６（１９８４）参照）。一部のキメラモノクローナル抗体はヒトにおいて免疫原性が低いことが証明されているが、マウス可変Ｉｇドメインは、まだ有意のヒト抗マウス応答を導き得る。

【０１４６】

ヒト化抗体は、たとえば（１）非ヒト相補性決定領域（ＣＤＲ）をヒトフレームワークおよび定常領域に移植すること（当技術分野で「ＣＤＲ移植」を通したヒト化と称される工程）、あるいは（２）非ヒト可変ドメイン全体を移植するが、表面残基の置換によってそれらをヒト様表面で「覆うこと（ｃｌｏａｋｉｎｇ）」（当技術分野で「ベニアリング」と称される工程）を含む、様々な方法によって達成し得る。本発明では、ヒト化抗体は、「ヒト化」および「ベニア化」抗体の両方を包含する。これらの方法は、たとえば、各々が参照によりここに組み込まれる、Ｊｏｎｅｓら、Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２－５２５（１９８６）；Ｍｏｒｒｉｓｏｎら、Ｐｒｏｃ． Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，Ｕ．Ｓ．Ａ．，８１：６８５１－６８５５（１９８４）；ＭｏｒｒｉｓｏｎとＯｉ，Ａｄｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，４４：６５－９２（１９８８）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｒら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３９：１５３４－１５３６（１９８８）；Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎ．２８：４８９－４９８（１９９１）；Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３１（３）：１６９－２１７（１９９４）；およびＫｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈ，Ｃ．Ａ．ら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．４（７）：７７３－８３（１９９１）に開示されている。

【０１４７】

特に、単独でまたは複合体としてのヒトにおける反復インビボ投与時のげっ歯動物抗体は、受容者においてげっ歯動物抗体に対する免疫応答；いわゆるＨＡＭＡ応答（ヒト抗マウス抗体）を生じさせる。ＨＡＭＡ応答は、反復投与が必要な場合、薬剤の有効性を制限し得る。ポリエチレングリコールなどの親水性ポリマーによる抗体の化学修飾によって、または抗体結合構造をよりヒト様にするための遺伝子操作の方法を使用することによって、抗体の免疫原性を低下させ得る。たとえばＣＥＡに結合するげっ歯動物抗体の可変ドメインについての遺伝子配列をヒト骨髄腫タンパク質の可変ドメインに置換することができ、それによって組換えキメラ抗体を作製する。これらの手順は、欧州特許第ＥＰ１９４２７６号、同第ＥＰ０１２０６９４号、同第ＥＰ０１２５０２３号、同第ＥＰ０１７１４９６号、同第ＥＰ０１７３４９４号および国際公開番号第ＷＯ８６／０１５３３号に詳述されている。あるいは、げっ歯動物抗体のＣＤＲの遺伝子配列を単離または合成し、相同なヒト抗体遺伝子の対応する配列領域に置換して、もとのげっ歯動物抗体の特異性を有するヒト抗体を生産し得る。これらの手順は、欧州特許第ＥＰ０２３９４０号、国際公開番号第ＷＯ９０／０７８６１号および同第ＷＯ９１／０９９６７号に述べられている。あるいは、げっ歯動物抗体の可変ドメインの多数の表面残基を、相同なヒト抗体で通常認められる残基に変更して、残基の表面「ベニア」を有し、それゆえヒト抗体によって自己と認識されるげっ歯動物抗体を作製し得る。このアプローチはＰａｄｌａｎら（１９９１）Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２８，４８９によって明らかにされた。

【０１４８】

ＣＤＲ移植は、マウス重および軽鎖可変Ｉｇドメインからの６個のＣＤＲのうちの１個またはそれ以上を、ヒト可変Ｉｇドメインの適切な４つのフレームワーク領域に導入することを含む。この手法（Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ，Ｌ．ら、Ｎａｔｕｒｅ ３３２，３２３（１９８８））は、保存されたフレームワーク領域（ＦＲ１－ＦＲ４）を、抗原との主要接触部位であるＣＤＲループを支持するための足場（ｓｃａｆｆｏｌｄ）として使用する。ＣＤＲ移植の難点は、しかし、フレームワーク領域のアミノ酸が抗原結合に寄与し得ること、およびＣＤＲループのアミノ酸が２つの可変Ｉｇドメインの結合に影響を及ぼし得ることから、もとのマウス抗体よりも実質的に低い結合親和性を有するヒト化抗体を生じ得ることである。ヒト化モノクローナル抗体の親和性を維持するために、もとのマウス抗体のフレームワーク領域に最も類似するヒトフレームワーク領域を選択することによって、および抗原結合部位のコンピュータモデリングによってフレームワークまたはＣＤＲ内の１個のアミノ酸の部位指定突然変異誘発によって、ＣＤＲ移植手法を改善することができる（たとえばＣｏ，Ｍ．Ｓ．ら（１９９４）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５２，２９６８－２９７６）。

【０１４９】

抗体をヒト化する１つの方法は、ヒト重および軽鎖配列に対して非ヒト重および軽鎖配列を整列すること、そのようなアラインメントに基づいて非ヒトフレームワークを選択し、ヒトフレームワークで置換すること、ヒト化配列の高次構造を予測するために分子モデリングし、親抗体の高次構造と比較することを含む。この工程に続いて、ヒト化配列モデルの予測高次構造が親非ヒト抗体の非ヒトＣＤＲの高次構造と密接に近似するまで、ＣＤＲの構造を妨げるＣＤＲ領域内の残基の復帰突然変異を反復する。そのようなヒト化抗体は、取込みと清掃を促進するために、たとえばＡｓｈｗｅｌｌ受容体によって、さらに誘導体化し得る（たとえば参照によりここに組み込まれる、米国特許第５，５３０，１０１号および同第５，５８５，０８９号参照）。

【０１５０】

合理的設計によるマウスモノクローナル抗体の多くのヒト化が報告されている（たとえば２００２年７月１１日公開の２００２００９１２４０号、国際公開番号第ＷＯ９２／１０１８号および米国特許第５，６９３，７６２号、米国特許第５，７６６，８６６号参照）。

【０１５１】

アミノ酸配列変異体

抗体の特定の残基または領域の同定のための有用な方法は、ＣｕｎｎｉｎｇｈａｍとＷｅｌｌｓ，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５（１９８９）によって述べられたように、「アラニンスキャニング突然変異誘発」と呼ばれる。ここでは、１個の残基または標的残基の群を同定し（たとえばａｒｇ、ａｓｐ、ｈｉｓ、ｌｙｓおよびｇｌｕなどの荷電残基）、抗原とアミノ酸の相互作用に影響を及ぼすために中性または負電荷を有するアミノ酸（最も好ましくはアラニンまたはポリアラニン）によって置換する。置換に対して機能的感受性を示すアミノ酸を、次に、置換部位にまたは置換部位の代わりにさらなるまたは他の変異体を導入することによって改良する。そこで、アミノ酸配列部位を導入するための部位はあらかじめ定められるが、突然変異の性質自体はあらかじめ定められる必要がない。たとえば所与の部位の突然変異の成績を分析するために、アラニンスキャニングまたはランダム突然変異誘発を標的コドンまたは領域で実施し、発現された抗体変異体を所望活性に関してスクリーニングする。

【０１５２】

アミノ酸配列挿入は、１個の残基から百個またはそれ以上の残基を含むポリペプチドまでの長さにわたるアミノ末端および／またはカルボキシ末端融合、ならびに１個または複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例は、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体、あるいはエピトープタグまたはサルベージ受容体エピトープに融合した抗体（抗体フラグメントを含む）を含む。抗体分子の他の挿入変異体は、たとえばＮ末端またはＣ末端における、抗体の血清半減期を上昇させるポリペプチドへの融合を含む。

【０１５３】

「エピトープ標識された」という用語は、エピトープタグに融合した抗体を指す。エピトープタグポリペプチドは、それに対する抗体が作製できるエピトープを提供するために十分な残基を有するが、まだ抗体の活性に干渉しないために十分な短さである。エピトープタグは、好ましくは、それに対する抗体が他のエピトープと実質的に交差反応しないために十分ユニークである。適切なタグポリペプチドは、一般に少なくとも６個のアミノ酸残基、通常は約８－５０個のアミノ酸残基（好ましくは約９－３０個の残基）を有する。例は、インフルエンザＨＡタグポリペプチドおよびその抗体１２ＣＡ５［Ｆｉｅｌｄら、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．８：２１５９－２１６５（１９８８）］；ｃ－ｍｙｃタグおよびそれに対する８Ｆ９、３Ｃ７、６Ｅ１０、Ｇ４、Ｂ７および９Ｅ１０抗体［Ｅｖａｎら、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．５（１２）：３６１０－３６１６（１９８５）］；および単純疱疹ウイルス糖タンパク質Ｄ（ｇＤ）タグおよびその抗体［Ｐａｂｏｒｓｋｙら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ３（６）：５４７－５５３（１９９０）］を含む。他の例示的なタグは、ニッケルキレート化を用いてそのように標識された化合物の単離を可能にする、一般に約６個のヒスチジン残基である、ポリヒスチジン配列で

ある。当技術分野において周知であり、常套的に使用される、ＦＬＡＧ（登録商標）タグ（Ｅａｓｔｍａｎ　Ｋｏｄａｋ，Ｒｏｃｈｅｓｔｅｒ，ＮＹ）などの他の標識およびタグは、本発明に包含される。

【０１５４】

ここで使用する、「サルベージ受容体結合エピトープ」という用語は、ＩｇＧ分子のインビボでの血清半減期を上昇させる役割を担うＩｇＧ分子のＦｃ領域のエピトープ（たとえばIgG_1、IgG_2、IgG_3またはIgG_4）を指す。

【０１５５】

もう１つの種類の変異体は、アミノ酸置換変異体である。これらの変異体は、抗体分子内の少なくとも１個のアミノ酸残基が除去されており、その位置に異なる残基が挿入されている。超可変またはＣＤＲ領域またはフレームワーク領域のいずれかにおける置換突然変異誘発が考慮される。保存的置換を表１に示す。最も保存的な置換は、「好ましい置換」の見出しの下に認められる。そのような置換が生物活性に変化を生じさせない場合は、表１において「例示的置換」と表わされる、またはアミノ酸クラスに関して以下でさらに説明される、より実質的な置換を導入し、その産物をスクリーニングし得る。

【０１５６】

【化２９】

表１

もとのアミノ酸	例示的置換	好ましい残基置換
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; asp, lys; gln	arg
Asp (D)	glu; asn	glu
Cys (C)	ser; ala	ser
Gln (Q)	asn; glu	asn
Glu (E)	asp; gln	asp
Gly (G)	ala	
His (H)	asn; gln; lys; arg	

【０１５７】

【化３０】

Ile (I)	leu; val; met; ala;	leu
	phe;	ノルロイシン
Leu (L)	ノルロイシン; ile; val;	ile
	met; ala; phe	
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	
Pro (P)	ala	
Ser (S)	thr	
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe;	leu
	ala; ノルロイシン	

抗体の生物学的性質の実質的な改変は、（ａ）たとえばシートまたはらせん高次構造としての、置換の領域内のポリペプチド骨格の構造、（ｂ）標的部位の分子の電荷または疎水性、または（ｃ）側鎖の体積、を維持することへの影響が有意に異なる置換を選択することによって達成される。天然に生じる残基は、共通する側鎖の性質に基づいて群に分類される：

（１）疎水性：ノルロイシン、メチオニン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン；

（２）中性親水性：システイン、セリン、トレオニン；

（３）酸性：アスパラギン酸、グルタミン酸；

（４）塩基性：アスパラギン、グルタミン、ヒスチジン、リシン、アルギニン；

（５）鎖の方向に影響を及ぼす残基：グリシン、プロリン；および

（６）芳香族：トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン。

【０１５８】

保存的置換は、そのクラスのもう１つ別の成員でアミノ酸を置換することを含む。非保存的置換は、別のクラスの成員でこれらのクラスの１つの成員を置換することを含む。

【０１５９】

モノクローナル、ヒト、ヒト化、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）または変異抗体の正しい高次構造を維持することに関与しないシステイン残基も、分子の酸化的安定性を改善するためおよび異常な架橋を防ぐために、一般にはセリンで、置換し得る。反対に、抗体の安定性を改善するためにシステイン結合を抗体に付加してもよい（特に抗体がＦｖフラグメントなどの抗体フラグメントである場合）。

【０１６０】

親和性成熟は、親抗体のＣＤＲ内に置換を有する抗体変異体を作製し、スクリーニングすること、および親抗体と比較して結合親和性などの改善された生物学的性質を有する変異体を選択することを含む。そのような置換変異体を生成するための好都合な方法は、フ

ァージディスプレイを使用した親和性成熟である。簡単に述べると、いくつかの超可変領域部位（たとえば６－７部位）を、各々の部位ですべての可能なアミノ酸置換を生じるように突然変異させる。このようにして生成された抗体変異体は、各々の粒子内にパッケージングされたＭ１３の遺伝子ＩＩＩ産物への融合物として線維状ファージ粒子から一価的に提示される。ファージ提示された変異体を、その後、それらの生物活性（たとえば結合親和性）に関してスクリーニングする。

【０１６１】

アラニンスキャニング突然変異誘発は、抗原結合に有意に寄与する超可変領域残基を同定するために実施できる。あるいは、またはそれに加えて、抗体と抗原の接触点を同定するために抗原－抗体複合体の結晶構造を分析することは有益であると考えられる。そのような接触残基および隣接残基は、ここで詳述する手法に従った置換のための候補である。ひとたびそのような変異体が生成されれば、変異体のパネルをここで述べるようにスクリーニングに供し、１またはそれ以上の関連アッセイにおいて卓越した性質を有する抗体をさらなる開発のために選択し得る。

【０１６２】

親抗体と比べて改変されたグリコシル化パターンを有する、たとえば抗体で認められる１またはそれ以上の糖質部分が欠失している、および／または抗体には存在しない１またはそれ以上のグリコシル化部位が付加されている、抗体変異体も生産できる。

【０１６３】

抗体のグリコシル化は、典型的にはＮ－結合型またはＯ－結合型のいずれかである。Ｎ－結合型は、アスパラギン残基の側鎖への糖質部分の結合を指す。アスパラギン－Ｘ－セリンおよびアスパラギン－Ｘ－トレオニン［Ｘはプロリン以外のアミノ酸である］のトリペプチド配列は、アスパラギン側鎖への糖質部分の酵素結合のための認識配列である。ポリペプチド内のこれらのトリペプチド配列のいずれかの存在は、潜在的グリコシル化部位を創造する。それゆえＮ－結合型グリコシル化部位は、これらのトリペプチド配列のうちの１個またはそれ以上を含むようにアミノ酸配列を変化させることによって抗体に付加し得る。Ｏ－結合型グリコシル化は、ヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリンまたはトレオニンへの糖類Ｎ－アセチルガラクトサミン、ガラクトースまたはキシロースの１つの結合を指すが、５－ヒドロキシプロリンまたは５－ヒドロキシリシンも使用され得る。Ｏ－結合型グリコシル化部位は、１またはそれ以上のセリンまたはトレオニン残基をもとの抗体の配列に挿入するまたは置換することによって抗体に付加し得る。例として、図３Ａの４１－４３位のＲＸ１のアミノ酸（ＮＧＳ）は保持され得る。あるいは、アミノ酸４１および４２（ＮＧ）だけが保持され得る。

【０１６４】

通常、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体のアミノ酸配列変異体は、もとのＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体の重または軽鎖のいずれかのアミノ酸配列（たとえば図１３Ｂ－１６Ｂのいずれかにおけるような）と少なくとも６０％のアミノ酸配列同一性、たとえば８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％および１００％を含む、より好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも８５％、より好ましくは少なくとも９０％、および最も好ましくは少なくとも９５％のアミノ酸配列同一性を備えるアミノ酸配列を有する。この配列に関する同一性または相同性は、ここでは、配列を整列し、最大の配列同一性パーセントを達成するために必要に応じてギャップを導入した後、保存的置換（上記表１で定義する）を配列同一性の一部とみなさずに、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）残基と同一である候補配列内のアミノ酸残基のパーセンテージと定義される。Ｎ末端、Ｃ末端または内部伸長、欠失または抗体配列への挿入のいずれも、配列同一性または相同性に影響を及ぼすと解釈されない。それゆえ、配列同一性は、２個のポリペプチドのアミノ酸の位置の類似性を比較するために一般的に使用される標準方法によって決定できる。ＢＬＡＳＴまたはＦＡＳＴＡなどのコンピュータプログラムを使用して、２個のポリペプチドをそれぞれ

のアミノ酸の最適マッチングのために整列する（一方または両方の配列の完全長に沿って、または一方または両方の配列のあらかじめ定められた部分に沿って）。前記プログラムはデフォルトオープニングペナルティーおよびデフォルトギャップペナルティーを提供し、ＰＡＭ２５０［標準スコアリングマトリックス；Ｄａｙｈｏｆｆら、Ａｔｌａｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ，ｖｏｌ．５，ｓｕｐｐ． ３（１９７８）参照］などのスコアリングマトリックスがコンピュータプログラムと共に使用できる。たとえば同一性パーセントは、その後、同一適合の総数に１００を乗じ、次にマッチする範囲内のより長い配列の長さと２つの配列を整列するためにより長い配列に導入したギャップの数の合計で除して、算定することができる。

【０１６５】

抗体の他の修飾も考慮される。たとえば、マクロファージ関連疾患を治療する上での抗体の有効性を増強するために、エフェクター機能に関して本発明の抗体を修飾することが望ましいと考えられる。たとえばシステイン残基をＦｃ領域に導入し、それによってこの領域内に鎖間ジスルフィド結合の形成を可能にし得る。このようにして生成されたホモ二量体抗体は、改善されたインターナリゼーション能力および／または高い補体媒介性細胞致死および抗体依存性細胞毒性（ＡＤＣＣ）を有し得る。たとえばＣａｒｏｎら、Ｊ．Ｅｘｐ Ｍｅｄ．１７６：１１９１－１１９５（１９９２）およびＳｈｏｐｅｓ，Ｂ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８：２９１８－２９２２（１９９２）参照。高い活性を有するホモ二量体抗体はまた、Ｗｏｌｆｆら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５３：２５６０－２５６５（１９９３）に述べられているようにヘテロ二官能性架橋剤を用いて作製し得る。あるいは、２つのＦｃ領域を有し、それにより高い補体溶解とＡＤＣＣ能力を有し得る抗体を工作することができる。Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎら、Ａｎｔｉ－Ｃａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｓｉｇｎ ３：２１９－２３０（１９８９）参照。加えて、ＣＤＲ内の配列は、抗体をＭＨＣクラスＩＩに結合させ、望ましくないヘルパーＴ細胞応答の引き金を引くことができることが示された。保存的置換は、抗体が結合活性を保持するが、望ましくないＴ細胞応答の引き金を引くその能力を失うことを可能にし得る。マウス可変領域がヒトγ１、γ２、γ３およびγ４定常領域に結合したキメラ抗体を述べた、参照によりここに組み込まれる、Ｓｔｅｐｌｅｗｓｋｉら、Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ．１９８８；８５（１３）：４８５２－６も参照のこと。

【０１６６】

本発明のある実施形態では、たとえば組織浸透を上昇させるために、無傷抗体ではなく抗体フラグメントを使用することが望ましいと考えられる。この場合、その血清半減期を上昇させるために抗体フラグメントを修飾すること、たとえば半減期を上昇させるためにＰＥＧまたは、多糖高分子を含む、他の水溶性ポリマーなどの分子を抗体フラグメントに付加することが望ましいと考えられる。これはまた、たとえば抗体フラグメントへのサルベージ受容体結合エピトープの組込みによって（たとえば抗体フラグメント内の適切な領域の突然変異によってまたはエピトープをペプチドタグに組み込み、その後、たとえばＤＮＡまたはペプチド合成によって、末端または中央で抗体フラグメントに融合することによって）達成し得る（たとえば国際公開番号第ＷＯ９６／３２４７８号参照）。

【０１６７】

サルベージ受容体結合エピトープは、好ましくは、Ｆｃドメインの１または２個のループから１またはそれ以上のアミノ酸残基が抗体フラグメントの類似位置に転移している領域を構成する。さらに一層好ましくは、Ｆｃドメインの１または２個のループから３またはそれ以上の残基が転移している。なお一層好ましくは、エピトープは、Ｆｃ領域（たとえばＩｇＧの）のＣＨ２ドメインからであり、抗体のＣＨ１、ＣＨ３またはＶＨ領域または２以上のそのような領域に転移している。あるいは、エピトープは、Ｆｃ領域のＣＨ２ドメインからであり、抗体フラグメントの$Ｃ_{L}$領域または$Ｖ_{L}$領域またはその両方に転移している。Ｆｃ変異体およびサルベージ受容体とのそれらの相互作用を述べる、国際公開番号第ＷＯ９７／３４６３１および同第ＷＯ９６／３２４７８号も参照のこと。

【０１６８】

それゆえ、本発明の抗体は、ヒトＦｃ部分、ヒトコンセンサスＦｃ部分、または、ジスルフィド結合に関与するシステインが修飾または除去されている、および／またはｍｅｔがＮ末端に付加されているおよび／またはＮ末端の２０アミノ酸の１またはそれ以上が除去されている、および／またはＣ１ｑ結合部位などの、補体と相互作用する領域が除去される、および／またはＡＤＣＣ部位が除去されている変異体を含む、Ｆｃサルベージ受容体と相互作用する能力を保持するそれらの変異体を含み得る［たとえばＭｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２９（５）：６３３－９（１９９２）参照］。

【０１６９】

これまでの試験は、ＦｃＲについてのヒト及びマウスＩｇＧ上の結合部位を主としてＩｇＧ残基２３３－２３９から成るヒンジ領域下部に位置づけた。他の試験は、付加的な広いセグメント、たとえばヒトＦｃ受容体ＩについてはＧｌｙ３１６－Ｌｙｓ３３８、ヒトＦｃ受容体ＩＩＩについてはＬｙｓ２７４－Ａｒｇ３０１およびＴｙｒ４０７－Ａｒｇ４１６を提案し、あるいはヒンジ下部の外側にいくつかの特異的残基、たとえばマウスＦｃ受容体ＩＩと相互作用するマウスＩｇＧ２ｂについてのＡｓｎ２９７およびＧｌｕ３１８を認めた。ヒトＦｃ受容体ＩＩＩＡを有するヒトＩｇＧ１　Ｆｃフラグメントの３．２Å結晶構造の報告は、ＩｇＧ１残基Ｌｅｕ２３４－Ｓｅｒ２３９、Ａｓｐ２６５－Ｇｌｕ２６９、Ａｓｎ２９７－Ｔｈｒ２９９およびＡｌａ３２７－Ｉｌｅ３３２がＦｃ受容体ＩＩＩＡへの結合に関与することを描画した。結晶構造に基づき、ヒンジ下部（Ｌｅｕ２３４－Ｇｌｙ２３７）に加えて、ＩｇＧ　ＣＨ２ドメインループＦＧ（残基３２６－３３０）およびＢＣ（残基２６５－２７１）内の残基がＦｃ受容体ＩＩＡへの結合において役割を果たし得ることを示唆した。その全体が参照によりここに組み込まれる、Ｓｈｉｅｌｄｓら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７６（９）：６５９１－６６０４（２００１）参照。Ｆｃ受容体結合部位内の残基の突然変異は、ＡＤＣＣまたはＣＤＣ活性の変化あるいは半減期の変化などの、エフェクター機能の変化を生じさせ得る。上述したように、潜在的な突然変異は、１またはそれ以上の残基の挿入、欠失あるいは、アラニンによる置換、保存的置換、非保存的置換または異なるＩｇＧサブクラスからの同じ位置の対応するアミノ酸残基による置換（たとえばＩｇＧ１残基をその位置の対応するＩｇＧ２残基で置換すること）を包含する、置換を含む。

【０１７０】

Ｓｈｉｅｌｄｓらは、すべてのヒトＦｃ受容体への結合に関与するＩｇＧ１残基がヒンジに近接するＣＨ２ドメインに位置し、以下のような２つのカテゴリーに属することを報告した：１）すべてのＦｃＲと直接相互作用し得る位置は、Ｌｅｕ２３４－Ｐｒｏ２３８、Ａｌａ３２７およびＰｒｏ３２９（およびおそらくＡｓｐ２６５）を含む；２）糖質の性質または位置に影響を及ぼす位置は、Ａｓｐ２６５およびＡｓｎ２９７を含む。Ｆｃ受容体ＩＩへの結合に影響を及ぼした付加的なＩｇＧ１残基は以下の通りである：（最大の影響）Ａｒｇ２５５、Ｔｈｒ２５６、Ｇｌｕ２５８、Ｓｅｒ２６７、Ａｓｐ２７０、Ｇｌｕ２７２、Ａｓｐ２８０、Ａｒｇ２９２、Ｓｅｒ２９８、および（より少ない影響）Ｈｉｓ２６８、Ａｓｎ２７６、Ｈｉｓ２８５、Ａｓｎ２８６、Ｌｙｓ２９０、Ｇｌｎ２９５、Ａｒｇ３０１、Ｔｈｒ３０７、Ｌｅｕ３０９、Ａｓｎ３１５、Ｌｙｓ３２２、Ｌｙｓ３２６、Ｐｒｏ３３１、Ｓｅｒ３３７、Ａｌａ３３９、Ａｌａ３７８およびＬｙｓ４１４。Ａ３２７Ｑ、Ａ３２７Ｓ、Ｐ３２９Ａ、Ｄ２６５ＡおよびＤ２７０Ａは結合を低下させた。すべてのＦｃＲに関して上記で同定した残基に加えて、Ｆｃ受容体ＩＩＩＡへの結合を４０％またはそれ以上低下させた付加的なＩｇＧ１残基は以下の通りである：Ｓｅｒ２３９、Ｓｅｒ２６７（ＧＩｙのみ）、Ｈｉｓ２６８、Ｇｌｕ２９３、Ｇｌｎ２９５、Ｔｙｒ２９６、Ａｒｇ３０１、Ｖａｌ３０３、Ｌｙｓ３３８およびＡｓｐ３７６。ＦｃＲＩＩＩＡへの結合を改善した変異体は、Ｔ２５６Ａ、Ｋ２９０Ａ、Ｓ２９８Ａ、Ｅ３３３Ａ、Ｋ３３４ＡおよびＡ３３９Ｔを含む。Ｌｙｓ４１４は、ＦｃＲＩＩＡおよびＦｃＲＩＩＢに対する結合の４０％低下を示し、Ａｒｇ４１６はＦｃＲＩＩＡおよびＦｃＲＩＩＩＡについての３０％低下、Ｇｌｎ４１９はＦｃＲＩＩＡに対する３０％低下とＦｃＲＩＩＢに対する４０％低下、およびＬｙｓ３６０はＦｃＲＩＩＩＡに対する２３％の改善を示した。Ｐ

ｒｅｓｔａら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓ．（２００１）３０，４８７－４９０も参照のこと。

【０１７１】

たとえば、その全体が参照によりここに組み込まれる、米国特許第６，１９４，５５１号は、アミノ酸位置３２９、３３１または３２２（Ｋａｂａｔ番号付け法を用いて）で、ヒトＩｇＧ　Ｆｃ領域内に突然変異を含む、変化したエフェクター機能を有する変異体を述べており、そのうちのいくつかは低いＣ１ｑ結合またはＣＤＣ活性を示す。もう１つの例として、その全体が参照によりここに組み込まれる、米国特許第６，７３７，０５６号は、アミノ酸位置２３８、２３９、２４８、２４９、２５２、２５４、２５５、２５６、２５８、２６５、２６７、２６８、２６９、２７０、２７２、２７６、２７８、２８０、２８３、２８５、２８６、２８９、２９０、２９２、２９４、２９５、２９６、２９８、３０１、３０３、３０５、３０７、３０９、３１２、３１５、３２０、３２２、３２４、３２６、３２７、３２９、３３０、３３１、３３３、３３４、３３５、３３７、３３８、３４０、３６０、３７３、３７６、３７８、３８２、３８８、３８９、３９８、４１４、４１６、４１９、４３０、４３４、４３５、４３７、４３８または４３９（Ｋａｂａｔ番号付け法を用いて）、ヒトＩｇＧ　Ｆｃ領域内に突然変異を含む、変化したエフェクターまたはＦｃγ受容体結合を有する変異体を述べており、そのうちのいくつかは、低いＡＤＣＣまたはＣＤＣ活性に結びつく受容体結合プロフィールを示す。これらのうちで、アミノ酸位置２３８、２６５、２６９、２７０、３２７または３２９における突然変異は、ＦｃＲＩへの結合を低下させると述べられ、アミノ酸位置２３８、２６５、２６９、２７０、２９２、２９４、２９５、２９８、３０３、３２４、３２７、３２９、３３３、３３５、３３８、３７３、３７６、４１４、４１６、４１９、４３５、４３８または４３９における突然変異は、ＦｃＲＩＩへの結合を低下させると述べられ、アミノ酸位置２３８、２３９、２４８、２４９、２５２、２５４、２６５、２６８、２６９、２７０、２７２、２７８、２８９、２９３、２９４、２９５、２９６、３０１、３０３、３２２、３２７、３２９、３３８、３４０、３７３、３７６、３８２、３８８、３８９、４１６、４３４、４３５または４３７における突然変異は、ＦｃＲＩＩＩへの結合を低下させると述べられている。

【０１７２】

その全体が参照によりここに組み込まれる、米国特許第５，６２４，８２１号は、マウス抗体のＣ１ｑ結合活性が、重鎖のアミノ酸残基３１８、３２０または３２２を突然変異させることによって変化し得ること、および残基２９７（Ａｓｎ）を置換することは溶解活性の排除を生じさせることを報告している。

【０１７３】

その全体が参照によりここに組み込まれる、米国特許出願第２００４０１３２１０１号は、アミノ酸位置２４０、２４４、２４５、２４７、２６２、２６３、２６６、２９９、３１３、３２５、３２８または３３２（Ｋａｂａｔ番号付け法を用いて）あるいはアミノ酸位置２３４、２３５、２３９、２４０、２４１、２４３、２４４、２４５、２４７、２６２、２６３、２６４、２６５、２６６、２６７、２６９、２９６、２９７、２９８、２９９、３１３、３２５、３２７、３２８、３２９、３３０または３３２（Ｋａｂａｔ番号付け法を用いて）に突然変異を有する変異体を述べており、そのうちアミノ酸位置２３４、２３５、２３９、２４０、２４１、２４３、２４４、２４５、２４７、２６２、２６３、２６４、２６５、２６６、２６７、２６９、２９６、２９７、２９８、２９９、３１３、３２５、３２７、３２８、３２９、３３０または３３２における突然変異は、ＡＤＣＣ活性を低下させ得るかまたはＦｃγ受容体への結合を低下させ得る。

【０１７４】

Ｃｈａｐｐｅｌら、Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ．１９９１；８８（２０）：９０３６－４０は、ＩｇＧ１の細胞親和活性がその重鎖ＣＨ２ドメインの内因的性質であることを報告する。ＩｇＧ１のアミノ酸残基２３４－２３７のいずれかにおける単一点突然変異は、その活性を有意に低下させるかまたは無効にした。完全な結合活性

を回復するためにはＩｇＧ１残基２３４－２３７（ＬＬＧＧ）の全部をＩｇＧ２およびＩｇＧ４に置換することが必要であった。ＥＬＬＧＧＰ配列全体（残基２３３－２３８）を含むＩｇＧ２抗体は、野生型ＩｇＧ１よりも活性であることが認められた。

【０１７５】

その全体が参照によりここに組み込まれる、Ｉｓａａｃｓら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９９８；１６１（８）：３８６２－９は、ＦｃγＲ結合のために決定的に重要なモチーフ内での突然変異（グルタミン２３３がプロリンに、ロイシン／フェニルアラニン２３４がバリンに、およびロイシン２３５がアラニンに）が標的細胞の減少を完全に妨げたことを報告している。グルタミン酸３１８のアラニンへの突然変異は、マウスＩｇＧ２ｂのエフェクター機能を排除し、同時にヒトＩｇＧ４の効力を低下させた。

【０１７６】

その全体が参照によりここに組み込まれる、Ａｒｍｏｕｒら、Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２００３；４０（９）：５８５－９３は、野生型ＩｇＧ１より少なくとも１０倍低い効率で活性化受容体ＦｃγＲＩＩａと反応するが、阻害性受容体ＦｃγＲＩＩｂへの結合は４倍だけ低い、ＩｇＧ１変異体を同定した。突然変異は、アミノ酸２３３－２３６の領域および／またはアミノ酸位置３２７、３３０および３３１で作製された。その全体が参照によりここに組み込まれる、国際公開番号第ＷＯ９９／５８５７２号も参照のこと。

【０１７７】

その全体が参照によりここに組み込まれる、Ｘｕら、Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ．１９９４；２６９（５）：３４６９－７４は、ＩｇＧ１のＰｒｏ３３１をＳｅｒに突然変異させることはＣ１ｑ結合を著明に低下させ、溶解活性を実質的に排除したと報告している。これに対し、ＩｇＧ４におけるＳｅｒ３３１のＰｒｏへの置換は、ＩｇＧ４ Ｐｒｏ３３１変異体に部分的溶解活性（４０％）を与えた。

【０１７８】

その全体が参照によりここに組み込まれる、Ｓｃｈｕｕｒｍａｎら、Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２００１；３８（ｌ）：ｌ－８は、重鎖間結合形成に関与するヒンジシステインの１個、Ｃｙ２２６をセリンに突然変異させることはより安定な重鎖間結合を生じさせたと報告する。ＩｇＧ４ヒンジ配列Ｃｙｓ－Ｐｒｏ－Ｓｅｒ－ＣｙｓをＩｇＧ１ヒンジ配列Ｃｙｓ－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｃｙｓに突然変異させることも、重鎖間の共有結合相互作用を著明に安定化する。

【０１７９】

その全体が参照によりここに組み込まれる、Ａｎｇａｌら、Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１９９３；３０（ｌ）：１０５－８は、ＩｇＧ４内のアミノ酸位置２４１のセリンをプロリン（ＩｇＧ１およびＩｇＧ２内のその位置に認められる）に突然変異させることは均一な抗体の産生を導き、ならびにもとのキメラＩｇＧ４に比べて血清半減期を延長させ、組織分布を改善することを報告している。

【０１８０】

ヒトおよびＨｕｍａｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体

ヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（商標））

抗体可変ドメインのヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（商標））は、抗体分子の結合活性を維持しつつ免疫原性を低下させるための方法として、Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、米国特許第５，７６６，８８６号；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ７：８０５－８１４（１９９４）］によって記述された。その方法によれば、各々の可変領域アミノ酸には置換の危険度が割り当てられた。アミノ酸置換は３つの危険度カテゴリーの１つによって区別される：（１）低危険度変化は、抗原結合を破壊する最小限の可能性で、免疫原性を低下させる最大の潜在的可能性を有するものである；（２）中危険度変化は、免疫原性をさらに低下させるが、抗原結合またはタンパク質の折りたたみに影響を及ぼす可能性がより大きいものである；（３）高危険度残基は、抗体に結合するためまたは抗体構造を維持するために重要であり、抗原結合またはタンパク質の折りたたみが影響を受ける最も高い危険度を担うものである。プロリンの三

次元構造における役割のゆえに、プロリンにおける修飾は一般に、その位置が典型的には低危険度位置である場合でも、少なくとも中危険度変化とみなされる。

【０１８１】

げっ歯動物抗体の軽および重鎖の可変領域は、抗原結合またはタンパク質の折りたたみに有害な作用を及ぼす可能性が低いが、ヒト環境で免疫原性を低下させるであろうと判定された位置でヒトアミノ酸を置換するために、以下のようにヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標））される。「低危険度」位置であり、前記方法に従った修飾のための候補であるアミノ酸残基は、げっ歯動物可変領域のアミノ酸配列をヒト可変領域配列と整列することによって特定される。個々のＶＨまたはＶＬ配列、またはヒトコンセンサスＶＨまたはＶＬ配列、または個々のまたはコンセンサスヒト生殖細胞系配列を含む、いかなるヒト可変領域も使用できる。何らかの数の低危険度位置、またはすべての低危険度位置のアミノ酸残基を変更することができる。たとえば整列したマウスとヒトのアミノ酸残基が異なる各々の低危険度位置で、げっ歯動物残基をヒト残基で置換するアミノ酸修飾を導入する。あるいは、すべての低危険度位置のアミノ酸残基および何らかの数の中危険度残基を変更することができる。理想的には、最も低い免疫原性を達成するために低および中危険度位置の全部をげっ歯動物からヒト配列に変更する。

【０１８２】

修飾された重および／または軽鎖可変領域を含む合成遺伝子を構築し、ヒトγ重鎖および／またはκ軽鎖定常領域に連結する。いかなるヒト重鎖および軽鎖定常領域も、ＩｇＡ（ＩｇＡ１またはＩｇＡ２などの何らかのサブクラスの）、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ（ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３またはＩｇＧ４などの何らかのサブクラスの）、またはＩｇＭを含む、Ｈｕｍａｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体可変領域と組み合わせて使用し得る。ヒト重および軽鎖遺伝子を、哺乳動物細胞などの宿主細胞に導入し、生じる組換え免疫グロブリン産物を得て、特性決定する。

【０１８３】

トランスジェニック動物からのヒト抗体

Ｍ－ＣＳＦに対するヒト抗体はまた、内因性免疫グロブリン産生を有さず、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を含むように操作されたトランスジェニック動物を用いて生産できる。たとえば国際公開番号第ＷＯ９８／２４８９３号は、動物が内因性重および軽鎖遺伝子座の不活性化のために機能的内因性免疫グロブリンを生産しない、ヒトＩｇ遺伝子座を有するトランスジェニック動物を開示する。国際公開番号第ＷＯ９１／７４１号も、抗体が霊長動物定常および／または可変領域を有し、内因性免疫グロブリンをコードする遺伝子座が置換または不活性化されている、免疫原に対する免疫応答を惹起することができるトランスジェニック非霊長類哺乳動物宿主を開示する。国際公開番号第ＷＯ９６／３０４９８号は、修飾抗体分子を形成するために定常または可変領域の全部または一部を置換するためなどの、哺乳動物において免疫グロブリン遺伝子座を修飾するためのＣｒｅ／Ｌｏｘ系の使用を開示する。国際公開番号第ＷＯ９４／０２６０２号は、不活性化内因性Ｉｇ遺伝子座と機能的ヒトＩｇ遺伝子座を有する非ヒト哺乳動物宿主を開示する。米国特許第５，９３９，５９８号は、内因性重鎖を有さず、１またはそれ以上の異種定常領域を含む外因性免疫グロブリン遺伝子座を発現するトランスジェニックマウスを作製する方法を開示する。

【０１８４】

上述したトランスジェニック動物を使用して、選択抗原分子に対する免疫応答を生じさせることができ、抗体産生細胞を動物から取り出して、ヒトモノクローナル抗体を分泌するハイブリドーマを生産するために使用できる。免疫プロトコール、アジュバント等は当技術分野において公知であり、たとえば国際公開番号第ＷＯ９６／３３７３５号に述べられているようにトランスジェニックマウスの免疫において使用される。この公開特許願は、ＩＬ６、ＩＬ８、ＴＮＦａ、ヒトＣＤ４、Ｌセレクチン、ｇｐ３９および破傷風毒素を含む様々な抗原分子に対するモノクローナル抗体を開示する。モノクローナル抗体は、対応するタンパク質の生物活性または生理的作用を阻害するまたは中和する能力に関して試

験することができる。国際公開番号第ＷＯ９６／３３７３５号は、ＩＬ－８で免疫したトランスジェニックマウスの免疫細胞に由来する、ＩＬ－８に対するモノクローナル抗体が、ＩＬ－８が誘導する好中球の機能をブロックしたことを開示する。トランスジェニック動物を免疫するために使用される抗原に対して特異性を有するヒトモノクローナル抗体はまた、国際公開番号第ＷＯ９６／３４０９６号および米国特許出願第２００３０１９４４０４号；および米国特許出願第２００３００３１６６７号に開示されている。

【０１８５】

Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：２５５１（１９９３）；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓら、Ｎａｔｕｒｅ，３６２：２５５－２５８（１９９３）；Ｂｒｕｇｇｅｒｍａｎｎら、Ｙｅａｒ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏ．，７：３３（１９９３）；および米国特許第５，５９１，６６９号、米国特許第５，５８９，３６９号、米国特許第５，５４５，８０７号；および米国特許出願第２００２０１９９２１３号も参照のこと。米国特許出願第２００３００９２１２５号は、所望エピトープに対する動物の免疫応答にバイアスをかけるための方法を述べる。ヒト抗体はまた、インビトロ活性化Ｂ細胞によっても生成し得る（米国特許第５，５６７，６１０号および同第５，２２９，２７５号参照）。

【０１８６】

ファージディスプレイ技術からのヒト抗体

組換えヒト抗体遺伝子のレパートリーを作製するための技術の開発、および糸状バクテリオファージの表面でのコードされる抗体フラグメントの提示は、ヒト抗体を直接作製するための手段を提供した。ファージ技術によって生産される抗体は、細菌において抗原結合フラグメント－通常はＦｖまたはＦａｂフラグメント－として生産され、それゆえエフェクター機能を欠く。エフェクター機能は以下の２つの戦略の１つによって導入できる：フラグメントは、哺乳動物細胞における発現のために完全抗体に構築するか、またはエフェクター機能の引き金を引くことができる第二結合部位を有する二重特異性抗体フラグメントに構築することができる。

【０１８７】

典型的には、抗体のＦｄフラグメント（V_H－C_H1）と軽鎖（V_L－C_L）をＰＣＲによって別々にクローニングし、コンビナトリアルファージディスプレイライブラリーにおいて無作為に組み換えて、その後特定抗原への結合に関して選択することができる。Ｆａｂフラグメントはファージ表面で発現される、すなわちそれらをコードする遺伝子に物理的に連結される。それゆえ、抗原結合によるＦａｂの選択はＦａｂをコードする配列を共選択し、その後それらの配列を増幅することができる。パニングと称される手順である、数回の抗原結合と再増幅により、抗原に特異的なＦａｂを富化し、最後に単離する。

【０１８８】

１９９４年に、「誘導選択（ｇｕｉｄｅｄ ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ）」と呼ばれる、抗体のヒト化のためのアプローチが記述された。誘導選択は、マウスモノクローナル抗体のヒト化のためにファージディスプレイ手法の検出力を利用する（Ｊｅｓｐｅｒｓ，Ｌ．Ｓ．ら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １２，８９９－９０３（１９９４）参照）。このために、マウスモノクローナル抗体のＦｄフラグメントをヒト軽鎖ライブラリーと組み合わせて提示することができ、生じた雑種Ｆａｂライブラリーを、次に、抗原で選択し得る。それによりマウスＦｄフラグメントは選択を誘導するための鋳型を提供する。その後、選択したヒト軽鎖をヒトＦｄフラグメントライブラリーと組み合わせる。生じるライブラリーの選択は、完全にヒトＦａｂを生じる。

【０１８９】

ファージディスプレイライブラリーからヒト抗体を導くための様々な手順が記述されている（たとえばＨｏｏｇｅｎｂｏｏｍら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１（１９９１）；Ｍａｒｋｓら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ，２２２：５８１－５９７（１９９１）；米国特許第５，５６５，３３２号および同第５，５７３，９０５号；Ｃｌａｃｋｓｏｎ，Ｔ．とＷｅｌｌｓ，Ｊ．Ａ．，ＴＩＢＴＥＣＨ １２，１７３－１８４（１９９４）

参照）。特に、ファージディスプレイライブラリーに由来する抗体のインビトロ選択と進化は強力なツールとなってきた（Ｂｕｒｔｏｎ，Ｄ．Ｒ．とＢａｒｂａｓ　ＩＩＩ，Ｃ．Ｆ，Ａｄｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．５７，１９１－２８０（１９９４）；およびＷｉｎｔｅｒ，Ｇ．ら、Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１２，４３３－４５５（１９９４）；米国特許出願第２００２０００４２１５号および国際公開番号第ＷＯ９２／０１０４７号；２００３年１０月９日公開の米国特許出願第２００３０１９０３１７号および米国特許第６，０５４，２８７号；米国特許第５，８７７，２９３号参照）。

【０１９０】

Ｗａｔｋｉｎｓ，“Ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ　ｏｆ　Ｐｈａｇｅ－Ｅｘｐｒｅｓｓｅｄ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｌｉｂｒａｒｉｅｓ　ｂｙ　Ｃａｐｔｕｒｅ　Ｌｉｆｔ，”　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｐｈａｇｅ　Ｄｉｓｐｌａｙ：Ｍｅｔｈｏｄｓ　ａｎｄ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　１７８：　１８７－１９３および２００３年3月6日公開の米国特許出願第２００１２００３００４４７７２号は、固体支持体への候補結合分子の固定化を含む方法である、捕獲リフト（ｃａｐｔｕｒｅ　ｌｉｆｔ）によるファージ発現された抗体ライブラリーまたは他の結合分子のスクリーニングのための方法を述べている。

【０１９１】

抗体産物は、本明細書の「スクリーニング方法」と題する章で述べるアッセイを使用してまたは当技術分野で公知の何らかの適切なアッセイを使用して、活性に関しておよび本発明の治療方法における適切さに関してスクリーニングし得る。

【０１９２】

他の共有結合修飾

抗体の共有結合修飾も本発明の範囲内に包含される。それらは、化学合成によってあるいは、適宜に、抗体の酵素または化学的切断によって作製し得る。抗体の他の種類の共有結合修飾は、抗体の標的アミノ酸残基を、選択側鎖あるいはＮまたはＣ末端残基と反応することができる有機誘導体化試薬と反応させることによって分子に導入される。

【０１９３】

最も一般的にはシステイニル残基を、カルボキシメチルまたはカルボキシアミドメチル誘導体を生成するためにクロロ酢酸またはクロロアセトアミドなどのα－ハロ酢酸塩（および対応するアミン）と反応させる。システイニル残基はまた、ブロモトリフルオロアセトン、α－ブロモ－β－（５－イミドゾイル）プロピオン酸、リン酸クロロアセチル、Ｎ－アルキルマレイミド、３－ニトロ－２－ピリジルジスルフィド、メチル２－ピリジルジスルフィド、ｐ－クロロマーキュリベンゾエート、２－クロロマーキュリ－４－ニトロフェノール、またはクロロ－７－ニトロベンゾ－２－オキサ－１，３－ジアゾールとの反応によっても誘導体化される。

【０１９４】

ヒスチジル残基は、ｐＨ５．５－７．０でジエチルピロカルボネートとの反応によって誘導体化される。この物質がヒスチジル側鎖に対して比較的特異的であるためである。パラブロモフェナシルブロミドも有用である；その反応は、好ましくはｐＨ６．０にて０．１Ｍカコジル酸ナトリウム中で実施される。

【０１９５】

リシニルおよびアミノ末端残基は、コハク酸または他のカルボン酸無水物と反応させる。これらの物質による誘導体化は、リシニル残基の電荷を逆転させる作用を有する。α－アミノ含有残基を誘導体化するための他の適切な試薬は、メチルピコリンイミデートなどのイミドエステル、リン酸ピリドキサール、ピリドキサール、クロロボロヒドリド、トリニトロベンゼンスルホン酸、Ｏ－メチルイソ尿素、２，４－ペンタンジオン、およびグリオキシレートとのトランスアミナーゼ触媒反応を含む。

【０１９６】

アルギニル残基は、１またはそれ以上の従来の試薬、中でも特にフェニルグリオキサール、２，３－ブタンジオン、１，２－シクロヘキサンジオンおよびニンヒドリンとの反応

によって修飾される。アルギニン残基の誘導体は、グアニジン官能基の高いｐＫ$_a$のゆえに、反応がアルカリ条件下で実施されることを必要とする。さらに、これらの試薬はリシンの基ならびにアルギニンε－アミノ基と反応し得る。

【０１９７】

チロシン残基の特異的修飾は、チロシン残基にスペクトル標識を導入する上で特に興味深い、芳香族ジアゾニウム化合物またはテトラニトロメタンとの反応によって実施し得る。最も一般的には、それぞれＯ－アセチルチロシル種および３－ニトロ誘導体を形成するためにＮ－アセチルイミジゾールおよびテトラニトロメタンが使用される。チロシン残基は、放射免疫測定法における使用のための標識タンパク質を調製するために^{125}Ｉまたは^{131}Ｉを用いてヨウ素化される。

【０１９８】

カルボキシル側鎖基（アスパルチルまたはグルタミル）は、カルボジイミド（Ｒ－Ｎ＝Ｃ＝Ｎ－Ｒ’）［式中、ＲとＲ’は、１－シクロヘキシル－３－（２－モルホリニル－４－エチル）カルボジイミドまたは１－エチル－３－（４－アゾニア－４，４－ジメチルペンチル）カルボジイミドなどの異なるアルキル基である］との反応によって選択的に修飾される。さらに、アスパルチルおよびグルタミル残基は、アンモニウムイオンとの反応によってアスパラギニルおよびグルタミニル残基に変換される。

グルタミニルおよびアスパラギニル残基は、しばしば、それぞれ対応するグルタミルおよびアスパルチル残基に脱アミド化される。これらの残基は中性または塩基性条件下で脱アミド化される。これらの残基の脱アミド化形態は本発明の範囲内に包含される。

【０１９９】

他の修飾は、プロリンおよびリシンのヒドロキシル化、セリルまたはトレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リシン、アルギニンおよびヒスチジン側鎖のα－アミノ基のメチル化（Ｔ．Ｅ．Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｐｒｏｔｅｉｎｓ：Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ＆ Ｃｏ．，Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，ｐ．７９－８６（１９８３））、Ｎ末端アミンのアセチル化、および何らかのＣ末端カルボキシル基のアミド化を含む。

【０２００】

もう１つの種類の共有結合修飾は、抗体にグリコシドを化学的または酵素的に結合することを含む。これらの手順は、ＮまたはＯ結合型グリコシル化のためのグリコシル化能力を有する宿主細胞における抗体の産生を必要としないという点で有利である。使用する結合様式に依存して、糖を（ａ）アルギニンおよびヒスチジン、（ｂ）遊離カルボキシル基、（ｃ）システインにおけるような遊離スルフヒドリル基、（ｄ）セリン、トレオニンまたはヒドロキシプロリンにおけるような遊離ヒドロキシル基、（ｅ）フェニルアラニン、チロシンまたはトリプトファンにおけるような芳香族基、または（ｆ）グルタミンのアミド基に結合し得る。これらの方法は、１９８７年９月１１日公開の国際公開番号第ＷＯ８７／０５３３０号、およびＡｐｌｉｎとＷｒｉｓｔｏｎ，ＣＲＣ Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，ｐ．２５９－３０６（１９８１）に述べられている。

【０２０１】

抗体上に存在する糖質部分の除去は、化学的または酵素的に達成され得る。化学的脱グリコシル化は、抗体をトリフルオロメタンスルホン酸化合物または等価化合物に暴露することを必要とする。この処理は、抗体を無傷のまま残しながら、連結糖（Ｎ－アセチルグルコサミンまたはＮ－アセチルガラクトサミン）以外のほとんどまたは全部の糖の切断を生じさせる。化学的脱グリコシル化は、Ｈａｋｉｍｕｄｄｉｎら、Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．２５９：５２（１９８７）およびＥｄｇｅら、Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１１８：１３１（１９８１）によって述べられている。抗体上の糖質部分の酵素的切断は、Ｔｈｏｔａｋｕｒａら、Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１３８：３５０（１９８７）によって述べられているように様々なエンド－およびエキソ－グリコシダーゼの使用によって達成され得る。

【０２０２】

抗体のもう１つの種類の共有結合修飾は、様々な非タンパク質高分子、たとえばポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリオキシエチル化ポリオル、ポリオキシエチル化ソルビトール、ポリオキシエチル化グルコース、ポリオキシエチル化グリセロール、ポリオキシアルキレン、またはデキストランなどの多糖高分子の１つに抗体を連結することを含む。そのような方法は当技術分野において公知であり、たとえば米国特許第４，６４０，８３５号；同第４，４９６，６８９号；同第４，３０１，１４４号；同第４，６７０，４１７号；同第４，７９１，１９２号；同第４，１７９，３３７号；同第４，７６６，１０６号；同第４，１７９，３３７号；同第４，４９５，２８５号；同第４，６０９，５４６号または欧州特許第ＥＰ３１５　４５６号参照。

【０２０３】

遺伝子治療

適切な細胞への治療用抗体の送達は、物理的ＤＮＡ導入法（たとえばリポソームまたは化学的処理）の使用またはウイルスベクター（たとえばアデノウイルス、アデノ関連ウイルスまたはレトロウイルス）の使用を含む、当技術分野で公知の適切なアプローチの使用により、エクスビボ、インサイチューまたはインビボでの遺伝子治療を通して実施できる。たとえばインビボ治療のためには、単独またはベクター、リポソームまたは沈殿物と組み合わせた、所望抗体をコードする核酸を直接被験体に注入することができ、また一部の実施形態では、抗体化合物の発現を所望する部位に注入し得る。エクスビボ治療のためには、被験体の細胞を取り出し、核酸をこれらの細胞に導入して、改変した細胞を直接被験体に戻すかまたは、たとえば多孔膜の中に被包して、それを患者に移植する。たとえば米国特許第４，８９２，５３８号および同第５，２８３，１８７号参照。核酸を生細胞に導入するために使用可能な種々の手法がある。手法は、核酸をインビトロで培養細胞に導入するか、またはインビボで意図する宿主の細胞に導入するかに依存して異なる。インビトロでの哺乳動物細胞への核酸の導入に適する手法は、リポソームの使用、電気穿孔、微量注入、細胞融合、ＤＥＡＥ－デキストラン、およびリン酸カルシウム沈殿法を含む。核酸のエクスビボでの送達のために一般的に使用されるベクターはレトロウイルスである。

【０２０４】

他のインビボでの核酸導入手法は、ウイルスベクター（アデノウイルス、単純疱疹Ｉ型ウイルスまたはアデノ関連ウイルスなど）または脂質に基づく系によるトランスフェクションを含む。核酸およびトランスフェクション試薬は、場合により微粒子と結合される。例示的なトランスフェクション試薬は、リン酸カルシウムまたは塩化カルシウム共沈、ＤＥＡＥ－デキストランを介したトランスフェクション、第四級アンモニウム両親媒性物質、ＤＯＴＭＡ（ＧＩＢＣＯ－ＢＲＬによりＬｉｐｏｆｅｃｔｉｎとして市販されている、（ジオレオイルオキシプロピル）トリメチルアンモニウムブロミド）（Ｆｅｌｇｎｅｒら（１９８７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８４，７４１３－７４１７；Ｍａｌｏｎｅら（１９８９）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８６，６０７７－６０８１）；ペンダントトリメチルアンモニウム頭部を有する親油性グルタミン酸ジエステル（Ｉｔｏら（１９９０）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ　１０２３，１２４－１３２）；カチオン脂質、ジオクタデシルアミドグリシルスペルミン（ＤＯＧＳ、Ｔｒａｎｓｆｅｃｔａｍ，Ｐｒｏｍｅｇａ）およびジパルミトイルホスファチジルエタノールアミルスペルミン（ＤＰＰＥＳ）などの代謝性親脂質（Ｊ．Ｐ．Ｂｅｈｒ（１９８６）Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔ．２７，５８６１－５８６４；Ｊ．Ｐ．Ｂｅｈｒら（１９８９）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８６，６９８２－６９８６）；代謝性第四級アンモニウム塩（ＤＯＴＢ、Ｎ－（１－［２，３－ジオレオイルオキシ］プロピル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウムメチルスルフェート（ＤＯＴＡＰ）（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ　Ｍａｎｎｈｅｉｍ）、ポリエチレンイミン（ＰＥＩ）、ジオレオイルエステル、ＣｈｏＴＢ、ＣｈｏＳＣ、ＤＯＳＣ）（Ｌｅｖｅｎｔｉｓら（１９９０）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｉｎｔｅｒ．２２，２３５－２４１）；３β［Ｎ－（Ｎ’，Ｎ’－ジメチルアミノエタン）－カルバモイル］コレステロール（ＤＣ－Ｃｈｏｌ）、１：１の混合物中のジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（ＤＯＰＥ）／３

β［Ｎ－（Ｎ’，Ｎ’－ジメチルアミノエタン）－カルバモイル］コレステロールＤＣ－Ｃｈｏｌ（Ｇａｏら（１９９１）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ １０６５，８－１４）、スペルミン、スペルミジン、リポポリアミン（Ｂｅｈｒら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ，１９９４，５：３８２－３８９）、親油性ポリリシン（ＬＰＬＬ）（Ｚｈｏｕら（１９９１）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ９３９，８－１８）、過剰のホスファチジルコリン／コレステロールと［［（１，１，３，３－テトラメチルブチル）クレゾキシ］エトキシ］エチル］ジメチルベンジルアンモニウムヒドロキシド（ＤＥＢＤＡヒドロキシド）（Ｂａｌｌａｓら（１９８８）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ９３９，８－１８）、セチルトリメチルアンモニウムブロミド（ＣＴＡＢ）／ＤＯＰＥ混合物（Ｐｉｎｎａｄｕｗａｇｅら（１９８９）Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ ９８５，３３－３７）、ＤＯＰＥ、ＣＴＡＢ、ＤＥＢＤＡ、ジドデシルアンモニウムブロミド（ＤＤＡＢ）とグルタミン酸の親油性ジエステル（ＴＭＡＧ）、およびホスファチジルエタノールアミンとの混合物中のステアリルアミン（Ｒｏｓｅら（１９９１）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅ １０，５２０－５２５）、ＤＤＡＢ／ＤＯＰＥ（ＴｒａｎｓｆｅｃｔＡＣＥ，ＧＩＢＣＯ ＢＲＬ）、およびオリゴガラクトース担持脂質を含む。導入の効率を高める例示的なトランスフェクションエンハンサー試薬は、たとえばＤＥＡＥ－デキストラン、ポリブレン、リソソーム破壊ペプチド（ｌｙｓｏｓｏｍｅ－ｄｉｓｒｕｐｔｉｖｅ ｐｅｐｔｉｄｅ）（Ｏｈｍｏｒｉ Ｎ Ｉら、Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｒｅｓ Ｃｏｍｍｕｎ Ｊｕｎ．２７，１９９７；２３５（３）：７２６－９）、コンドリタンベースのプロテオグリカン、硫酸化プロテオグリカン、ポリエチレンイミン、ポリリシン（Ｐｏｌｌａｒｄ Ｈら、Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ，１９９８ ２７３（１３）：７５０７－１１）、インテグリン結合ペプチドＣＹＧＧＲＧＤＴＰ、線状デキストラン９糖、グリセロール、オリゴヌクレオチドの３’末端ヌクレオシド間結合部で連結されたコレステリル基（Ｌｅｔｓｉｎｇｅｒ，Ｒ．Ｌ．１９８９ Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ８６：（１７）：６５５３－６）、リゾホスファチド、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルエタノールアミン、および１－オレオイルリゾホスファチジルコリンを含む。

【０２０５】

一部の状況では、核酸含有ベクターを標的細胞へと向かわせる物質と共に核酸を送達することが望ましいと考えられる。そのような「ターゲティング」分子は、標的細胞上の細胞表面膜タンパク質に特異的な抗体、または標的細胞上の受容体に対するリガンドを含む。リポソームを使用する場合は、ターゲティングのためおよび／または取込みを促進するために、エンドサイトーシスに関連する細胞表面膜タンパク質に結合するタンパク質を使用し得る。そのようなタンパク質の例は、特定細胞型に親和性のキャプシドタンパク質およびそのフラグメント、循環中でインターナリゼーションを受けるタンパク質に対する抗体、および細胞内局在化を標的し、細胞内半減期を上昇させるタンパク質を含む。他の実施形態では、受容体を介したエンドサイトーシスが使用できる。そのような方法は、たとえばＷｕら、１９８７またはＷａｇｎｅｒら、１９９０に述べられている。現在公知の遺伝子マーキングおよび遺伝子治療プロトコールの総説については、Ａｎｄｅｒｓｏｎ １９９２参照。国際公開番号第ＷＯ９３／２５６７３号およびその中で引用される参考文献も参照のこと。遺伝子治療テクノロジーのさらなる総説については、Ｆｒｉｅｄｍａｎｎ，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１２７５－１２８１（１９８９）；Ａｎｄｅｒｓｏｎ，Ｎａｔｕｒｅ，ｖｏｌ．３９２の補遺、ｎｏ ６６７９，ｐ．２５－３０（１９９８）；Ｖｅｒｍａ，Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ Ａｍｅｒｉｃａｎ：６８－８４（１９９０）；およびＭｉｌｌｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ，３５７：４５５４６０（１９９２）参照。

【０２０６】

スクリーニング方法

有効な治療は、重大な毒性を持たない有効な薬剤を同定することに依存する。抗体は、当技術分野で公知の方法によって結合親和性に関してスクリーニングし得る。たとえばゲルシフトアッセイ、ウエスタンブロット法、放射標識競合アッセイ、クロマトグラフィー

による共分画、共沈、架橋、ＥＬＩＳＡ等が使用でき、それらはたとえば、その全体が参照によりここに組み込まれる、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（１９９９）Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，ＮＹに述べられている。

【０２０７】

最初にＭ－ＣＳＦ上の所望エピトープに結合する抗体（たとえばＭ－ＣＳＦへのＲＸ１、５Ｈ４、ＭＣ１および／またはＭＣ３の結合をブロックするもの）をスクリーニングするために、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｅｄ ＨａｒｌｏｗとＤａｖｉｄ Ｌａｎｅ（１９８８）に述べられているような常套的交差ブロックアッセイが実施できる。未知の抗体を、本発明のＭ－ＣＳＦ特異的抗体へのＭ－ＣＳＦの結合を阻害するその能力によって特性決定する、常套的競合結合アッセイも使用し得る。無傷Ｍ－ＣＳＦ、そのフラグメント、あるいは図７のＭ－ＣＳＦのアミノ酸９８－１０５または図７のアミノ酸６５－７３または１３８－１４４（５Ｈ４またはＭＣ３によって認識されるＭ－ＣＳＦエピトープに対応する）によって表されるような線状エピトープが使用できる。エピトープマッピングは、Ｃｈａｍｐｅら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７０：１３８８－１３９４（１９９５）に述べられている。

【０２０８】

抗体を、次に、マクロファージの産生または増殖を誘導することに関するＭ－ＣＳＦ生物活性へのそれらの作用、続いて動物への投与について試験することがさらに考慮される。マクロファージ関連疾患において潜在的に有用な化合物は、様々なアッセイを用いてスクリーニングし得る。たとえば候補拮抗物質を、最初に、Ｍ－ＣＳＦ生物活性を中和するその能力を測定するために培養細胞系において特性決定し得る。そのような系は、マウス間質細胞系（たとえばＭＣ３Ｔ３－Ｇ２／ＰＡ６およびＳＴ２）とマウス脾細胞の共培養（Ｕｄａｇａｗａら、Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌｏｇｙ １２５：１８０５ １３，１９８９）、およびＳＴ２細胞と骨髄細胞の共培養、末梢血単核細胞または肺胞マクロファージ（Ｕｄａｇａｗａら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８７：７２６０４，１９９０；Ｓａｓａｋｉら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５８：４６２ ７，１９９８；Ｍａｎｃｉｎｏら、Ｊ．Ｓｕｒｇ．Ｒｅｓ．１００：１８－２４，２００１）を含み得る。マクロファージの産生または増殖へのＭ－ＣＳＦの作用を低下させること、あるいはアテローム硬化性疾患またはＨＩＶ感染およびそれに関連する状態などのマクロファージ関連疾患を予防または治療することにおける所与のＭ－ＣＳＦ抗体の効果はまた、当業者が精通するインビトロアッセイまたは動物モデル系のいずれかにおいて試験し得る。そのようなモデル系は、たとえばＢｈａｔｔａｃｈａｒｙｙａとＳｔｒｏｎｇ，Ｅｘｐ Ｍｏｌ Ｐａｔｈｏｌ．，７４（３）：２９１－７（２００３），Ｌｅｗｉｎら、ＡＩＤＳ，１２（７）：７１９－２７（１９９８），Ｄｅｒｅｕｄｄｒｅ－Ｂｏｓｑｕｅｔ Ｎら、ＡＩＤＳ Ｒｅｓ Ｈｕｍ Ｒｅｔｒｏｖｉｒｕｓｅｓ，１３（１１）：９６１－６（１９９７），Ｚｕｂｅｒら、ＡＩＤＳ Ｒｅｓ Ｈｕｍ Ｒｅｔｒｏｖｉｒｕｓｅｓ，１７（７）：６３１－５（２００１）、およびＮｏｒｔｈら、Ｊ Ｖｉｒｏｌ，７９（１２）：７３４９－５４（２００５）に述べられている。

【０２０９】

インビトロアッセイの１つの変法として、本発明は、（ａ）固定化Ｍ－ＣＳＦを候補抗体と接触させることおよび（ｂ）候補抗体のＭ－ＣＳＦへの結合を検出すること、の抗体を含む方法を提供する。選択的実施形態では、候補抗体を固定化し、Ｍ－ＣＳＦの結合を検出する。固定化は、支持体、ビーズまたはクロマトグラフィー樹脂への共有結合、ならびに抗体結合、または固定化化合物がビオチン部分を含むストレプトアビジン／ビオチン結合の使用などの非共有結合高親和性相互作用を含む、当技術分野で周知の方法のいずれかを用いて達成される。結合の検出は、（ｉ）固定化されていない化合物上の放射性標識を用いて、（ｉｉ）非固定化化合物上の蛍光標識を用いて、（ｉｉｉ）非固定化化合物に免疫特異的な抗体を用いて、（ｉｖ）固体化化合物が結合している蛍光支持体を励起する

非固定化化合物上の標識を用いて、ならびに当技術分野において周知であり、常套的に実施される他の手法を用いて達成できる。

【０２１０】

Ｍ－ＣＳＦの活性または発現を調節する（すなわち上昇させる、低下させるまたはブロックする）抗体は、Ｍ－ＣＳＦを発現する細胞と共に推定上の調節剤をインキュベートし、Ｍ－ＣＳＦの活性または発現への推定上の調節剤の作用を測定することによって同定し得る。Ｍ－ＣＳＦポリペプチドまたはポリヌクレオチドの活性を調節する抗体の選択性は、Ｍ－ＣＳＦポリペプチドまたはポリヌクレオチドへのその作用を他の関連化合物へのその作用と比較することによって評価できる。選択的調節剤は、たとえば抗体および他のタンパク質、ペプチド、またはＭ－ＣＳＦポリペプチドまたはＭ－ＣＳＦポリペプチドをコードする核酸に特異的に結合する有機分子を含み得る。Ｍ－ＣＳＦ活性の調節剤は、Ｍ－ＣＳＦポリペプチドの正常または異常活性が関与する疾患および生理的状態の治療において治療上有用である。

【０２１１】

本発明はまた、Ｍ－ＣＳＦポリペプチドの生物活性と相互作用するまたは生物活性を阻害する（すなわち酵素活性、結合活性等を阻害する）抗体を同定するためのハイスループットスクリーニング（ＨＴＳ）アッセイを包含する。ＨＴＳアッセイは、多数の化合物を効率よくスクリーニングすることを可能にする。Ｍ－ＣＳＦポリペプチドとそれらの結合パートナーの間の相互作用を検討するために細胞ベースのＨＴＳシステムが考慮される。ＨＴＳアッセイは、所望の性質を有する「ヒット」または「先導化合物」を同定するように設計され、所望特性を改善するためにそれらからの修飾を設計することができる。「ヒット」または「先導化合物」の化学修飾は、しばしば「ヒット」とＭ－ＣＳＦポリペプチドの間の同定可能な構造／活性関係に基づく。

【０２１２】

本発明のもう１つの態様は、Ｍ－ＣＳＦを抗体と接触させ、抗体がＭ－ＣＳＦの活性を調節するかどうかを判定することを含む、Ｍ－ＣＳＦの活性を調節する（すなわち低下させる）抗体を同定する方法を対象とする。試験抗体の存在下での活性を試験抗体の不在下での活性と比較する。試験抗体を含む試料の活性が試験抗体を含まない試料における活性より低い場合、抗体は阻害活性を有する。

【０２１３】

当業者に周知の様々な異種系が、組換えポリペプチドの機能的発現のために使用可能である。そのような系は、細菌（Ｓｔｒｏｓｂｅｒｇら、Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１９９２）１３：９５－９８）、酵母（Ｐａｕｓｃｈ，Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（１９９７）１５：４８７－４９４）、いくつかの種類の昆虫細胞（Ｖａｎｄｅｎ Ｂｒｏｅｃｋ，Ｉｎｔ．Ｒｅｖ．Ｃｙｔｏｌｏｇｙ（１９９６）１６４：１８９－２６８）、両生動物細胞（Ｊａｙａｗｉｃｋｒｅｍｅら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ （１９９７） ８： ６２９－６３４）およびいくつかの哺乳動物細胞系（ＣＨＯ、ＨＥＫ２９３、ＣＯＳ等；Ｇｅｒｈａｒｄｔら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ（１９９７）３３４：１－２３参照）を含む。これらの例は、線虫から得られる細胞系を含む（ＰＣＴ出願番号第ＷＯ９８／３７１７７号）、他の可能な細胞発現系の使用を排除しない。

【０２１４】

本発明の１つの実施形態では、Ｍ－ＣＳＦの活性を調節する抗体をスクリーニングする方法は、試験抗体をＭ－ＣＳＦポリペプチドと接触させ、抗体とＭ－ＣＳＦの間の複合体の存在を検定することを含む。そのようなアッセイでは、リガンドは、典型的には標識される。適切なインキュベーション後、遊離リガンドを結合形態で存在するものから分離し、遊離または非複合標識の量が、Ｍ－ＣＳＦまたはＭ－ＣＳＦＲポリペプチドに結合する特定抗体の能力の測定である。

【０２１５】

本発明のもう１つの実施形態では、Ｍ－ＣＳＦポリペプチドに対して適切な結合親和性を有する抗体フラグメントまたはＣＤＲについてのハイスループットスクリーニングを使用する。簡単に述べると、多数の異なる低分子ペプチド試験化合物を固体基質上で合成する。ペプチド試験抗体をＭ－ＣＳＦポリペプチドと接触させ、洗浄する。次に、結合Ｍ－ＣＳＦポリペプチドを当技術分野で周知の方法によって検出する。本発明の精製ポリペプチドはまた、前記薬剤スクリーニング手法における使用のためにプレート上に直接被覆することができる。加えて、タンパク質を捕獲し、固体支持体上に固定化するために非中和抗体が使用できる。

【０２１６】

併用療法

動物モデルにおいて有効な２以上のＭ－ＣＳＦ抗体が同定されているので、マクロファージ関連疾患に対して一層改善された効果を与えるために２またはそれ以上のそのようなＭ－ＣＳＦ抗体を一緒に混合することはさらに有益であると考えられる。１またはそれ以上のＭ－ＣＳＦ抗体を含有する組成物を、マクロファージ関連疾患に罹患しているまたは罹患する素因がある人または哺乳動物に投与し得る。２つの治療薬の同時投与は、薬剤がそれらの治療作用を及ぼす期間に重複がある限り、薬剤が同時にまたは同じ経路によって投与される必要はない。異なる日または異なる週の投与のように、同時または連続投与が考慮される。

【０２１７】

本発明の方法は、単一抗Ｍ－ＣＳＦ抗体、ならびに異なる抗体の組合せまたは「カクテル」の投与を考慮する。そのような抗体カクテルは、異なるエフェクター機構を利用する抗体を含むため一定の利益を有し得る。組合せにおけるそのような抗体は、相乗的または付加的治療作用を示し得る。

【０２１８】

ＲＸ１またはＲＸ１抗体のＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）誘導体を他の治療薬と組み合わせることは、マクロファージ関連疾患を経験する患者に作用を及ぼすことができる。たとえば、アテローム硬化性疾患またはＨＩＶに関連する疾患を有する患者を治療する、あるいは第二治療薬で前治療されたことがある患者または第二治療薬による治療に対して応答性でない患者を治療するための薬剤の製造において抗Ｍ－ＣＳＦ抗体が使用できる。「前治療」は、患者がＭ－ＣＳＦ抗体による治療の前２年以内、１年、６ヶ月、３ヶ月、２ヶ月、１ヶ月、２週間、１週間または少なくとも１日以内に第二治療薬で治療されたことを意味する。抗Ｍ－ＣＳＦ抗体を含有するそのような薬剤は、第二治療薬を使用する治療または血管形成術などの処置と協調する薬剤であり得る。あるいは、抗Ｍ－ＣＳＦ抗体を使用する治療と協調する薬剤の製造において第二治療薬を使用することができる。併用はまた、治療される患者において相乗作用を有し得る。２つの治療薬が同時に投与される必要はない；たとえばそれらは、互いに１日以内、１週間、２週間、４週間、２ヶ月、３ヶ月、６ヶ月、１年または２年以内に投与され得る。

【０２１９】

アテローム性動脈硬化症に関連する疾患を治療するための例示的な第二治療薬は、第二抗Ｍ－ＣＳＦ抗体、血清脂質プロフィールを有益に変化させる薬剤（たとえばロバスタチン、シンバスタチンおよびプラバスタチン、フルバスタチン、アトルバスタチン、セリバスタチンおよびロスバスタチンなどのスタチン、エゼチミブ、フィブレート、コレスチラミンまたはコレスチポル樹脂、またはニコチン酸などのコレステロールの腸吸収を低下させる薬剤、または高度多不飽和脂肪酸またはω－３脂肪酸、たとえば魚油からのエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸を含む薬剤）、硝酸塩、β－遮断剤、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、アンギオテンシン受容体遮断剤、カルシウムチャネル拮抗物質などの抗狭心症薬、抗血小板薬、または抗凝固薬を含む。

【０２２０】

ＨＩＶに関連する疾患を治療するための例示的な第二治療薬は、第二抗Ｍ－ＣＳＦ抗体、またはその全体が参照によりここに組み込まれる、Ｂａｒｂａｒｏ　Ｇら、Ｃｕｒｒ

Ｐｈａｒｍ Ｄｅｓ．；１１（１４）：１８０５－４３（２００５）に述べられている高活性抗レトロウイルス療法（ＨＡＡＲＴ）において使用される薬剤を含む。たとえば当技術分野で公知のいかなる逆転写酵素阻害剤またはプロテアーゼ阻害剤も使用し得る。

【０２２１】

プロドラッグは、親薬剤に比べて細胞傷害性が低いかまたは非細胞障害性であり、活性なまたはより活性な親形態へと酵素的に活性化または変換され得る、医薬活性物質の前駆体または誘導体形態を指す。たとえばＷｉｌｍａｎ，“Ｐｒｏｄｒｕｇｓ ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒａｐｙ”Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ Ｓｏｃｉｅｔｙ Ｔｒａｎｓａｃｔｉｏｎｓ，１４，ｐ．３７５－３８２，６１５ｔｈ Ｍｅｅｔｉｎｇ Ｂｅｌｆａｓｔ（１９８６）およびＳｔｅｌｌａら、“Ｐｒｏｄｒｕｇｓ：Ａ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ ｔｏ Ｔａｒｇｅｔｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ，”Ｄｉｒｅｃｔｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ，Ｂｏｒｃｈａｒｄｔら（編集）、ｐ．２４７－２６７，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ（１９８５）参照。プロドラッグは、リン酸含有プロドラッグ、チオリン酸含有プロドラッグ、硫酸含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、Ｄ－アミノ酸改変プロドラッグ、グリコシル化プロドラッグ、β－ラクタム含有プロドラッグ、場合により置換されたフェノキシアセトアミド含有プロドラッグまたは場合により置換されたフェニルアセトアミド含有プロドラッグ、５－フルオロシトシンおよびより活性な非細胞傷害性薬剤に変換され得る他の５－フルオロウリジンプロドラッグを含むが、これらに限定されない。

【０２２２】

投与および製造

本発明の方法の実施において使用される抗Ｍ－ＣＳＦ抗体は、所望送達方法に適した担体を含有する医薬組成物中に製剤され得る。適切な担体は、抗Ｍ－ＣＳＦ抗体と組み合わせたとき、抗体の所望活性を保持し、被験体の免疫系と非反応性であるいかなる物質も包含する。例は、滅菌リン酸緩衝生理食塩水、静菌水等のような多くの標準医薬担体のいずれかを含むが、これらに限定されない。様々な水性担体、たとえば水、緩衝水、０．４％食塩水、０．３％グリシン等が使用でき、穏やかな化学修飾等に供した、アルブミン、リポタンパク質、グロブリン等のような安定性を高めるための他のタンパク質を含み得る。

【０２２３】

抗体の治療製剤は、所望純度を有する抗体を、場合により生理的に許容される担体、賦形剤または安定剤と混合することにより（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６版，Ｏｓｏｌ，Ａ．編集（１９８０））、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で保存用に調製される。許容される担体、賦形剤または安定剤は、使用される用量および濃度で受容者に対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤（塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；メチルまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；およびｍ－クレゾールなど）；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチンまた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、ヒスチジン、アルギニンまたはリシンなどのアミノ酸；グルコース、マンノースまたはデキストリンを含む単糖類、二糖類および他の糖質；ＥＤＴＡなどのキレート化剤；スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成性対イオン；金属錯体（たとえばＺｎ－タンパク質錯体）；および／またはＴＷＥＥＮ（商標）、ＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（商標）またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの非イオン性界面活性剤を含む。

【０２２４】

製剤はここではまた、治療する特定適応症のために必要に応じて２以上の活性化合物、好ましくは互いに有害な影響を及ぼさない補足的活性を有するものを含有し得る。そのよ

うな分子は、意図する目的のために有効な量で組合せとして適切に存在する。
【０２２５】
有効成分はまた、コロイド状薬剤送達システム（たとえばリポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子およびナノカプセル）においてまたはマクロエマルジョンにおいて、たとえばコアセルベーション手法によってまたは界面重合によって製造されるマイクロカプセル、たとえばそれぞれヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチンマイクロカプセルおよびポリ（メチルメタクリレート）マイクロカプセルに捕捉され得る。そのような手法は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６版、Ｏｓｏｌ，Ａ．編集（１９８０）に開示されている。
【０２２６】
インビボ投与のために使用される製剤は無菌でなければならない。これは滅菌ろ過膜でのろ過によって容易に達成される。
【０２２７】
抗体は、非経口的、皮下、腹腔内、肺内、および鼻内、および局所治療を所望する場合は、病巣内投与を含む、何らかの適切な手段によって投与される。非経口的注入は、静脈内、動脈内、腹腔内、筋肉内、皮内または皮下投与を含む。加えて、抗体はパルス注入によって、特に抗体の漸減用量で、適切に投与される。好ましくは、投与は注射によって、最も好ましくは静脈内または皮下注射によって行われる。局所、特に経皮、経粘膜、直腸、経口または、たとえば所望部位に近接して設置されたカテーテルを通しての局所投与を含む、他の投与方法も考慮される。
【０２２８】
鼻投与に関して、医薬製剤および薬剤は、適切な溶媒および場合により、安定剤、抗菌剤、抗酸化剤、ｐＨ調整剤、界面活性剤、バイオアベイラビリティー調節剤およびこれらの組合せなどの、しかしこれらに限定されない、他の化合物を含有するスプレーまたはエーロゾルであり得る。エーロゾル製剤のための噴射剤は、圧縮空気、窒素、二酸化炭素または炭化水素ベースの低沸点溶媒を含み得る。
【０２２９】
注射用投与形態は一般に、適切な分散剤または湿潤剤および懸濁化剤を使用して調製され得る水性懸濁液または油性懸濁液を含む。注射用形態は、溶媒または希釈剤と共に調製される、溶液相または懸濁液の形態であり得る。許容される溶媒または賦形剤は、滅菌水、リンガー液、または等張食塩水を含む。あるいは、滅菌油を溶媒または懸濁化剤として使用し得る。好ましくは、天然または合成油、脂肪酸、モノ－、ジ－またはトリ－グリセリドを含む、油または脂肪酸は、不揮発性である。
【０２３０】
注射のために、医薬製剤および／または薬剤は、上述したような適切な溶液による再溶解に適した粉末であり得る。これらの例は、凍結乾燥、回転乾燥または噴霧乾燥粉末、無定形粉末、顆粒、沈殿物または微粒子を含むが、これらに限定されない。注射のために、製剤は場合より安定剤、ｐＨ調整剤、界面活性剤、バイオアベイラビリティー調節剤およびこれらの組合せを含み得る。
【０２３１】
持続放出製剤を調製し得る。持続放出製剤の適切な例は、マトリックスが成形品、たとえばフィルムまたはマイクロカプセルの形態である、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスを含む。持続放出性マトリックスの例は、ポリエステル、ヒドロゲル（たとえばポリ（２－ヒドロキシエチル－メタクリレート）またはポリ（ビニルアルコール））、ポリラクチド（米国特許第３，７７３，９１９号）、Ｌ－グルタミン酸とγ－エチル－Ｌ－グルタミン酸のコポリマー、非分解性エチレン－ビニルアセテート、Ｌｕｐｒｏｎ Ｄｅｐｏｔ（商標）（乳酸－グリコール酸コポリマーおよび酢酸ロイプロリドから成る注射用ミクロスフェア）などの分解性乳酸－グリコール酸コポリマー、およびポリ－Ｄ－（－）－３－ヒドロキシ酪酸を含む。エチレン－ビニルアセテートおよび乳酸－グリコール酸などのポリマーは１００日間以上にわたる分子の放出を可能にするが、ある種

のヒドロゲルはより短い期間タンパク質を放出する。カプセルに封入された抗体が長期間体内に残存するとき、それらは、３７℃での水分への暴露の結果として変性または凝集することがあり、生物活性の喪失および起こり得る免疫原性の変化を生じ得る。関与する機序に依存して安定化のための合理的戦略を考案することができる。たとえば凝集機序がチオ－ジスルフィド交換を通しての分子間Ｓ－Ｓ結合形成であることが発見された場合は、スルフヒドリル残基を修飾すること、酸性溶液から凍結乾燥すること、適切な添加物を用いて含水量を調節すること、および特異的高分子マトリックス組成物を開発することによって安定化を達成し得る。当技術分野で公知の他の戦略も使用し得る。

【０２３２】

本発明の製剤は、ここで述べるように短時間作用性、即時放出性、長時間作用性または持続放出性であるように設計し得る。それゆえ医薬製剤はまた、制御放出性または徐放性に製剤し得る。

【０２３３】

本発明の組成物はまた、たとえばミセルまたはリポソーム、あるいは他の被包形態を含んでもよく、あるいは長期的な保存および／または送達作用を提供するために持続放出形態で投与し得る。それゆえ医薬製剤および薬剤は、ペレットまたは円筒に圧縮して、デポー注射剤としてまたはステントなどのインプラントとして筋肉内または皮下に移植し得る。そのようなインプラントは、シリコーンおよび生分解性ポリマーなどの公知の不活性材料を使用し得る。

【０２３４】

上述した代表的な投与形態のほかに、医薬的に許容される賦形剤および担体は、一般に当業者に公知であり、それゆえ本発明に包含される。そのような賦形剤および担体は、たとえば参照によりここに組み込まれる、“Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ”Ｍａｃｋ Ｐｕｂ．Ｃｏ．，Ｎｅｗ Ｊｅｒｓｅｙ（１９９１）に述べられている。

【０２３５】

詳細な用量は、疾患の状態、被験体の年齢、体重、全般的健康状態、遺伝子型、性別、および食餌、投与間隔、投与経路、排泄率、および薬剤の組合せに依存して調節され得る。有効量を含有する上記投与形態のいずれもが十分に常套的に実験の範囲内であり、それゆえ十分に本発明の範囲内である。

【０２３６】

マクロファージ関連疾患のために治療薬として有用なＭ－ＣＳＦ抗体は、しばしば他の天然に生じる免疫グロブリンまたは他の生物学的分子を実質的に含まずに調製される。好ましいＭ－ＣＳＦ抗体はまた、マクロファージ関連疾患に罹患しているまたは罹患する素因がある哺乳動物に投与したとき最小限の毒性を示す。

【０２３７】

本発明の組成物は、従来の広く知られた滅菌手法によって滅菌され得る。生じる溶液は、使用のために包装され得るかまたは無菌条件下でろ過されて凍結乾燥され、凍結乾燥製剤は投与前に滅菌溶液と組み合わされ得る。組成物は、ｐＨ調整剤および緩衝剤、張度調整剤等、たとえば酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウムおよび安定剤（たとえば１　２０％マルトース等）のような、生理的条件に近づけるために必要な医薬的に許容される補助剤を含み得る。

【０２３８】

本発明のＭ－ＣＳＦ抗体はまた、薬剤（ここで開示される抗体および、場合により、化学療法剤など）の送達のために有用な様々な種類の脂質および／またはリン脂質および／または界面活性剤から成る小胞である、リポソームによって投与され得る。リポソームは、乳剤、泡、ミセル、不溶性単層、リン脂質分散、ラメラ層等を含み、Ｍ－ＣＳＦ抗体を特定組織に標的するためならびに組成物の半減期を高めるための媒体として働き得る。たとえば参照によりここに組み込まれる、米国特許第４，８３７，０２８号および同第５，０１９，３６９号に述べられているように、様々な方法がリポソームを調製するために使

用可能である。

【０２３９】

抗体を含有するリポソームは、Ｅｐｓｔｅｉｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：３６８８（１９８５）；Ｈｗａｎｇら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４０３０（１９８０）；および米国特許第４，４８５，０４５号および同第４，５４４，５４５号に述べられているような、当技術分野において公知の方法によって調製される。長い循環時間を有するリポソームが米国特許第５，０１３，５５６号に開示されている。特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロールおよびＰＥＧ誘導体化ホスファチジルエタノールアミン（ＰＥＧ－ＰＥ）を含む脂質組成物を用いた逆相蒸発法によって生成できる。リポソームは、所望直径を有するリポソームを生成するために規定された細孔径のフィルターを通して押出される。本発明の抗体のＦａｂ’フラグメントは、ジスルフィド交換反応によってＭａｒｔｉｎら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２５７：２８６－２８８（１９８２）が述べたようにリポソームに結合することができる。化学療法剤（ドキソルビシンなど）が場合によりリポソーム内に含まれる［たとえばＧａｂｉｚｏｎら、Ｊ．Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．８１（１９）：１４８４（１９８９）参照］。

【０２４０】

これらの組成物中のＭ－ＣＳＦ抗体の濃度は広い範囲で、すなわち重量比で約１０％未満、通常少なくとも約２５％から７５％または９０％まで異なり得るが、選択される特定投与様式に従って、主として液体容積、粘度等によって選択される。経口的、局所的および非経口的に投与可能な組成物を調製するための実際の方法は、当業者に公知であるかまたは明白であり、たとえば参照によりここに組み込まれる、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ，１９版、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，ＰＡ（１９９５）に詳細に述べられている。

【０２４１】

患者においてマクロファージ関連疾患を治療するための本発明の組成物の有効量の決定は、当技術分野において周知である標準の経験的方法を通して達成できる。たとえば所与の用量のＭ－ＣＳＦ抗体で治療した被験体からの血清のインビボ中和活性を、Ｃｅｎｃｉら、Ｊ Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．１０５５：１２７９－８７，２０００に述べられているように、インビトロでＭ－ＣＳＦが誘導するマウス単球（ＣＤ１１ｂ＋細胞、高レベルのＭ－ＣＳＦに対する受容体を発現する、ＣＤ１１細胞のサブセット）の増殖および生存をブロックする血清の能力を測定するアッセイを用いて評価し得る。

【０２４２】

本発明の組成物は、マクロファージ関連疾患に既に罹患しているまたは素因があるまたは危険度が高い哺乳動物に、疾患の発症を予防するまたは少なくとも部分的に停止させるために十分な量で投与される。これを達成するために適切な量を「治療有効量」と定義する。Ｍ－ＣＳＦ抗体の有効量は多様であり、疾患の重症度および治療される患者の体重と全般的状態に依存するが、一般に約１．０μｇ／ｋｇ－約１００ｍｇ／ｋｇ体重の範囲である。例示的な用量は、各適用当たり約１０μｇ／ｋｇ－約３０ｍｇ／ｋｇ、または約０．１ｍｇ／ｋｇ－約２０ｍｇ／ｋｇ、または約１ｍｇ／ｋｇ－約１０ｍｇ／ｋｇの範囲であり得る。抗体はまた、体表面積によって用量決定され得る（たとえば４．５ｇ／ｍ^{2}まで）。抗体の他の例示的用量は、単回投与で合計８ｇまで（体重８０ｋｇまたは体表面積１．８ｍ^{2}と仮定して）を含む。

【０２４３】

投与は当技術分野で公知のいかなる手段によってもよい。たとえば抗体は、１またはそれ以上の別々のボーラス投与によって、またはたとえば５、１０、１５、３０、６０、９０または１２０分にわたる短時間または長時間持続注入によって投与し得る。初期治療期間後、患者の応答および治療の耐容性に依存して、患者の応答を維持するために必要に応じて、たとえば週に１回、２週間に１回、３週間ごと、４週間ごと、月に１回、２ヶ月に１回、３ヶ月ごとまたは６ヶ月ごとに維持用量を投与し得る。疾患症状の所望抑制が起こ

るまではより頻繁な投与が必要であると考えられ、用量は必要に応じて調節され得る。この治療の進行は、従来の手法およびアッセイによって容易に観測される。治療は、規定された期間であり得るか、または慢性的であり、疾患の進行または死亡まで数年間にわたって継続され得る。

【０２４４】

組成物の単回または多回投与は、治療医師によって選択される用量レベルとパターンで実施され得る。疾患の予防または治療のために、抗体の適切な用量は、上記で定義したように、治療される疾患の種類、疾患の重症度および経過、疾患が予防目的または治療目的で投与されるかどうか、以前の治療、患者の病歴および抗体に対する応答、および主治医の判断に依存する。抗体は、一度にまたは一連の治療にわたって患者に適切に投与される。

【０２４５】

いかなる場合も、製剤は、一定期間にわたってマクロファージ関連疾患を有効に予防するまたはマクロファージ関連疾患の重症度を最小限に抑えるために十分な量のＭ－ＣＳＦ抗体を提供すべきである。本発明の組成物は、単独でまたはマクロファージ関連疾患の治療のための当技術分野で公知の他の治療薬と組み合わせた補助療法として投与され得る。

【０２４６】

抗体組成物は、医療実施基準に一致する方法で製剤され、用量決定され、投与される。これに関する考慮因子は、治療される特定疾患、治療される特定哺乳動物、個々の患者の臨床状態、疾患の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与のスケジュール、および医師に既知の他の因子を含む。投与される抗体の治療有効量はそのような配慮によって決定され、Ｍ－ＣＳＦ媒介性疾患、状態または障害を予防する、改善する、または治療するために必要な最小量である。そのような量は、好ましくは、宿主に毒性であるまたは宿主を感染に対して有意により感受性にする量より低い。

【０２４７】

抗体は、必ずしもその必要はないが、場合により、対象疾患を予防するまたは治療するために現在使用される１またはそれ以上の薬剤と共に製剤される。そのような他剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、疾患、状態または障害または治療の種類、および上記で論じた他の因子に依存する。これらは一般に、以前に使用されたのと同じ用量および投与経路で、またはこれまでに使用された用量の約１－９９％で使用される。

【０２４８】

本発明のもう１つの実施形態では、マクロファージ関連疾患の治療のために有用な物質を含む製品。製品は容器とラベルを含む。適切な容器は、たとえばビン、バイアル、注射器および試験管を含む。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から形成され得る。容器は、状態を治療するために有効な組成物を保持し、無菌アクセスポートを有し得る（たとえば容器は、静脈内溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通できる栓を有するバイアルであり得る）。組成物中の活性物質は本発明の抗体である。容器上のまたは容器に結合したラベルは、組成物が選択状態を治療するために使用されることを指示する。製品は、第二治療薬（ここで述べるまたは当技術分野で公知のマクロファージ関連疾患のための第二治療薬のいずれかを含む）を含む第二容器をさらに含み得る。製品は、凍結乾燥抗体製剤を再溶解するためのリン酸緩衝食塩水、リンガー液またはデキストロース溶液などの、医薬的に許容される緩衝液を含むもう１つ別の容器をさらに含み得る。製品は、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、注射器、および使用のための指示が記載された添付文書を含む、商業的および使用者の見地から望ましい他の物質をさらに含み得る。

【０２４９】

抗体複合体

抗Ｍ－ＣＳＦ抗体は、「裸の」または非複合形態で投与され得るか、または他の治療薬または診断薬に直接複合され得るか、またはそのような他の治療薬または診断薬を含む担体ポリマーに間接的に複合され得る。

【０２５０】

抗体は、放射性同位体、親和性標識（ビオチン、アビジン等）、酵素標識（ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ等）、蛍光または発光または生物発光標識（ＦＩＴＣまたはローダミン等）、常磁性原子等の使用を通して検出可能に標識できる。そのような標識化のための手順は当技術分野において周知である；たとえばＳｔｅｒｎｂｅｒｇｅｒ，Ｌ．Ａ．ら、Ｊ．Ｈｉｓｔｏｃｈｅｍ．Ｃｙｔｏｃｈｅｍ．１８：３１５（１９７０）；Ｂａｙｅｒ，Ｅ．Ａ．ら、Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍ．６２：３０８（１９７９）；Ｅｎｇｖａｌ，Ｅ．ら、Ｉｍｍｕｎｏｌ．１０９：１２９（１９７２）；Ｇｏｄｉｎｇ，Ｊ．Ｗ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．１３：２１５（１９７６））参照。

【０２５１】

抗体部分の複合は米国特許第６，３０６，３９３号に述べられている。一般的な手法はまた、Ｓｈｉｈら、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ　４１：８３２－８３９（１９８８）；Ｓｈｉｈら、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ　４６：１１０１－１１０６（１９９０）；およびＳｈｉｈら、米国特許第５，０５７，３１３号にも記述されている。この一般的方法は、酸化糖質部分を有する抗体成分を、少なくとも１個の遊離アミン官能基を有し、複数の薬剤、毒素、キレート化剤、ホウ素アデンド（ａｄｄｅｎｄｓ）、または他の治療薬が負荷されている担体ポリマーと反応させることを含む。この反応は、最終複合体を形成するために第二級アミンへの還元によって安定化できる、初期シッフ塩基（イミン）結合を生じさせる。

【０２５２】

担体ポリマーは、たとえばアミノデキストランまたは少なくとも５０アミノ酸残基のポリペプチドであり得る。薬剤または他の物質を担体ポリマーに複合するための様々な手法が当技術分野において公知である。ポリペプチド担体がアミノデキストランの代わりに使用できるが、ポリペプチド担体は、鎖内に少なくとも５０アミノ酸残基、好ましくは１００－５０００アミノ酸残基を有するべきである。アミノ酸の少なくとも一部は、リシン残基あるいはグルタミン酸またはアスパラギン酸残基であるべきである。リシン残基のペンダントアミンおよびグルタミンおよびアスパラギン酸のペンダントカルボン酸は、薬剤、毒素、免疫調節剤、キレート化剤、ホウ素アデンドまたは他の治療薬を結合するために好都合である。適切なポリペプチド担体の例は、ポリリシン、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸、それらのコポリマー、およびこれらのアミノ酸と、生じる負荷された担体および複合体に望ましい溶解特性を与えるための他のアミノ酸、たとえばセリンの混合ポリマーを含む。

【０２５３】

あるいは、複合抗体は、抗体成分を治療薬と直接複合することによって調製できる。一般手順は、治療薬を酸化抗体成分に直接結合することを除いて、間接的複合方法と同様である。たとえば半減期を延長させるために抗体の糖質部分をポリエチレングリコールに結合することができる。

【０２５４】

あるいは、治療薬を、ジスルフィド結合形成によってまたはＮ－スクシニル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ＳＰＤＰ）などの二官能性架橋剤を用いて、還元抗体成分のヒンジ領域に結合することができる。Ｙｕら、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ５６：２４４（１９９４）。そのような複合のための一般的手法は当技術分野において周知である。たとえばＷｏｎｇ，Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　Ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｃｏｎｊｕｇａｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｃｒｏｓｓ－Ｌｉｎｋｉｎｇ（ＣＲＣ　Ｐｒｅｓｓ　１９９１）；Ｕｐｅｓｌａｃｉｓら、“Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ　ｏｆ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　ｂｙ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ，”ｉｎ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｂｉｒｃｈら（編集），ｐ．１８７－２３０（Ｗｉｌｅｙ－Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．１９９５）；Ｐｒｉｃｅ，“Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ　ｏｆ　Ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ　Ｐｅｐｔｉｄｅ－Ｄｅｒｉｖｅｄ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，”ｉｎ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ，Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ

ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ，Ｒｉｔｔｅｒら（編集），ｐ．６０－８４（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ １９９５）参照。Ｎ－スクシニミジル－３－（２－ピリジルジチオール）プロピオネート（ＳＰＤＰ）、イミノチオラン（ＩＴ）、イミドエステルの二官能性誘導体（ジメチルアジピミデートＨＣＬ）、活性エステル（ジスルクシニミジルスベレートなど）、アルデヒド（グルタルアルデヒドなど）、ビス－アジド化合物（ビス（ｐ－アジドベンゾイル）ヘキサンジアミンなど）、ビス－ジアゾニウム誘導体（ビス－（ｐ－ジアゾニウムベンゾイル）－エチレンジアミンなど）、ジイソシアネート（トリエン２，６－ジイソシアネートなど）、およびビス活性フッ素化合物（１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼンなど）などの、様々な二官能性タンパク質カップリング剤が当技術分野において公知である。

【０２５５】

最後に、１またはそれ以上の抗Ｍ－ＣＳＦ抗体部分ともう１つ別のポリペプチドを含む融合タンパク質を構築することができる。抗体融合タンパク質を作製する方法は当技術分野において周知である。たとえば米国特許第６，３０６，３９３号参照。インターロイキン－２部分を含む抗体融合タンパク質が、Ｂｏｌｅｔｉら、Ａｎｎ．Ｏｎｃｏｌ．６：９４５（１９９５），Ｎｉｃｏｌｅｔｔら、Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．２：１６１（１９９５），Ｂｅｃｋｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９３：７８２６（１９９６），Ｈａｎｋら、Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２：１９５１（１９９６）、およびＨｕら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５６：４９９８（１９９６）によって述べられている。

【０２５６】

本発明を以下の実施例によって説明するが、それらはいかなる意味においても限定を意図しない。

【実施例】

【０２５７】

実施例１

この実施例は、Ｍ－ＣＳＦ抗体ＲＸ１および５Ａ１が種特異的であること、および抗体ＲＸ１、ＭＣ１およびＭＣ３がヒトＭ－ＣＳＦ活性を中和することを示す。ＲＸ１は、本出願の提出日に先立って１年以上前に使用可能となった市販抗体である。例示的な市販供給源は、マウス抗ヒトＭ－ＣＳＦモノクローナル抗体クローン１１６、６９２および２１（Ａｎｏｇｅｎ）；抗ヒトＭ－ＣＳＦ抗体クローン２１１１３．１３１、２６７３０および２６７８６（Ｒ ＆ Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｉｎｃ．）；および抗ヒトＭ－ＣＳＦ抗体クローンＭ１６（Ａｎｔｉｇｅｎｉｘ Ａｍｅｒｉｃａ，Ｉｎｃ．）を含むが、これらに限定されない。

【０２５８】

ＲＸ１と５Ａ１の中和活性を試験するために、Ｍ－ＮＦＳ－６０細胞系の増殖アッセイを使用した（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎアクセッション番号ＣＲＬ－１８３８、ＡＴＣＣ ｉｎ Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，ＭＤ，ＵＳＡより入手可能、インターロイキン３とＭ－ＣＳＦの両方に応答性であり、レトロウイルスに組込みによって生じたトランケート型ｃ－ｍｙｂ癌原遺伝子を含む、Ｃａｓ－Ｂｒ－ＭｕＬＶ野生マウス同種指向性レトロウイルスで誘導した骨髄性白血病に由来する）。Ｍ－ＮＦＳ－６０の増殖は、用量依存的に活性Ｍ－ＣＳＦを必要とする。アッセイにおいて、Ｍ－ＮＦＳ－６０細胞を洗浄し、１０％ＦＢＳおよび３０００Ｕ／ｍｌのＭ－ＣＳＦおよび１％Ｐｅｎ／Ｓｔｒｅｐを添加したＲＰＭＩ１６４０培地に入れた。ヒトまたはマウス特異的な、組換えヒトＭ－ＣＳＦ（最終濃度１０ｎｇ／ｍｌ）を、様々な濃度の抗体と共にインキュベーターにおいて５％CO_2中３７℃で１時間インキュベートした。インキュベーション後、混合物を９６穴マイクロタイタープレート中のＭ－ＮＦＳ－６０培養物に添加した。ウエル当たりの総アッセイ容量は１００μｌで、１０ｎｇ／ｍｌ Ｍ－ＣＳＦであり、抗体濃度は図４に示されている。細胞を５％CO_2下に３７℃で７２時間インキュベートした後、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ Ｇｌｏアッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ）によって細胞

数を測定した。前記アッセイを抗体ＭＣ３とＭＣ１に関して反復した。

【０２５９】

図４に示すように、Ｍ－ＣＳＦ抗体ＲＸ１および５Ａ１が種特異的である。細胞増殖はＣｅｌｌＴｉｔｅｒ　Ｇｌｏアッセイからの蛍光読取りとして示されており、細胞数に対して線形である。ＲＸ１および５Ａ１の種特異的中和活性は、ヒトまたはマウスＭ－ＣＳＦのいずれかの存在下でＭ－ＮＦＳ－６０を阻害するその能力によって示される。最後に、図４Ｂに示すように、抗体ＭＣ３およびＭＣ１もＭ－ＣＳＦ活性の有効な阻害剤である。

【０２６０】

実施例２

この実施例は、ＲＸ１抗体のヒト化のための手順を述べる。５Ｈ４、ＭＣ１およびＭＣ３は同様の手順を用いてヒト化される。

【０２６１】

ヒト化ＲＸ１軽および重鎖についての遺伝子の設計

マウスＲＸ１についてのヌクレオチドおよびアミノ酸配列を図３Ｂに示す。Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ　Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ　Ｒｅｓｏｕｒｃｅまたは同様のデータベースを用いて同定されるヒト抗体の配列を、ヒト化抗体のフレームワークを与えるために使用する。ヒト化重鎖の配列を選択するため、マウスＲＸ１重鎖配列をヒト抗体重鎖の配列と整列する。各々の位置で、その位置が以下で定義される４つのカテゴリーのいずれかに属さなければ、ヒト抗体アミノ酸をヒト化配列のために選択し、いずれかに属する場合はマウスＲＸ１アミノ酸を選択する：

（１）その位置が、Ｋａｂａｔ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１２５，９６１－９６９（１９８０）によって定義される、相補性決定領域（ＣＤＲ）内に属する；

（２）ヒト抗体アミノ酸がその位置のヒト重鎖に関してまれであり、一方マウスＲＸ１アミノ酸がその位置のヒト重鎖に関して一般的である；

（３）その位置がマウスＲＸ１重鎖のアミノ酸配列内のＣＤＲの直近にある；または

（４）マウスＲＸ１抗体の三次元モデリングが、そのアミノ酸が物理的に抗原結合領域に近いことを示唆する。

【０２６２】

ヒト化軽鎖の配列を選択するため、マウスＲＸ１軽鎖配列をヒト抗体軽鎖の配列と整列する。その位置がやはり、上記で定義され、以下で反復されるカテゴリーの１つに属さなければ、ヒト抗体アミノ酸を各々の位置でヒト化配列のために選択する：

（１）ＣＤＲ；

（２）ヒト抗体よりも典型的なマウスＲＸ１アミノ酸；

（３）ＣＤＲに隣接；または

（４）結合領域への三次元近接の可能性。

【０２６３】

重および軽鎖遺伝子の実際のヌクレオチドは以下のように選択される：

（１）ヌクレオチド配列は、上述したように選択されるアミノ酸配列をコードする；

（２）これらのコード配列の５’側で、ヌクレオチド配列はリーダー（シグナル）配列をコードする。これらのリーダー配列は抗体に典型的であるとして選択された；

（３）コード配列の３’側で、ヌクレオチド配列は、マウスＲＸ１配列の一部である、マウス軽鎖Ｊ５セグメントおよびマウス重鎖Ｊ２セグメントに続く配列である。これらの配列は、スプライス供与シグナルを含むため、包含される；および

（４）配列の各々の末端は、ＸｂａＩ部位での切断とベクターのＸｂａＩ部位へのクローニングを可能にするＸｂａＩ部位である。

【０２６４】

ヒト化軽および重鎖遺伝子の構築

重鎖を合成するため、Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　３８０Ｂ　ＤＮＡ合成

装置を用いて４個のオリゴヌクレオチドを合成する。オリゴヌクレオチドの２個は重鎖の各々の鎖の一部であり、各々のオリゴヌクレオチドは、アニーリングを可能にするため次のものと約２０ヌクレオチド重複する。合わせて、オリゴヌクレオチドは、ＸｂａＩ部位での切断を可能にするための各末端の数個の余分なヌクレオチドと共にヒト化重鎖可変領域全体をカバーする。オリゴヌクレオチドをポリアクリルアミドゲルから精製する。

【０２６５】

各々のオリゴヌクレオチドを、ＡＴＰおよびＴ４ポリヌクレオチドキナーゼを用いて標準手順によってリン酸化する（Ｍａｎｉａｔｉｓら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，２版、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．（１９８９））。リン酸化オリゴヌクレオチドをアニーリングするため、それらを各々約３．７５μＭの濃度でＴＡ４０μｌ（３３ｍＭトリスアセテート、ｐＨ７．９、６６ｍＭ酢酸カリウム、１０ｍＭ酢酸マグネシウム）中に一緒に懸濁し、９５℃に４分間加熱して、４℃に緩やかに冷却する。各々のオリゴヌクレオチドの反対側の鎖を合成することによってオリゴヌクレオチドから完全な遺伝子を合成するため、以下の成分を最終容量１００μｌ中に添加する：

１０μｌ	アニーリングしたオリゴヌクレオチド
０．１６ｍＭ	各々のデオキシリボヌクレオチド
０．５ｍＭ	ＡＴＰ
０．５ｍＭ	ＤＴＴ
１００μｇ／ｍｌ	ＢＳＡ
３．５μｇ／ｍｌ	Ｔ４ｇ４３タンパク質（ＤＮＡポリメラーゼ）
２５μｇ／ｍｌ	Ｔ４ｇ４４／６２タンパク質（ポリメラーゼ付属タンパク質）
２５μｇ／ｍｌ	４５タンパク質（ポリメラーゼ付属タンパク質）

混合物を３７℃で３０分間インキュベートする。次にＴ４ＤＮＡリガーゼ１０ｕを添加し、再び３７℃で３０分間インキュベーションを実施する。ポリメラーゼおよびリガーゼを、７０℃で１５分間反応物をインキュベートすることによって不活性化する。遺伝子をＸｂａＩで消化するため、５μｌ中に２００μｇ／ｍｌ ＢＳAおよび１ｍＭ ＤＴＴ、水４３μｌおよびＸｂａＩ ５０ｕを含む２ＸＴＡ ５０μｌを反応物に添加する。反応物を３７℃で３時間インキュベートし、その後ゲルで精製する。ＸｂａＩフラグメントをゲルから精製し、標準方法によってプラスミドｐＵＣ１９のＸｂａＩ部位にクローニングする。標準手法を用いてプラスミドを精製し、ジデオキシ法を用いて配列決定する。

【０２６６】

ヒト化軽および重鎖を発現するプラスミドの構築は、軽および重鎖ＸｂａＩフラグメントを、それが挿入されていたｐＵＣ１９プラスミドから単離し、次にそれを、適切な宿主細胞にトランスフェクトしたとき高レベルの完全な重鎖を発現する適切な発現ベクターのＸｂａＩ部位に挿入することによって達成される。

【０２６７】

ヒト化抗体の合成および親和性

発現ベクターをマウスＳｐ２／０細胞にトランスフェクトし、プラスミドを組み込む細胞を、標準方法によって発現ベクターに与えられる選択マーカーに基づいて選択する。これらの細胞がＭ－ＣＳＦに結合する抗体を分泌したことを確認するため、細胞からの上清を、Ｍ－ＣＳＦを発現することが既知である細胞と共にインキュベートする。洗浄後、細胞をフルオレセイン複合ヤギ抗ヒト抗体と共にインキュベートし、洗浄して、ＦＡＣＳＣＡＮ細胞蛍光光度計で蛍光を分析する。

【０２６８】

次の実験のために、ヒト化抗体を産生する細胞をマウスに注射し、生じた腹水を収集する。ヒト化抗体を、ヤギ抗ヒト免疫グロブリン抗体のアフィニティーカラムを通過させることによって腹水から実質上均一に精製し、標準手法に従ってＡｆｆｉｇｅｌ－１０支持体（Ｂｉｏ－Ｒａｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｒｉｃｈｍｏｎｄ，Ｃａｌ

ｉｆ．）上で調製する。もとのマウスＲＸ１抗体と比較してヒト化抗体の親和性を測定するため、当技術分野で公知の手法に従って競合結合実験を実施する。

【０２６９】

実施例３

この実験は、Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）ＲＸ１抗体のクローニングと発現、ならびにそのような抗体の精製と結合活性に関する試験を述べる。Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）５Ｈ４、ＭＣ１およびＭＣ３抗体は同様の手順を用いて作製される。

【０２７０】

Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）配列の設計

抗体可変ドメインのヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（商標））は、Ｓｔｕｄｎｉｃｋａによって［たとえばＳｔｕｄｎｉｃｋａら、米国特許第５，７６６，８８６号；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ　７：８０５－８１４（１９９４）］抗体分子の結合活性を維持しつつ免疫原性を低下させるための方法として記述された。その方法によれば、各々の可変領域アミノ酸に置換の危険度が割り当てられた。アミノ酸置換は３つの危険度カテゴリーの１つによって区別される：（１）低危険度変化は、抗原結合を破壊する最小限の可能性で、免疫原性を低下させる最大の潜在的可能性を有するものである；（２）中危険度変化は、免疫原性をさらに低下させるが、抗原結合またはタンパク質の折りたたみに影響を及ぼす可能性がより大きいものである；（３）高危険度残基は、抗体に結合するためまたは抗体構造を維持するために重要であり、抗原結合またはタンパク質の折りたたみが影響を受ける最も高い危険度を担うものである。プロリンの三次元構造における役割のゆえに、プロリンにおける修飾は一般に、その位置が典型的には低危険度位置である場合でも、少なくとも中危険度変化とみなされる。置換変化が好ましいが、挿入および欠失も可能である。図３Ｂおよび３Ｃは、それぞれ高、中または低危険度変化と分類される、マウスＲＸ１軽および重鎖の各アミノ酸残基についての危険度割当てを示す。

【０２７１】

この方法を用いてマウスＲＸ１抗体の軽および重鎖の可変領域をヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標））した。低危険度位置の、前記方法に従った修飾のための候補であるアミノ酸残基を、マウス可変領域のアミノ酸配列をヒト可変領域配列と整列することによって特定した。個々のＶＨまたはＶＬ配列、またはヒトコンセンサスＶＨまたはＶＬ配列を含む、いかなるヒト可変領域も使用できる。何らかの数の低危険度位置、またはすべての低危険度位置のアミノ酸残基を変更することができる。図１３Ａ－Ｂのヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標））「低危険度」重鎖配列のために、ヒトコンセンサスＶｈ２（Ｋａｂａｔに基づく）を鋳型として使用し、低危険度位置でマウスとヒトのアミノ酸残基が異なる各々の位置について、マウス残基をヒト残基で置換するアミノ酸修飾を導入した。図１４Ａ－Ｂのヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標））「低危険度」軽鎖配列のために、ヒトコンセンサスκ３（Ｋａｂａｔに基づく）を鋳型として使用し、低危険度位置でマウスとヒトのアミノ酸残基が異なる各々の位置について、マウス残基をヒト残基で置換するアミノ酸修飾を導入した。合計１６のアミノ酸低危険度修飾を軽鎖に導入し、８つの低危険度修飾を重鎖に導入した。

【０２７２】

同様に、低および中危険度位置の全部で、前記方法に従った修飾のための候補であるアミノ酸残基を、マウス可変領域のアミノ酸配列をヒト可変領域配列と整列することによって特定した。何らかの数の低または中危険度位置、またはすべての低および中危険度位置のアミノ酸残基を変更することができる。図１３Ａ－Ｂのヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標））重鎖配列のために、ヒトコンセンサスＶｈ２（Ｋａｂａｔに基づく）を鋳型として使用し、低または中危険度位置でマウスとヒトのアミノ酸残基が異なる各々の位置について、マウス残基をヒト残基で置換するアミノ酸修飾を導入した

。図１４Ａ－Ｂのヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標））軽鎖配列のために、ヒトコンセンサスκ３（Ｋａｂａｔに基づく）を鋳型として使用し、低または中危険度位置でマウスとヒトのアミノ酸残基が異なる各々の位置について、マウス残基をヒト残基で置換するアミノ酸修飾を導入した。合計１９の低および中危険度アミノ酸修飾を軽鎖に導入し、１２の低および中危険度修飾を重鎖に導入した。

【０２７３】

「選択的（ａｌｔｅｒｎａｔｉｖｅ）低危険度」軽鎖配列も、図１５Ａ－Ｂに示すように作製し、５４位の修飾をマウスに戻した。「選択的低＋中危険度」軽鎖配列も図１５Ａ－Ｂに示すように作製し、５４－５６位の修飾をマウスに戻した。

【０２７４】

最後に、ヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標））「低＋中危険度」軽鎖Ｖ領域配列も、図１６Ａ－Ｂに示すように、ヒト生殖細胞ＶＫ６サブグループ２－１－（１）Ａ１４を鋳型として用いて作製した。

【０２７５】

グリコシル化部位である図３Ａのアミノ酸４１－４３（ＮＧＳ）を保持することも本発明によって考慮される。あるいは、アミノ酸４１－４３の１または２個だけ（たとえばＮＧ）を保持し得る。

【０２７６】

恒久的細胞系開発のための発現ベクターの作製

抗体由来のシグナル配列と共に上述した重および軽鎖Ｖ領域配列の各々をコードするＤＮＡフラグメントを、合成ヌクレオチド合成を用いて構築した。上述した軽鎖Ｖ領域アミノ酸配列の各々をコードするＤＮＡを、ヒトκ軽鎖定常領域を含むベクターｐＭＸＰ１０に挿入した。上述した重鎖Ｖ領域アミノ酸配列の各々をコードするＤＮＡを、ヒトγ２重鎖定常領域を含むベクターｐＭＸＰ６に挿入した。図１９Ａ、１９Ｂおよび２０に示す配列を有するヒトγ１（ｃＤＮＡ）およびγ４（ゲノムおよびｃＤＮＡ）定常領域に融合した重鎖Ｖ領域アミノ酸配列を含む付加的なベクターも構築した。これらのベクターはすべて、ｈＣＭＶプロモーターおよびマウスκ軽鎖３’非翻訳領域、ならびにそれぞれＧ４１８またはヒスチジノール耐性トランスフェクタントの選択のためのｎｅｏまたはｈｉｓなどの選択マーカー遺伝子を含む。軽および重鎖ベクターをそれぞれ表２および３に示す。

【０２７７】

【化３１】

表2. 単一遺伝子恒久的κ軽鎖ベクター

プラスミド	Ｖ領域	選択マーカー
pMXC5	低＋中危険度(Kabat)	*neo*
pMXC6	低危険度(Kabat)	*neo*
pMXC13	低危険度(Kabat)－R54からS	*neo*
pMXC14	低＋中危険度(Kabat)－RAT54、55、56からSIS	*neo*
pMXC22	低＋中危険度(生殖細胞)	*neo*

【０２７８】

【化３２】

表3. 単一遺伝子恒久的重鎖ベクター

プラスミド	V領域	C領域	選択マーカー
pMXC7	低＋中危険度(Kabat)	γ２	*neo*
pMXC8	低危険度(Kabat)	γ２	*neo*
pMXC40	低危険度(Kabat)	γ１	*neo*

【０２７９】

【化３３】

pMXC41	低＋中危険度(Kabat)	γ１	*neo*
pMXC45	低＋中危険度(Kabat)	γ４(ゲノム)	*neo*
pMXC46	低＋中危険度(Kabat)	γ４ (cDNA)	*neo*

次に、所望ヒト遺伝子操作（Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標））軽鎖プラス重鎖遺伝子（γ１、γ２およびγ４）を含むベクターを構築した。これらの「２遺伝子」ベクターは、ｈＣＭＶプロモーターの制御下の、各々の抗体重および軽鎖、ＣＭＶスプライス供与部位、ＳＶ４０　１６Ｓスプライス受容部位、およびポリＡ部位を含むマウスκ軽鎖３’非翻訳ＤＮＡをコードする遺伝子を含む。それらはまた、ｎｅｏまたはｈｉｓなどの選択マーカー遺伝子およびアンピシリン耐性遺伝子を含む。重鎖と軽鎖の両方の遺伝子を含むベクターを表４に示す。各々の軽および重鎖遺伝子の２コピーを含むベクター（４遺伝子ベクター）も構築することができる。

【０２８０】

【化３４】

表4．2遺伝子恒久的発現ベクター

		重鎖		
プラスミド	κ軽鎖	V領域	C領域	選択マーカー
pMXC12	低危険度(Kabat)	低危険度(Kabat)	γ2	*neo*
pMXC37	低危険度(Kabat)	低危険度(Kabat)	γ2	*his*
pMXC9	低＋中危険度(Kabat)	低＋中危険度(Kabat)	γ2	*neo*
pMXC16	低危険度(Kabat)	低＋中危険度(Kabat)	γ2	*neo*
pMXC17	低＋中危険度(Kabat)	低危険度(Kabat)	γ2	*neo*
pMXC18	低危険度(Kabat)－R54からS	低＋中危険度(Kabat)	γ2	*neo*
pMXC19	低＋中危険度(Kabat)－RAT54、55、56からSIS	低＋中危険度(Kabat)	γ2	*neo*
pMXC20	低危険度(Kabat)－R54からS	低危険度(Kabat)	γ2	*neo*
pMXC21	低＋中危険度(Kabat)－RAT54、55、56からSIS	低危険度(Kabat)	γ2	*neo*
pMXC25	低＋中危険度(生殖細胞)	低＋中危険度(Kabat)	γ2	*neo*
pMXC47	低＋中危険度(生殖細胞)	低＋中危険度(Kabat)	γ2	*his*
pMXC26	低＋中危険度(生殖細胞)	低危険度(Kabat)	γ2	*neo*
pMXC42	低＋中危険度(生殖細胞)	低危険度(Kabat)	γ1	*neo*
pMXC43	低＋中危険度(生殖細胞)	低＋中危険度(Kabat)	γ1	*neo*
pMXC50	低＋中危険度(生殖細胞)	低＋中危険度(Kabat)	γ1	*his*

【０２８１】

【化３５】

pMXC48	低＋中危険度(生殖細胞)	低＋中危険度(Kabat)	γ4 (cDNA)	*Neo*
pMXC49	低＋中危険度(生殖細胞)	低＋中危険度(Kabat)	γ4 (ゲノム)	*neo*

一過性発現のための発現ベクターの作製

上述した軽または重鎖遺伝子のいずれかを含むベクターも、一過性トランスフェクションのために構築した。これらのベクターは、ｎｅｏまたはｈｉｓ遺伝子ではなく、エプスタイン‐バーウイルス核抗原を発現するＨＥＫ２９３細胞における複製のためのエプスタイン‐バーウイルスｏｒｉＰを含むことを除き、恒久的トランスフェクションのための上述したベクターと同様である。一過性トランスフェクションのためのベクターを表５および６に示す。

【０２８２】

【化３６】

表5．一過性κ軽鎖ベクター

プラスミド	V領域
pMXC1	低＋中危険度(Kabat)
pMXC2	低＋中危険度(Kabat)
pMXC10	低＋中危険度(Kabat)－RAT54、55、56からSIS
pMXC11	低危険度(Kabat)－R54からS
pMXC15	低＋中危険度(生殖細胞)

【０２８３】
【化３７】

表6．一過性重鎖ベクター

プラスミド	V領域	C領域
pMXC3	低＋中危険度(Kabat)	γ2
pMXC4	低危険度(Kabat)	γ2
pMXC29	低危険度(Kabat)	γ1
pMXC38	低危険度(Kabat)	γ4(ゲノム)
pMXC39	低＋中危険度(Kabat)	γ1

ＨＥＫ２９３Ｅ細胞におけるヒト遺伝子操作ＲＸ１の一過性発現

各々エプスタイン‐バーウイルスからのｏｒｉＰおよび上述した軽鎖または重鎖遺伝子を含む別々のベクターをＨＥＫ２９３Ｅ細胞に一過性にトランスフェクトした。一過性にトランスフェクトした細胞を１０日間までインキュベートし、その後上清を回収して、プロテインＡクロマトグラフィーを用いて抗体を精製した。２９３Ｅ細胞の一過性トランスフェクションによって生産されたタンパク質を以下の表７に示す。

【０２８４】

【化３８】

表7．作製したヒト遺伝子操作RX1抗体

	軽鎖		重鎖	
抗体	プラスミド	タンパク質	プラスミド	タンパク質
heRX1-1.G2	pMXC2	低危険度(Kabat)	pMXC4	低危険度(Kabat)
heRX1-2.G2	pMXC2	低危険度(Kabat)	pMXC3	低＋中危険度(Kabat)
heRX1-3.G2	pMXC1	低＋中危険度(Kabat)	pMXC4	低危険度(Kabat)
heRX1-4.G2	pMXC1	低＋中危険度(Kabat)	pMXC3	低＋中危険度(Kabat)
heRX1-5.G2	pMXC11	低危険度(Kabat)－R54からS	pMXC4	低危険度(Kabat)
heRX1-6.G2	pMXC11	低危険度(Kabat)－R54からS	pMXC4	低危険度(Kabat)
heRX1-7.G2	pMXC10	低＋中危険度(Kabat)－RAT54、55、56からSIS	pMXC4	低危険度(Kabat)
heRX1-8.G2	pMXC10	低＋中危険度(Kabat)－RAT54、55、56からSIS	pMXC3	低＋中危険度(Kabat)
heRX1-9.G2	pMXC15	低＋中危険度(生殖細胞)	pMXC4	低危険度(Kabat)
heRX1-10.G2	pMXC15	低＋中危険度(生殖細胞)	pMXC3	低＋中危険度(Kabat)
heRX1-1.G1	pMXC2	低危険度(生殖細胞)	pMXC29	低危険度(Kabat)
heRX1-10.G1	pMXC15	低＋中危険度(生殖細胞)	pMXC39	低＋中危険度(Kabat)
heRX1-9.G4	pMXC15	低＋中危険度(生殖細胞)	pMXC38	低危険度(Kabat)

恒久的にトランスフェクトしたＣＨＯ－Ｋ１細胞の開発

軽鎖および重鎖遺伝子の各々１コピーを一緒に含む上述したベクター（表４）をＥｘ－Ｃｅｌｌ　３０２適合ＣＨＯ－Ｋ１細胞にトランスフェクトする。Ｅｘ－Ｃｅｌｌ　３０２培地での懸濁液増殖に適応させたＣＨＯ－Ｋ１細胞を、典型的には線状ベクター４０μｇで電気穿孔する。あるいは、線状ＤＮＡを線状ポリエチレンイミン（ＰＥＩ）と複合し、トランスフェクションのために使用することができる。１％ＦＢＳおよびＧ４１８を添加したＥｘ－Ｃｅｌｌ　３０２培地を含む９６穴プレートに細胞を接種する。クローンを９６穴プレート中でスクリーニングし、各々のトランスフェクションから上部～１０％のクローンを、Ｅｘ－Ｃｅｌｌ　３０２培地を含む２４穴プレートに移す。

【０２８５】

２４穴プレートにおいてＥｘ－Ｃｅｌｌ　３０２培地中で７および１４日間増殖させた培養物に関して生産性試験を実施し、前記の各時点で、ＩｇＧに関する免疫グロブリンＥＬＩＳＡアッセイにより、分泌された抗体のレベルについて培養上清を試験する。

【０２８６】

上部クローンを、Ｅｘ－Ｃｅｌｌ　３０２培地を含む振とうフラスコに移す。細胞が懸濁液増殖に適応すれば直ちに、Ｅｘ－Ｃｅｌｌ　３０２培地中でこれらのクローンに関して振とうフラスコ試験を実施する。細胞を、培地２５ｍｌを含む１２５ｍｌエルレンマイ

ヤーフラスコ中で１０日間まで増殖させる。ガス交換させるためにインキュベーション期間中少なくとも１日おきにフラスコを開き、インキュベーション期間の終了時にＩｇＧＥＬＩＳＡによって培地中の免疫グロブリンポリペプチドのレベルを測定する。２または３の多ユニット転写ベクターによる同じ細胞系の多回連続トランスフェクションは、免疫グロブリン産生レベルのさらなる上昇、好ましくは３００μｇ／ｍｌまたはそれ以上への上昇を示すクローンおよび細胞系を生じる。

【０２８７】

精製

本発明に従ったベクターおよびすべての細胞系からの免疫グロブリンポリペプチドの精製のための方法を設計し得る。当技術分野において周知の方法に従って、終了後のろ過によって細胞を除去する。ろ液をプロテインＡカラムに負荷する（必要に応じて複数回の通過）。カラムを洗浄し、その後、発現され、分泌された免疫グロブリンポリペプチドをカラムから溶出する。抗体生成物の作製のために、ウイルス不活性化工程としてプロテインＡプールを低ｐＨ（最小限３０分間および最大限１時間ｐＨ３）に保持する。次に生成物をさらに精製するために吸着陽イオン交換工程を使用する。吸着分離カラムからの溶出液を、潜在的ウイルス粒子のさらなる清掃を与えるためにウイルス保持フィルターに通す。生成物が結合しない陰イオン交換カラムに通すことによってろ液をさらに精製する。最後に、ダイアフィルトレーション（膜分離精製法）を通して生成物を製剤緩衝液に移すことによって精製工程を終了する。保持液を少なくとも１ｍｇ／ｍＬのタンパク質濃度に調整し、安定剤を添加する。

【０２８８】

結合活性

組換えＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体のＭ－ＣＳＦ結合活性を評価する。タンパク質を、プロテインＡカラムに通すことによって振とうフラスコ培養上清から精製し、その後A_{280}によって濃度を測定する。上記実施例１または以下の７で述べるように結合アッセイを実施する。ＰＢＳ被覆溶液中で前希釈したｓＭ－ＣＳＦ抗原をマイクロプレートに固定化するためにＩｍｍｕｌｏｎ　ＩＩプレートを前記ｓＭ－ＣＳＦ抗原で前被覆する。０．２５から２０μｇ／ｍｌまでにわたる様々な試験濃度のＭ－ＣＳＦを５０μｌ／穴で添加し、４℃で一晩インキュベートする。次にプレートをＰＢＳ－０．０５％Ｔｗｅｅｎで3回洗う。ＰＢＳ－０．０５％Ｔｗｅｅｎに１％ＢＳＡを添加し、その後３７℃で３０分間インキュベートすることによってブロッキングを実施する。免疫グロブリンポリペプチドの希釈溶液をＰＢＳ－０．０５％Ｔｗｅｅｎ１％ＢＳＡ溶液中で調製する。２または3倍連続希釈溶液を調製し、二重または三重試験様式で添加する（１００μｌ／穴）。３７℃で９０分間のインキュベーション後、マイクロプレートをＰＢＳ－０．０５％Ｔｗｅｅｎで3回洗う。シグナル発現のために、ペルオキシダーゼに複合したヤギ抗ヒトＩｇＧ（γまたはＦｃ特異的）二次抗体を各々の穴に添加し、３７℃で６０分間インキュベートした後、クエン酸緩衝液プラス０．０１２％H_2O_2中０．４ｍｇ／ｍｌでＯＰＤを添加する。室温で５－１０分後、１Ｍ　$H_2SO_4$１００μｌを添加してアッセイを停止し、プレートを４９０ｎｍで読み取る。ヤギ抗ヒトＩｇＧ（γ特異的）およびヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｆｃ特異的）抗体の両方を使用した。

【０２８９】

実施例４

以下の実施例は、修飾または非修飾ＩｇＧ１またはＩｇＧ４定常領域を有するＲＸ１Ｈｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）抗体を含む、ＲＸ１由来またはＲＸ１競合抗体などのＭ－ＣＳＦ特異的抗体を用いたヒトの治療のための手順を述べる。ＭＣ１またはＭＣ３由来あるいはＭＣ１またはＭＣ３競合抗体についてもこの手順に従うことができる。

【０２９０】

ヒト血漿中で測定されるＭ－ＣＳＦレベルは約１ｎｇ／ｍｌである。Ｍ－ＣＳＦ中和抗体は、１ｎｇ／ｍｌヒトＭ－ＣＳＦに対して２ｎｇ／ｍｌと測定されるEC_{50}を有する

。従って、ヒト血漿中の有効抗体濃度はそのＥＣ$_{50}$の１０－５０，０００倍、すなわちヒト血漿中２０ｎｇ／ｍｌ－１００μｇ／ｍｌ抗体と予想される。

【０２９１】

マクロファージ関連疾患に罹患している被験体に、週に１回の割合で１０ｍｇ／ｋｇの初期用量の抗Ｍ－ＣＳＦ抗体を投与し、有害作用または臨床疾患の症状の改善の徴候を観察する。有害作用の徴候を示さない被験体に１５、２０、２５または３０ｍｇ／ｋｇの徐々に増加する用量を投与し、臨床疾患の症状の改善の徴候を観察する。

【０２９２】

実施例５

以下の実施例は、抗体ＭＣ１およびＭＣ３を作製するための手順を示す。ＭＣ１およびＭＣ３は、ヒトＭ－ＣＳＦ抗体を中和し、ヒトＭ－ＣＳＦに結合する２つのモノクローナルマウス抗体である。これらの抗体のアミノ酸配列を図９および１０にそれぞれ示す。それらは、ａ）組換えヒトＭ－ＣＳＦによるＢａｌｂ　Ｃマウスの免疫；ｂ）ＥＬＩＳＡ形式でのヒトＭ－ＣＳＦに結合する抗体を産生する陽性クローンについてのスクリーニング；ｃ）安定なハイブリドーマクローンを生成するための陽性クローンのサブクローニング；ｄ）大量の抗体を生産するための細胞培養のスケールアップ；ｅ）先の実施例で述べたような親和性分析、細胞結合および中和活性アッセイでの抗体の精製と特性決定を含む、一連の工程によって同定された。

【０２９３】

図１１Ａおよび１１Ｂは、それぞれ、抗体ＲＸ１、５Ｈ４、ＭＣ１およびＭＣ３の重および軽鎖のＣＤＲのアラインメントを示す。

【０２９４】

ヒト化およびＨｕｍａｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ（商標）バージョンは、上記実施例で述べたように作製される。

【０２９５】

実施例６

この実施例は、マウス抗Ｍ－ＣＳＦ抗体ＲＸ１および５Ｈ４、ならびにそれらのＦａｂフラグメントが異なる中和活性を有することを示す。以下の実施例はまた、抗体ＲＸ１、５Ｈ４およびＭＣ３がＭ－ＣＳＦに対して種々の親和性を有することを示す。この実施例はさらに、上記無傷抗体の親和性が上記抗体のＦａｂフラグメントに比べてより高いことを明らかにする。

【０２９６】

無傷ＲＸ１および５Ｈ４対ＲＸ１および５Ｈ４のＦａｂフラグメントの中和活性を、様々な濃度の抗体の存在下でＭ－ＣＳＦ依存性細胞増殖を測定することによって判定した。化学発光染料によって細胞増殖を測定した。図１１Ｃに示すように、無傷ＲＸ１は最も高い力価を有するが、ＲＸ１のＦａｂフラグメントはその力価を喪失し、５Ｈ４および５Ｈ４　Ｆａｂフラグメントと同様に行動する。

【０２９７】

上記抗体の結合特性を、Ｂｉａｃｏｒｅ分析を用いて分析した。Ｍ－ＣＳＦに対するＲＸ１、５Ｈ４およびＭＣ３の相対的親和性を測定するため、ウサギ抗マウスＦｃをアミンカップリングによってＣＭ５バイオセンサーチップに固定化した。次に上記抗体を、２μｌ／分で３分間、１．５μｇ／ｍｌで抗マウスＦｃ／ＣＭ５バイオセンサーチップに捕捉した。Ｍ－ＣＳＦは様々な濃度で（Ｒｍａｘ～１５）改変バイオセンサー表面上を流動した。試験抗体と抗原を０．０１Ｍ　ＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．４、０．１５Ｍ　ＮａＣｌ、３ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．００５％界面活性剤Ｐ２０（ＨＢＳ－ＥＰ）中で希釈した。すべての実験を２５℃で実施した。反応速度および親和性定数を、１：１相互作用モデル／全体的適合でＢｉａｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウエア（Ｂｉａｃｏｒｅ）を用いて決定した。以下の表８に示すように、ＲＸ１は５Ｈ４およびＭＣ３と比較して最も高い親和性でＭ－ＣＳＦに結合する。

【０２９８】

【化３９】

表 8

	Ka (M-1 Sec-1)	Kd (sec-1)	KD (nM)
RX1	1.64e6	2.7e-4	0.16
5H4	5.94e5	1.77e-3	3.0
MC3	7.04e5	1.93e-4	0.27

実施例７

以下の実施例は、Ｍ－ＣＳＦ上の線状エピトープ（すなわちアミノ酸配列）がマウス抗体ＲＸ１、５Ｈ４およびＭＣ３によって認識されたことを明らかにする。

【０２９９】

最初に、抗体ＲＸ１、５Ｈ４およびＭＣ３が線状エピトープまたはＭ－ＣＳＦ内の高次構造エピトープを認識したかどうかを測定するためにエピトープマッピング戦略を設計した。そこで、抗Ｍ－ＣＳＦ抗体を還元ならびに非還元条件下でＭ－ＣＳＦ０．１μｇに対して試験した。非還元形態のＭ－ＣＳＦだけが各々の抗体によって認識され、認識されたエピトープが実際上不連続であることを示唆した。

【０３００】

次に、Ｍ－ＣＳＦの線状エピトープを各々の抗体について測定した。詳細には、対象Ｍ－ＣＳＦフラグメント配列である、１アミノ酸補正で合成したオーバーラップ１０量体ペプチドをセルロース膜支持体に負荷したＳＰＯＴ膜（Ｓｉｇｍａ　Ｇｅｎｏｓｙｓ）を調製した。次にこれらの膜を前記抗体でプローブし、反応性ＳＰＯＴを同定した。次にペプチド配列を膜上のその対応位置によって同定し、陽性反応性ペプチド内のオーバーラップアミノ酸をエピトープとして同定した。図１２に示すように、ＲＸ１は、Ｍ－ＣＳＦ上の異なる位置にマッピングされる、５Ｈ４およびＭＣ３とは異なる線状エピトープに結合する。ＲＸ１は、図７のＭ－ＣＳＦのアミノ酸９８－１０５、ＲＦＲＤＮＴＰＮ（配列番号１２０）またはＲＦＲＤＮＴＡＮ（配列番号１２１）によって表わされる線状エピトープに結合する。５Ｈ４は、図７のＭ－ＣＳＦのアミノ酸６５－７３、ＩＴＦＥＦＶＤＱＥ（配列番号１２２）によって表わされる線状エピトープに結合する。ＭＣ３は、（１）図７のＭ－ＣＳＦのアミノ酸６５－７３、ＩＴＦＥＦＶＤＱＥ（配列番号１２２）および（２）図７のＭ－ＣＳＦのアミノ酸１３８－１４４、ＦＹＥＴＰＬＱ（配列番号１２３）によって表される２つの線状エピトープに結合する。

【０３０１】

実施例８

以下の実施例は、アテローム硬化性病変を低減する上での本発明の抗Ｍ－ＣＳＦ中和抗体の治療効果に関するインビボ試験のための手順を述べる。

【０３０２】

抗Ｍ－ＣＳＦ中和抗体、たとえばＲＸ１由来またはＲＸ１競合抗体を、高飽和脂肪酸および高コレステロール食餌を与えることによって誘発したアテローム硬化性病変を有するアカゲザル（Ｍａｃａｃａ　ｍｕｌａｔｔａ）において試験する。誘発された病変を有するマカクを、週に１回の漸増用量投与計画（０．２ｍｇ／ｋｇ－２０ｍｇ／ｋｇ）に従って６ヶ月間まで抗Ｍ－ＣＳＦ抗体で治療する。誘発病変を有する対照群のマカクには適宜の溶液を注射する。３本の主要冠状動脈および右頚動脈における病変の程度を、すべての群の動物において光学顕微鏡によって形態計測的に評価する。病変の後退をＲＸ１処置群と対照群において評価する。ＲＸ１による処置はアテローム性動脈硬化症病変の後退を有意に誘導すると予想される。

【０３０３】

実験はまた、血清脂質プロフィールを有益に変化させる薬剤（たとえばロバスタチン、シンバスタチンおよびプラバスタチン、フルバスタチン、アトルバスタチン、セリバスタチンおよびロスバスタチンなどのスタチン、エゼチミブ、フィブレート、コレスチラミンまたはコレスチポル樹脂、またはニコチン酸などのコレステロールの腸吸収を低下させる薬剤、または高度多不飽和脂肪酸またはω－３脂肪酸、たとえば魚油からのエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸を含む薬剤）、硝酸塩、β－遮断剤、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、アンギオテンシン受容体遮断剤、カルシウムチャネル拮抗物質などの抗狭心症薬、抗血小板薬、および抗凝固薬などの、アテローム硬化性病変を治療するための第二治療薬と共に投与することを含み得る。

【０３０４】

実施例９

以下の実施例は、ＡＩＤＳを治療する上での本発明の抗Ｍ－ＣＳＦ中和抗体の治療効果に関するインビボ試験のための手順を述べる。

【０３０５】

抗Ｍ－ＣＳＦ中和抗体を、ヒト免疫不全ウイルス１型（ＨＩＶ－１）からの逆転写酵素を含むサル免疫不全ウイルスのキメラ（ＲＴ－ＳＨＩＶ）に感染させたアカゲザルのＡＩＤＳモデルにおいて試験する。ＲＴ－ＳＨＩＶ感染マカクを、週に１回の漸増用量投与計画（０．２ｍｇ／ｋｇ－２０ｍｇ／ｋｇ）で６ヶ月までＲＸ１によって治療する。ＲＴ－ＳＨＩＶ感染マカクの対照群には適宜の溶液を注射する。４週間後にすべての動物における血漿ウイルスＲＮＡレベルを低減に関して検査し、１０週間まで追跡する。治療期間全体を通じてウイルス負荷を追跡する。血漿ウイルスＲＮＡおよびウイルス負荷の両方を治療停止後も追跡する。治療後のＲＴ－ＳＨＩＶ単離物を、治療に対する耐性に関連する突然変異に関して検査する。抗Ｍ－ＣＳＦ抗体による治療は、血漿ウイルスＲＮＡレベルおよびウイルス負荷の低減を通してＨＩＶ感染をブロックすると予想される。

【０３０６】

実験は、たとえば第二抗Ｍ－ＣＳＦ抗体、またはその全体が参照によりここに組み込まれる、Ｂａｒｂａｒｏ　Ｇら、Ｃｕｒｒ　Ｐｈａｒｍ　Ｄｅｓ．；１１（１４）：１８０５－４３（２００５）に述べられている高活性抗レトロウイルス療法（ＨＡＡＲＴ）において使用される薬剤を含む、ＨＩＶのための第二治療薬と共に投与することを含み得る。

【０３０７】

実施例１０

以下の実験は、ＨＩＶ－１の拡大を阻止する本発明の抗Ｍ－ＣＳＦ抗体の能力を測定するための手順を述べる。

【０３０８】

（１）単球の単離と培養

ＨＩＶ－１セロネガティブ供血者の白血球搬出およびその後の密度勾配遠心分離後の血液からＰＢＭＣを単離する；単球を向流遠心細胞水簸によって精製する（Ｇｒｕｂｅｒ，Ｍ．Ｆ．ら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５４：５５２８（１９９５）；Ｇｅｒｒａｒｄ，Ｔ．Ｌ．ら、Ｃｅｌｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．８２：３９４（１９８３））。水簸した単球の生存能力をトリパンブルー排除法によって測定し、ＣＤ１４の存在を代表的試料のフローサイトメトリー（ＦＡＣＳ）分析によって測定する。ＭＤＭを生成するため、単球を、１０％プールヒト血清、２ｍＭ　Ｌ－グルタミン酸（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）、１ｍＭピルビン酸ナトリウム（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）およびペニシリン（５０Ｕ／ｍｌ）／ストレプトマイシン（５０μｇ／ｍｌ）（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を含むＤＭＥＭ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）完全培地を用いて６穴組織培養プレート（Ｃｏｓｔａｒ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，ＭＡ）において５％CO_2中３７℃にて、４×１０^6／２ｍｌの濃度で、８日間培養中で分化させる。ＭＤＭの単離および培養に使用するすべての試薬を内毒素に関して試験する。

【０３０９】

（２）単球由来マクロファージのウイルス感染

ＭＤＭを削り取ることによって採集し、５００，０００細胞／ｍｌ、１．５ｍｌ／穴の濃度で２４穴組織培養プレート（Ｎｕｎｃ，Ｎａｐｅｒｖｉｌｌｅ，ＩＬ）に接種する。２４－４８時間後、ＭＤＭをＨＩＶ－１に感染させる（Ｇｒｕｂｅｒ，Ｍ．Ｆ．ら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５４：５５２８（１９９５））。その後3日ごとに、培地の８０％を収集し、－８０°で保存して、その後置き換える。一部の実験では、ウイルス吸着後にＡＺＴ（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）を１μＭの濃度で添加し、３日ごとに補充する。また別の実験では、ウイルス吸着後に抗Ｍ－ＣＳＦ抗体を添加し、３日ごとに補充する。添加する抗Ｍ－ＣＳＦの濃度は、１００ｎｇ／ｍｌのＭ－ＣＳＦの生物活性を中和するのに十分であるべきである。ＨＩＶ－１に感染したＭＤＭ培養を、上述したように、一般にＤＭＥＭ完全培地に維持する。場合により実験は逆転写酵素阻害剤またはプロテアーゼ阻害剤などの第二抗ＨＩＶ治療薬の添加を含み得る。

【０３１０】

逆転写酵素（ＲＴ）アッセイは、ＨＩＶ－１に感染したＭＤＭにおける感染の進行を測定するために使用される。使用するＲＴアッセイは、Ｈｏｆｆｍａｎ（Ｈｏｆｆｍａｎ，Ａ．Ｄ．，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ　１４７：３２６（１９８５））によって記述された方法の^{3}Ｈに基づく修正法である。簡単に述べると、採集した培養上清６０μｌをＴｒｉｓ緩衝液（ｐＨ７．８）／０．０５％Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００　６０μｌｐＩで希釈する。複製の５０μｌ試料を、次に、９６穴Ｕ底マイクロタイタープレート（Ｆａｌｃｏｎ　３９１０）中のポリ（ｒＡ）（Ｐｈａｒｍａｃｉａ　ＬＫＢ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）、オリゴ（ｄＴ）（Ｐｈａｒｍａｃｉａ　ＬＫＢ）、ＭｇＣｌおよび^{3}Ｈ標識ｄＴＴＰ（ＮＥＮ，Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ）を含む溶液１００μｌに添加し、３７℃で２時間インキュベートする。インキュベーション後、１０％ＴＣＡを含む溶液１００μｌを各々の穴に添加する。５％ＴＣＡ／５％ピロリン酸ナトリウムおよび７０％エタノールを含む２つの液体貯蔵容器に接続したセルハーベスター（Ｓｋａｔｒｏｎ）を使用して個々の穴をガラス繊維フィルター（Ｗａｌｌａｃ）に移し、順に通過させる。最後に、フィルターをβシンチレーションカウンター（βプレートリーダー、Ｐｈａｒｍａｃｉａ　ＬＫＢ）で計数する。このようにして、Ｍ－ＣＳＦに結合して、Ｍ－ＣＳＦがその受容体と相互作用するのを妨げる、抗体ＲＸ１などのＭ－ＣＳＦ拮抗物質の封入体を、ＨＩＶ－１複製を阻害するその能力に関して分析する。

【０３１１】

本明細書において言及するおよび／または出願データシートに列挙するすべての上記米国特許、米国特許出願公開、米国特許出願、外国特許、外国特許出願および非特許出版物は、それらの全体が参照によりここに組み込まれる。

【０３１２】

本発明の特定実施形態を説明のためにここで述べたが、本発明の精神と範囲から逸脱することなく様々な修正を施し得ることが上記から認識される。

【表１】

SEQUENCE LISTING

<110> Novartis, et al.

<120> USES OF ANTIBODY TO M-CSF

<130> 28094.0003

<140>
<141>

<150>
<151>

<150>
<151>

<160> 137

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 1401
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 1
atgggttggt cctgtatcat cctattcctg gtggccactg ccacaggtgt gcactccgac 60

gtgcagcttc aggagtcagg acctggcctc gtgaaacctt ctcagagtct gtccctcacc 120

tgtactgtca ctgactactc catcaccagt gattacgcct ggaactggat acggcaattc 180

ccagggaata aacttgagtg gatggggtac ataagctaca gtggtagcac ttcctacaat 240

ccatctctca aaagtcggat ctccatcact cgagacacat ccaagaacca gttcttcctg 300

cagctgaact ctgtgactac tgaggacaca gccacatatt actgtgcatc cttcgactat 360

gcccacgcca tggattactg gggccaaggg acttcggtca ctgtctcttc cgccaaaaca 420

acagccccat cggtctatcc actggccccc gtgtgtggag atacaactgg ctcctcggtg 480

actctaggat gcctggtcaa gggttatttc cctgagccag tgaccttgac ctggaactct 540

ggatccctgt ccagtggtgt gcacaccttc ccagctgtcc tgcagtctga cctctacacc 600

ctcagcagct cagtgactgt aacctcgagc acctggccca gccagtccat cacctgcaat 660

gtggcccacc cggcaagcag caccaaggtg gacaagaaaa ttgagcccag agggcccaca 720

atcaagccct gtcctccatg caaatgccca gcacctaacc tcttgggtgg accatccgtc 780

ttcatcttcc ctccaaagat caaggatgta ctcatgatct ccctgagccc catagtcaca 840

tgtgtggtgg tggatgtgag cgaggatgac ccagatgtcc agatcagctg gtttgtgaac 900

aacgtggaag tacacacagc tcagacacaa acccatagag aggattacaa cagtactctc 960

cgggtggtca gtgccctccc catccagcac caggactgga tgagtggcaa ggagttcaaa 1020

tgcaaggtca acaacaaaga cctcccagcg cccatcgaga gaaccatctc aaaacccaaa 1080

【表２】

gggtcagtaa gagctccaca ggtatatgtc ttgcctccac cagaagaaga gatgactaag 1140

aaacaggtca ctctgacctg catggtcaca gacttcatgc ctgaagacat ttacgtggag 1200

tggaccaaca acgggaaaac agagctaaac tacaagaaca ctgaaccagt cctggactct 1260

gatggttctt acttcatgta cagcaagctg agagtggaaa agaagaactg ggtggaaaga 1320

aatagctact cctgttcagt ggtccacgag ggtctgcaca atcaccacac gactaagagc 1380

ttctcccgga ctccgggtaa a 1401

<210> 2
<211> 447
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 2

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

【表３】

Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr
180 185 190

Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
245 250 255

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
260 265 270

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
275 280 285

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
290 295 300

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
340 345 350

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
355 360 365

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
370 375 380

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
405 410 415

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
420 425 430

【表４】

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
435 440 445

<210> 3
<211> 702
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 3
atggtatcca cacctcagtt ccttgtattt ttgcttttct ggattccagc ctccagaggt 60
gacatcttgc tgactcagtc tccagccatc ctgtctgtga gtccaggaga aagagtcagt 120
ttctcctgca gggccagtca gagcattggc acaagcatac actggtatca gcaaagaaca 180
aatggttctc caaggcttct cataaagtat gcttctgagt ctatctctgg gatcccttcc 240
aggtttagtg gcagtggatc agggacagat tttactctta gcatcaacag tgtggagtct 300
gaagatattg cagattatta ctgtcaacaa attaatagct ggccaaccac gttcggcggg 360
gggacaaagt tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 420
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 480
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 540
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 600
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 660
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gt 702

<210> 4
<211> 214
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 4
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr

【表５】

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 5
<211> 109
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 5

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr

【表６】

85 90 95

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

<210> 6
<211> 118
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 6

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 7
<211> 256
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 7

Met Thr Ala Pro Gly Ala Ala Gly Arg Cys Pro Pro Thr Thr Trp Leu
1 5 10 15

Gly Ser Leu Leu Leu Leu Val Cys Leu Leu Ala Ser Arg Ser Ile Thr
20 25 30

Glu Glu Val Ser Glu Tyr Cys Ser His Met Ile Gly Ser Gly His Leu
35 40 45

【表７】

```
Gln Ser Leu Gln Arg Leu Ile Asp Ser Gln Met Glu Thr Ser Cys Gln
 50                  55                  60

Ile Thr Phe Glu Phe Val Asp Gln Glu Gln Leu Lys Asp Pro Val Cys
65                  70                  75                  80

Tyr Leu Lys Lys Ala Phe Leu Leu Val Gln Asp Ile Met Glu Asp Thr
                85                  90                  95

Met Arg Phe Arg Asp Asn Thr Pro Asn Ala Ile Ala Ile Val Gln Leu
            100                 105                 110

Gln Glu Leu Ser Leu Arg Leu Lys Ser Cys Phe Thr Lys Asp Tyr Glu
        115                 120                 125

Glu His Asp Lys Ala Cys Val Arg Thr Phe Tyr Glu Thr Pro Leu Gln
    130                 135                 140

Leu Leu Glu Lys Val Lys Asn Val Phe Asn Glu Thr Lys Asn Leu Leu
145                 150                 155                 160

Asp Lys Asp Trp Asn Ile Phe Ser Lys Asn Cys Asn Asn Ser Phe Ala
                165                 170                 175

Glu Cys Ser Ser Gln Gly His Glu Arg Gln Ser Glu Gly Ser Ser Ser
            180                 185                 190

Pro Gln Leu Gln Glu Ser Val Phe His Leu Leu Val Pro Ser Val Ile
        195                 200                 205

Leu Val Leu Leu Ala Val Gly Gly Leu Leu Phe Tyr Arg Trp Arg Arg
    210                 215                 220

Arg Ser His Gln Glu Pro Gln Arg Ala Asp Ser Pro Leu Glu Gln Pro
225                 230                 235                 240

Glu Gly Ser Pro Leu Thr Gln Asp Asp Arg Gln Val Glu Leu Pro Val
                245                 250                 255
```

<210> 8
<211> 554
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 8

```
Met Thr Ala Pro Gly Ala Ala Gly Arg Cys Pro Pro Thr Thr Trp Leu
1               5                   10                  15
```

【表８】

```
Gly Ser Leu Leu Leu Leu Val Cys Leu Leu Ala Ser Arg Ser Ile Thr
            20                  25                  30

Glu Glu Val Ser Glu Tyr Cys Ser His Met Ile Gly Ser Gly His Leu
        35                  40                  45

Gln Ser Leu Gln Arg Leu Ile Asp Ser Gln Met Glu Thr Ser Cys Gln
    50                  55                  60

Ile Thr Phe Glu Phe Val Asp Gln Glu Gln Leu Lys Asp Pro Val Cys
65                  70                  75                  80

Tyr Leu Lys Lys Ala Phe Leu Leu Val Gln Asp Ile Met Glu Asp Thr
                85                  90                  95

Met Arg Phe Arg Asp Asn Thr Pro Asn Ala Ile Ala Ile Val Gln Leu
            100                 105                 110

Gln Glu Leu Ser Leu Arg Leu Lys Ser Cys Phe Thr Lys Asp Tyr Glu
        115                 120                 125

Glu His Asp Lys Ala Cys Val Arg Thr Phe Tyr Glu Thr Pro Leu Gln
    130                 135                 140

Leu Leu Glu Lys Val Lys Asn Val Phe Asn Glu Thr Lys Asn Leu Leu
145                 150                 155                 160

Asp Lys Asp Trp Asn Ile Phe Ser Lys Asn Cys Asn Asn Ser Phe Ala
                165                 170                 175

Glu Cys Ser Ser Gln Asp Val Val Thr Lys Pro Asp Cys Asn Cys Leu
            180                 185                 190

Tyr Pro Lys Ala Ile Pro Ser Ser Asp Pro Ala Ser Val Ser Pro His
        195                 200                 205

Gln Pro Leu Ala Pro Ser Met Ala Pro Val Ala Gly Leu Thr Trp Glu
    210                 215                 220

Asp Ser Glu Gly Thr Glu Gly Ser Ser Leu Leu Pro Gly Glu Gln Pro
225                 230                 235                 240

Leu His Thr Val Asp Pro Gly Ser Ala Lys Gln Arg Pro Pro Arg Ser
                245                 250                 255

Thr Cys Gln Ser Phe Glu Pro Pro Glu Thr Pro Val Val Lys Asp Ser
            260                 265                 270
```

【表９】

Thr Ile Gly Gly Ser Pro Gln Pro Arg Pro Ser Val Gly Ala Phe Asn
275 280 285

Pro Gly Met Glu Asp Ile Leu Asp Ser Ala Met Gly Thr Asn Trp Val
290 295 300

Pro Glu Glu Ala Ser Gly Glu Ala Ser Glu Ile Pro Val Pro Gln Gly
305 310 315 320

Thr Glu Leu Ser Pro Ser Arg Pro Gly Gly Gly Ser Met Gln Thr Glu
325 330 335

Pro Ala Arg Pro Ser Asn Phe Leu Ser Ala Ser Ser Pro Leu Pro Ala
340 345 350

Ser Ala Lys Gly Gln Gln Pro Ala Asp Val Thr Gly Thr Ala Leu Pro
355 360 365

Arg Val Gly Pro Val Arg Pro Thr Gly Gln Asp Trp Asn His Thr Pro
370 375 380

Gln Lys Thr Asp His Pro Ser Ala Leu Leu Arg Asp Pro Pro Glu Pro
385 390 395 400

Gly Ser Pro Arg Ile Ser Ser Leu Arg Pro Gln Gly Leu Ser Asn Pro
405 410 415

Ser Thr Leu Ser Ala Gln Pro Gln Leu Ser Arg Ser His Ser Ser Gly
420 425 430

Ser Val Leu Pro Leu Gly Glu Leu Glu Gly Arg Arg Ser Thr Arg Asp
435 440 445

Arg Arg Ser Pro Ala Glu Pro Glu Gly Gly Pro Ala Ser Glu Gly Ala
450 455 460

Ala Arg Pro Leu Pro Arg Phe Asn Ser Val Pro Leu Thr Asp Thr Gly
465 470 475 480

His Glu Arg Gln Ser Glu Gly Ser Ser Ser Pro Gln Leu Gln Glu Ser
485 490 495

Val Phe His Leu Leu Val Pro Ser Val Ile Leu Val Leu Leu Ala Val
500 505 510

Gly Gly Leu Leu Phe Tyr Arg Trp Arg Arg Arg Ser His Gln Glu Pro
515 520 525

【表１０】

```
Gln Arg Ala Asp Ser Pro Leu Glu Gln Pro Glu Gly Ser Pro Leu Thr
    530                 535                 540

Gln Asp Asp Arg Gln Val Glu Leu Pro Val
545                 550
```

<210> 9
<211> 438
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 9

```
Met Thr Ala Pro Gly Ala Ala Gly Arg Cys Pro Pro Thr Thr Trp Leu
1               5                   10                  15

Gly Ser Leu Leu Leu Leu Val Cys Leu Leu Ala Ser Arg Ser Ile Thr
            20                  25                  30

Glu Glu Val Ser Glu Tyr Cys Ser His Met Ile Gly Ser Gly His Leu
        35                  40                  45

Gln Ser Leu Gln Arg Leu Ile Asp Ser Gln Met Glu Thr Ser Cys Gln
    50                  55                  60

Ile Thr Phe Glu Phe Val Asp Gln Glu Gln Leu Lys Asp Pro Val Cys
65                  70                  75                  80

Tyr Leu Lys Lys Ala Phe Leu Leu Val Gln Asp Ile Met Glu Asp Thr
                85                  90                  95

Met Arg Phe Arg Asp Asn Thr Pro Asn Ala Ile Ala Ile Val Gln Leu
            100                 105                 110

Gln Glu Leu Ser Leu Arg Leu Lys Ser Cys Phe Thr Lys Asp Tyr Glu
        115                 120                 125

Glu His Asp Lys Ala Cys Val Arg Thr Phe Tyr Glu Thr Pro Leu Gln
    130                 135                 140

Leu Leu Glu Lys Val Lys Asn Val Phe Asn Glu Thr Lys Asn Leu Leu
145                 150                 155                 160

Asp Lys Asp Trp Asn Ile Phe Ser Lys Asn Cys Asn Asn Ser Phe Ala
                165                 170                 175

Glu Cys Ser Ser Gln Asp Val Val Thr Lys Pro Asp Cys Asn Cys Leu
            180                 185                 190
```

【表１１】

Tyr Pro Lys Ala Ile Pro Ser Ser Asp Pro Ala Ser Val Ser Pro His
195 200 205

Gln Pro Leu Ala Pro Ser Met Ala Pro Val Ala Gly Leu Thr Trp Glu
210 215 220

Asp Ser Glu Gly Thr Glu Gly Ser Ser Leu Leu Pro Gly Glu Gln Pro
225 230 235 240

Leu His Thr Val Asp Pro Gly Ser Ala Lys Gln Arg Pro Pro Arg Ser
245 250 255

Thr Cys Gln Ser Phe Glu Pro Pro Glu Thr Pro Val Val Lys Asp Ser
260 265 270

Thr Ile Gly Gly Ser Pro Gln Pro Arg Pro Ser Val Gly Ala Phe Asn
275 280 285

Pro Gly Met Glu Asp Ile Leu Asp Ser Ala Met Gly Thr Asn Trp Val
290 295 300

Pro Glu Glu Ala Ser Gly Glu Ala Ser Glu Ile Pro Val Pro Gln Gly
305 310 315 320

Thr Glu Leu Ser Pro Ser Arg Pro Gly Gly Gly Ser Met Gln Thr Glu
325 330 335

Pro Ala Arg Pro Ser Asn Phe Leu Ser Ala Ser Ser Pro Leu Pro Ala
340 345 350

Ser Ala Lys Gly Gln Gln Pro Ala Asp Val Thr Gly His Glu Arg Gln
355 360 365

Ser Glu Gly Ser Ser Ser Pro Gln Leu Gln Glu Ser Val Phe His Leu
370 375 380

Leu Val Pro Ser Val Ile Leu Val Leu Leu Ala Val Gly Gly Leu Leu
385 390 395 400

Phe Tyr Arg Trp Arg Arg Arg Ser His Gln Glu Pro Gln Arg Ala Asp
405 410 415

Ser Pro Leu Glu Gln Pro Glu Gly Ser Pro Leu Thr Gln Asp Asp Arg
420 425 430

Gln Val Glu Leu Pro Val
435

【表１２】

<210> 10
<211> 441
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 10

Glu Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Thr Gly Thr
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Phe Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Cys Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Phe Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Gly Gly Asn Tyr Pro Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp
180 185 190

Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys
210 215 220

【表１３】

```
Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
225                 230                 235                 240

Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val
                245                 250                 255

Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe
            260                 265                 270

Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu
        275                 280                 285

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His
    290                 295                 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala
305                 310                 315                 320

Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg
                325                 330                 335

Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met
            340                 345                 350

Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro
        355                 360                 365

Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn
    370                 375                 380

Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val
385                 390                 395                 400

Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr
                405                 410                 415

Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu
            420                 425                 430

Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
        435                 440
```

<210> 11
<211> 214
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 11

【表１４】

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
            20                  25                  30

Val Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

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

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

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
    130                 135                 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145                 150                 155                 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
            180                 185                 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
    210
```

<210> 12
<211> 449
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 12

【表１５】

```
Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Tyr Ile Ser Asn Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Ser Arg Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gln Gly Ser Tyr Gly Tyr Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser
            180                 185                 190

Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
        195                 200                 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255
```

【表１６】

```
Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp
            260                 265                 270

Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
        275                 280                 285

Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr
    370                 375                 380

Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys
                405                 410                 415

Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu
            420                 425                 430

Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
        435                 440                 445

Lys
```

<210> 13
<211> 214
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 13

```
Ala Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1               5                   10                  15
```

【表１７】

```
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
    130                 135                 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145                 150                 155                 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
            180                 185                 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
    210
```

<210> 14
<211> 522
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 14

```
Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1               5                   10                  15
```

【表１８】

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

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

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

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Leu Glu Thr Trp Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
            100                 105                 110

Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu
        115                 120                 125

Ala Pro Gly Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Ser Val Thr Val Thr Trp Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gly Ser Leu Ser Ser Ser Val His Thr Phe Pro Ala Leu Leu Gln Ser
                165                 170                 175

Gly Leu Tyr Thr Met Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp
            180                 185                 190

Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr
        195                 200                 205

Thr Val Asp Lys Lys Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn
    210                 215                 220

Pro Cys Pro Pro Cys Lys Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu
225                 230                 235                 240

Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp Val
                245                 250                 255

Leu Met Ile Ser Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
            260                 265                 270
```

【表１９】

```
Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val
        275                 280                 285

Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser
    290                 295                 300

Thr Ile Arg Val Val Ser Thr Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met
305                 310                 315                 320

Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ser
                325                 330                 335

Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala Pro
            340                 345                 350

Gln Val Tyr Ile Leu Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp
        355                 360                 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser
    370                 375                 380

Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr
385                 390                 395                 400

Ala Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu
                405                 410                 415

Asn Met Lys Thr Ser Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn
            420                 425                 430

Val Arg His Glu Gly Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile Ser
        435                 440                 445

Arg Ser Pro Gly Leu Asp Leu Asp Asp Ile Cys Ala Glu Ala Lys Asp
    450                 455                 460

Gly Glu Leu Asp Gly Leu Trp Thr Thr Ile Thr Ile Phe Ile Ser Leu
465                 470                 475                 480

Phe Leu Leu Ser Val Cys Tyr Ser Ala Ser Val Thr Leu Phe Lys Val
                485                 490                 495

Lys Trp Ile Phe Ser Ser Val Val Glu Leu Lys Gln Lys Ile Ser Pro
            500                 505                 510

Asp Tyr Arg Asn Met Ile Gly Gln Gly Ala
        515                 520
```

【表２０】

<210> 15
<211> 214
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 15

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Thr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Trp Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

【表２１】

<210> 16
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Gly Tyr Phe Met His
1 5

<210> 17
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17

Asp Tyr Tyr Met Tyr
1 5

<210> 18
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Ser Asp Tyr Ala Trp Asn
1 5

<210> 19
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

Tyr Ile Ser Cys Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 20
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 20

Tyr Ile Ser Asn Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys
1 5 10 15

Gly

【表２２】

<210> 21
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21

Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

Glu Gly Gly Asn Tyr Pro Ala Tyr
1 5

<210> 23
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

Gln Gly Ser Tyr Gly Tyr Pro Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24

Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 25
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25

Leu Glu Thr Trp Leu Phe Asp Tyr
1 5

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

Asp Tyr Gly Trp Phe Asp Tyr

【表２３】

1 5

<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Thr
1 5 10

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 29
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser Ile His
1 5 10

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

Trp Thr Ser Thr Arg His Ala
1 5

<210> 31
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31

Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser
1 5

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

【表２４】

<400> 32

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
1 5

<210> 33
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Tyr Thr Ser Glu Ser Ile Ser
1 5

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr Thr
1 5

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Thr Thr
1 5

<210> 38
<211> 9

【表２５】

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Gln Gln Tyr Ser Ser Trp Pro Thr Thr
1 5

<210> 39
<211> 130
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (27)..(27)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (29)..(29)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(36)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (51)..(51)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (56)..(57)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (59)..(59)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (61)..(61)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (84)..(84)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (86)..(86)

【表２６】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (101)..(116)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (119)..(119)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (125)..(125)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 39

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Xaa Val Ser Gly Xaa Ser Xaa Ser Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Xaa Tyr Tyr Arg Ala Xaa Xaa Gly Xaa Thr Xaa Tyr Asn Pro
50 55 60

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

Phe Ser Leu Xaa Leu Xaa Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
100 105 110

Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Xaa Val Thr Val
115 120 125

Ser Ser
130

<210> 40
<211> 354
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 40
gacgtacaac ttcaagaatc tggcccaggt ctcgtcaaac cttctcaaac tctctcactc 60

【表２７】

acctgcactg ttactgacta ctctattaca tccgactacg cttggaactg gatccgacaa 120

tttcctggta aaaaactcga atggatgggt tatatttctt actctggctc cacctcctac 180

aatccttctc tgaaatcacg catcacaatt tcccgcgata cctctaaaaa tcaattttca 240

ctccaactca attctgttac cgccgccgat actgccacct actactgtgc ctcttttgac 300

tacgctcacg ccatggatta ttggggacag ggtactaccg ttaccgtaag ctca 354

<210> 41
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 41

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 42
<211> 354
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 42
caagttcaac ttcaagaatc aggccccgga ctcgttaaac cctctcaaac tctctctctt 60

acttgcactg tatccgatta ctctattact tcagactacg cttggaactg gatcagacaa 120

tttcccggaa aaggactcga atggatggga tatatctctt actctggctc aacctcttac 180

aacccctctc tcaaatctcg aataacaatc tcacgcgata cttctaaaaa tcaattctca 240

【表２８】

cttcaactta actccgttac tgccgccgac actgccgttt actactgtgc ttccttcgat 300

tacgcccacg ctatggatta ttggggacaa ggaactaccg tcactgtcag ctca 354

<210> 43
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 43

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 44
<211> 327
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 44
gaaatagttc ttactcaatc ccccggtaca ctctcagttt ccccaggcga acgcgtcact 60

ttttcttgca gagcatcaca atcaatcggc acttcaattc attggtatca acaaaaaaca 120

ggacaggccc cacgacttct tattaaatat gcatcagaac gagccacagg catcccagac 180

agattttcag gttcaggatc aggcaccgat ttcacactta caatatccag agtcgaatca 240

gaagattttg cagattacta ttgtcaacaa ataaacagct ggcccactac attcggacaa 300

ggcacaaaac tcgaaattaa acgtacg 327

【表２９】

<210> 45
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 45

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Arg Ile Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
85 90 95

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

<210> 46
<211> 327
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 46
gaaatagttc ttactcaatc ccccggtaca ctctcagttt ccccaggcga acgcgtcact 60

ttttcttgca gagcatcaca atcaatcggc acttcaattc attggtatca acaaaaaaca 120

ggacaggccc cacgacttct tattaaatat gcatcagaac gagccacagg catcccagac 180

agattttcag gttcaggatc aggcaccgat ttcacactta caatatccag agtcgaatca 240

gaagattttg cagattacta ttgtcaacaa ataaacagct ggcccactac attcggacaa 300

ggcacaaaac tcgaaattaa acgtacg 327

<210> 47
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 47

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

【表３０】

```
Glu Arg Val Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
            20                  25                  30

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

Lys Tyr Ala Ser Glu Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ser
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
            100                 105
```

<210> 48
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 48

```
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
            20                  25                  30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ser
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
            100                 105
```

<210> 49
<211> 111
<212> PRT

【表３１】

<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (98)..(98)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 49

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

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

Pro Xaa Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

<210> 50
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 50

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Gly Ile Gly Asn Tyr
20 25 30

Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Lys Leu Leu Ile Lys
35 40 45

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

【表３２】

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Lys His Pro Leu Thr
85 90 95

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

<210> 51
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> Low Risk Light Chain vs. VK6 Subgroup 2-1-(1) A14:

<400> 51

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Phe Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Asp Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
85 90 95

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

<210> 52
<211> 327
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 52
gacatagttc tcacacaatc accagcattc ctctcagtta cacccggcga aaaagtaacc 60

tttacctgtc aggcttctca atctatcggc acttctattc actggtatca acaaaaaacc 120

gatcaagctc ctaaactcct cataaaatac gcatccgaat ccatctccgg tatcccctcc 180

agattttcag gctccggctc cggcacagat ttcacccttа ccattagctc agttgaagcc 240

gaagacgcag ctgattacta ctgtcaacaa ataaactcat ggcccactac tttcggcggc 300

【表３３】

ggcactaaac tcgaaataaa acgtacg . 327

<210> 53
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Phe Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Phe Thr Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

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

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
85 90 95

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

<210> 54
<211> 99
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65 70 75 80

【表３４】

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
85 90 95

Thr Phe Gly

<210> 55
<211> 95
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 55

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

<210> 56
<211> 101
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 56

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60

【表３５】

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
65 70 75 80

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro
100

<210> 57
<211> 96
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 57

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

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

<210> 58
<211> 101
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 58

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

【表３６】

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ser Thr Pro
100

<210> 59
<211> 95
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 59

Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ala Phe Met Ser Ala Thr Pro Gly
1 5 10 15

Asp Lys Val Asn Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Asp
20 25 30

Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu Ala Ala Ile Phe Ile Ile
35 40 45

Gln Glu Ala Thr Thr Leu Val Pro Gly Ile Pro Pro Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Ile Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Tyr Tyr Phe Cys Leu Gln His Asp Asn Phe Pro
85 90 95

<210> 60
<211> 95
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

【表３７】

```
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65                  70                  75                  80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro
                85                  90                  95

<210>  61
<211>  52
<212>  PRT
<213>  Mus musculus

<400>  61

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
            20                  25                  30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Lys Tyr Ala Ser
    50

<210>  62
<211>  57
<212>  PRT
<213>  Homo sapiens

<220>
<221>  misc_feature
<222>  (31)..(33)
<223>  Xaa= any amino acid

<220>
<221>  misc_feature
<222>  (36)..(37)
<223>  Xaa= any amino acid

<220>
<221>  misc_feature
<222>  (39)..(39)
<223>  Xaa= any amino acid

<220>
<221>  misc_feature
<222>  (55)..(55)
<223>  Xaa= any amino acid

<400>  62
```

【表３８】

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Val Xaa Xaa
            20                  25                  30

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

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Xaa Ala Ser
    50                  55
```

<210> 63
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (33)..(33)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (36)..(37)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (56)..(57)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 63

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
            20                  25                  30

Xaa Asp Gly Xaa Xaa Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
        35                  40                  45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Xaa Xaa Ser
    50                  55
```

<210> 64
<211> 53
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 64

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
```

【表３９】

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser
50

<210> 65
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 65

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser
50 55

<210> 66
<211> 52
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 66

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

Tyr Ala Ala Ser
50

<210> 67
<211> 58

【表４０】

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 67

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser
50 55

<210> 68
<211> 53
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 68

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser
50

<210> 69
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 69

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

【表４１】

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser
50 55

<210> 70
<211> 52
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 70

Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ala Phe Met Ser Ala Thr Pro Gly
1 5 10 15

Asp Lys Val Asn Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Asp
20 25 30

Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu Ala Ala Ile Phe Ile Ile
35 40 45

Gln Glu Ala Thr
50

<210> 71
<211> 52
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 71

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser
50

<210> 72
<211> 57
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 72

Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala
20 25 30

【表４２】

Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr Thr Phe Gly Gly
35 40 45

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala
50 55

<210> 73
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (39)..(42)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (45)..(45)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 73

Xaa Leu Xaa Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
20 25 30

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Glu Xaa Thr Phe Gly
35 40 45

Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
50 55

<210> 74
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

【表４３】

<220>
<221> misc_feature
<222> (40)..(40)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (42)..(42)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (45)..(45)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 74

Asn Arg Xaa Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly
20 25 30

Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Xaa Gln Xaa Pro Arg Xaa Thr Phe Gly
35 40 45

Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
50 55

<210> 75
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (45)..(45)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 75

Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
20 25 30

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Xaa Thr Phe Gly
35 40 45

Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
50 55

<210> 76

【表４４】

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

<220>
<221> misc_feature
<222> (44)..(44)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 76

Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala
20 25 30

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Xaa Thr Phe Gly Gln
35 40 45

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
50 55

<210> 77
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 77

Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
20 25 30

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly
35 40 45

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
50 55

<210> 78
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78

Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly

【表４５】

20 25 30

Val Tyr Tyr Cys Met Gln Arg Ile Glu Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly
35 40 45

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
50 55

<210> 79
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 79

Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
20 25 30

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly
35 40 45

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
50 55

<210> 80
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 80

Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala
20 25 30

Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly
35 40 45

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
50 55

<210> 81
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 81

【表４６】

```
Thr Leu Val Pro Gly Ile Pro Pro Arg Phe Ser Gly Ser Gly Tyr Gly
1               5                  10                  15

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Ile Glu Ser Glu Asp Ala Ala
            20                  25                  30

Tyr Tyr Phe Cys Leu Gln His Asp Asn Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly
        35                  40                  45

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
    50                  55
```

<210> 82
<211> 57
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 82

```
Gln Ser Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1               5                  10                  15

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala Glu Asp Ala Ala
            20                  25                  30

Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Ser Ser Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly
        35                  40                  45

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
    50                  55
```

<210> 83
<211> 101
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 83

```
Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1               5                  10                  15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
            20                  25                  30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
```

【表４７】

65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe Asp Tyr
100

<210> 84
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 84

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

<210> 85
<211> 100
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85

Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

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

【表４８】

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

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

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

Cys Ala His Arg
            100


<210>  86
<211>  98
<212>  PRT
<213>  Homo sapiens

<400>  86

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15

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

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg


<210>  87
<211>  98
<212>  PRT
<213>  Homo sapiens

<400>  87

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1               5                   10                  15
```

【表４９】

```
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
            20                  25                  30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60

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

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg
```

<210> 88
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 88

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1               5                   10                  15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg
```

<210> 89
<211> 101
<212> PRT
<213> Homo sapiens

【表５０】

<400> 89

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60

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

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg
100

<210> 90
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 90

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe
50 55 60

Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Cys Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

【表５１】

<210> 91
<211> 58
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 91

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr
50 55

<210> 92
<211> 59
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (30)..(30)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (33)..(33)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (35)..(35)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (50)..(50)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (52)..(52)

【表５２】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (55)..(56)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (58)..(58)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 92

Xaa Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Xaa
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Xaa Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Xaa Ile Xaa Pro Tyr Xaa Xaa Gly Xaa Thr
50 55

<210> 93
<211> 62
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (27)..(27)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (29)..(29)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (32)..(37)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (52)..(52)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature

【表５３】

<222> (58)..(59)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (61)..(61)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 93

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Xaa Val Ser Gly Xaa Ser Xaa Ser Ser Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Xaa Ile Tyr Tyr Arg Ala Xaa Xaa Gly Xaa Thr
50 55 60

<210> 94
<211> 60
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(31)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (33)..(33)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (35)..(35)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (49)..(50)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (52)..(53)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (55)..(56)
<223> Xaa= any amino acid

<220>

【表５４】

<221> misc_feature
<222> (58)..(59)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 94

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr
20 25 30

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

Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Thr
50 55 60

<210> 95
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 95

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
50 55

<210> 96
<211> 59
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 96

Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

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

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

【表５５】

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys
50 55

<210> 97
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 97

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys
50 55

<210> 98
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 98

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Asn Trp Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Glu Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr
50 55

<210> 99
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 99

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

【表５６】

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr
    50                  55
```

<210> 100
<211> 61
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 100

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1               5                   10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
            20                  25                  30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
        35                  40                  45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn
    50                  55                  60
```

<210> 101
<211> 58
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 101

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Thr Gly Asn Pro
    50                  55
```

<210> 102
<211> 60
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 102

```
Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr
```

【表５７】

1 5 10 15

Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp
20 25 30

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp
35 40 45

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
50 55 60

<210> 103
<211> 70
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(14)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(31)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(53)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (55)..(56)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (59)..(59)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 103

Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Xaa Asp Xaa
1 5 10 15

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Xaa Asp
20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

【表５８】

```
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Phe Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr
    50                  55                  60

Leu Val Thr Val Ser Ser
65                  70
```

<210> 104
<211> 70
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(24)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(56)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (59)..(59)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (65)..(65)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 104

```
Xaa Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr
1               5                   10                  15

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Xaa Leu Xaa Ser Val Thr Ala Ala Asp
            20                  25                  30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
        35                  40                  45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr
    50                  55                  60
```

【表５９】

Xaa Val Thr Val Ser Ser
65 70

<210> 105
<211> 70
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (40)..(52)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (55)..(56)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (59)..(59)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 105

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
1 5 10 15

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Tyr Xaa Xaa Phe Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr
50 55 60

Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70

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

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(55)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 106

Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr
1 5 10 15

【表６０】

```
Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp
            20                  25                  30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
        35                  40                  45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
    50                  55                  60

Leu Val Thr Val Ser Ser
65                  70


<210>  107
<211>  70
<212>  PRT
<213>  Homo sapiens


<220>
<221>  misc_feature
<222>  (42)..(55)
<223>  Xaa= any amino acid

<400>  107

Arg Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr
1               5                   10                  15

Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp
            20                  25                  30

Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala His Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
        35                  40                  45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
    50                  55                  60

Leu Val Thr Val Ser Ser
65                  70


<210>  108
<211>  70
<212>  PRT
<213>  Homo sapiens


<220>
<221>  misc_feature
<222>  (41)..(55)
<223>  Xaa= any amino acid

<400>  108

Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
```

【表６１】

1 5 10 15

Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
50 55 60

Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70

<210> 109
<211> 70
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(55)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 109

Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys
1 5 10 15

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
50 55 60

Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70

<210> 110
<211> 70
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(55)
<223> Xaa= any amino acid

【表６２】

<400> 110

Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys
1 5 10 15

Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp
20 25 30

Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
50 55 60

Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70

<210> 111
<211> 70
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(55)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 111

Asp Tyr Ala Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr
1 5 10 15

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp
20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
50 55 60

Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70

<210> 112
<211> 70
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature

【表６３】

<222> (41)..(55)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 112

Thr Tyr Ala Gln Gly Phe Thr Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr
1 5 10 15

Ser Val Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Cys Ser Leu Lys Ala Glu Asp
20 25 30

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
50 55 60

Leu Val Thr Val Ser Ser
65 70

<210> 113
<211> 1404
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 113
atgggatgga gttgcattat acttttcctc gttgccaccg ccactggagt tcactctgac 60

gtacaacttc aagaatctgg cccaggtctc gtcaaacctt ctcaaactct ctcactcacc 120

tgcactgtta ctgactactc tattacatcc gactacgctt ggaactggat ccgacaattt 180

cctggtaaaa aactcgaatg gatgggttat atttcttact ctggctccac ctcctacaat 240

ccttctctga aatcacgcat cacaatttcc cgcgatacct ctaaaaatca attttcactc 300

caactcaatt ctgttaccgc cgccgatact gccacctact actgtgcctc ttttgactac 360

gctcacgcca tggattattg gggacagggt actaccgtta ccgtaagctc agccagcaca 420

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 720

gacaaaactc acacatgtcc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 780

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960

【表６４】

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccccat cccgggagga gatgaccaag 1140

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260

gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380

ctctccctgt ccccgggtaa atga 1404

<210> 114
<211> 467
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 114

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Asp Tyr Ser Ile
35 40 45

Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Lys
50 55 60

Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn
65 70 75 80

Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145 150 155 160

【表６５】

```
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
                165                 170                 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
            180                 185                 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
        195                 200                 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
    210                 215                 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
225                 230                 235                 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
                245                 250                 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            260                 265                 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        275                 280                 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    290                 295                 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305                 310                 315                 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                325                 330                 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            340                 345                 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        355                 360                 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    370                 375                 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385                 390                 395                 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                405                 410                 415
```

【表６６】

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 115
<211> 1404
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 115
atgggttggt cttgcatcat tctctttctc gtcgctaccg caactggtgt acactcccaa 60

gttcaacttc aagaatcagg ccccggactc gttaaaccct ctcaaactct ctctcttact 120

tgcactgtat ccgattactc tattacttca gactacgctt ggaactggat cagacaattt 180

cccggaaaag gactcgaatg gatgggatat atctcttact ctggctcaac ctcttacaac 240

ccctctctca aatctcgaat aacaatctca cgcgatactt ctaaaaatca attctcactt 300

caacttaact ccgttactgc cgccgacact gccgtttact actgtgcttc cttcgattac 360

gcccacgcta tggattattg gggacaagga actaccgtca ctgtcagctc agccagcaca 420

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 660

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 720

gacaaaactc acacatgtcc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 780

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260

【表６７】

gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380

ctctccctgt ccccgggtaa atga 1404

<210> 116
<211> 467
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 116

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Asp Tyr Ser Ile
35 40 45

Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn
65 70 75 80

Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

【表６８】

195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

【表６９】

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 117
<211> 2002
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 117
atgggatgga gttgcattat acttttcctc gttgccaccg ccactggagt tcactctgac 60

gtacaacttc aagaatctgg cccaggtctc gtcaaacctt ctcaaactct ctcactcacc 120

tgcactgtta ctgactactc tattacatcc gactacgctt ggaactggat ccgacaattt 180

cctggtaaaa aactcgaatg gatgggttat atttcttact ctggctccac ctcctacaat 240

ccttctctga aatcacgcat cacaatttcc cgcgatacct ctaaaaatca attttcactc 300

caactcaatt ctgttaccgc cgccgatact gccacctact actgtgcctc ttttgactac 360

gctcacgcca tggattattg gggacagggt actaccgtta ccgtaagctc agccagcaca 420

aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc 660

aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttggtga gaggccagca 720

cagggaggga gggtgtctgc tggaagccag gctcagccct cctgcctgga cgcaccccgg 780

ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc atgccccatc tgtctcctca cccggaggcc 840

tctgaccacc ccactcatgc tcagggagag ggtcttctgg atttttccac caggctccgg 900

gcagccacag gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc 960

tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaagc ccaccccaaa 1020

ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc ctcccagatc tgagtaactc 1080

ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg gtcccccatg cccatcatgc ccaggtaagc 1140

caacccaggc ctcgccctcc agctcaaggc gggacaggtg ccctagagta gcctgcatcc 1200

agggacaggc cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttcctc agcacctgag 1260

ttcctggggg gaccatcagt cttcctgttc cccccaaaac ccaaggacac tctcatgatc 1320

tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc 1380

cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 1440

gagcagttca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg 1500

【表７０】

ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag 1560

aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacggggtgc gagggccaca tggacagagg 1620

tcagctcggc ccaccctctg ccctgggagt gaccgctgtg ccaacctctg tccctacagg 1680

gcagccccga gagccacagg tgtacaccct gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa 1740

ccaggtcagc ctgacctgcc tggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg 1800

ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga 1860

cggctccttc ttcctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcaggtggc aggaggggaa 1920

tgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacac agaagagcct 1980

ctccctgtct ctgggtaaat ga 2002

<210> 118
<211> 1395
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 118
atgggatgga gttgcattat acttttcctc gttgccaccg ccactggagt tcactctgac 60

gtacaacttc aagaatctgg cccaggtctc gtcaaacctt ctcaaactct ctcactcacc 120

tgcactgtta ctgactactc tattacatcc gactacgctt ggaactggat ccgacaattt 180

cctggtaaaa aactcgaatg gatgggttat atttcttact ctggctccac ctcctacaat 240

ccttctctga aatcacgcat cacaatttcc cgcgatacct ctaaaaatca attttcactc 300

caactcaatt ctgttaccgc cgccgatact gccacctact actgtgcctc ttttgactac 360

gctcacgcca tggattattg gggacagggt actaccgtta ccgtaagctc agccagcaca 420

aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 480

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 540

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 600

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc 660

aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagtc caaatatggt 720

cccccatgcc catcatgccc agcacctgag ttcctggggg gaccatcagt cttcctgttc 780

cccccaaaac ccaaggacac tctcatgatc tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg 840

gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag 900

gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta ccgtgtggtc 960

agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 1020

tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1080

cgagagccac aggtgtacac cctgccccca tcccaggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1140

【表７１】

agcctgacct gcctggtcaa aggcttctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1200

aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc 1260

ttcttcctct acagcaggct aaccgtggac aagagcaggt ggcaggaggg gaatgtcttc 1320

tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cacagaagag cctctccctg 1380

tctctgggta aatga 1395

<210> 119
<211> 464
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 119

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Asp Tyr Ser Ile
35 40 45

Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Lys
50 55 60

Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn
65 70 75 80

Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

【表７２】

180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
225 230 235 240

Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

【表７３】

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 120
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 120

Arg Phe Arg Asp Asn Thr Pro Asn
1 5

<210> 121
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 121

Arg Phe Arg Asp Asn Thr Ala Asn
1 5

<210> 122
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 122

Ile Thr Phe Glu Phe Val Asp Gln Glu
1 5

<210> 123
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 123

Phe Tyr Glu Thr Pro Leu Gln
1 5

<210> 124
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

【表７４】

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(17)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(21)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (39)..(39)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(45)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (47)..(47)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (60)..(60)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (62)..(63)

【表７５】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (65)..(67)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (69)..(69)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (71)..(71)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (73)..(78)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (80)..(80)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (82)..(82)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (84)..(85)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (87)..(89)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (91)..(91)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (93)..(93)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (110)..(110)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (113)..(113)
<223> Xaa= any amino acid

<220>

【表７６】

<221> misc_feature
<222> (115)..(115)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (117)..(118)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 124

Xaa Val Xaa Leu Xaa Glu Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Leu Xaa Leu Xaa Cys Xaa Val Xaa Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Xaa Asn Xaa Xaa Leu
50 55 60

Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Ile Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Xaa
65 70 75 80

Leu Xaa Leu Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Ala Xaa Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Xaa Gly Thr
100 105 110

Xaa Val Xaa Val Xaa Xaa
115

<210> 125
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa= any amino acid

【表７７】

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(11)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(17)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(21)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(41)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (43)..(44)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (66)..(66)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (69)..(69)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (71)..(71)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (73)..(73)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (75)..(76)

【表７８】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (78)..(78)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (80)..(80)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (82)..(82)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (84)..(85)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (87)..(89)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (91)..(91)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (110)..(110)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (113)..(113)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (115)..(115)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (117)..(118)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 125

Asp Val Xaa Leu Xaa Glu Xaa Gly Pro Xaa Xaa Val Xaa Pro Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Leu Xaa Leu Xaa Cys Xaa Val Thr Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Xaa Pro Xaa Xaa Lys Leu Glu Trp

【表７９】

35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Xaa Arg Ile Xaa Ile Xaa Arg Xaa Thr Xaa Xaa Asn Xaa Phe Xaa
65 70 75 80

Leu Xaa Leu Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Xaa Gly Thr
100 105 110

Xaa Val Xaa Val Xaa Xaa
115

<210> 126
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (17)..(17)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (44)..(45)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (69)..(69)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (71)..(71)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (80)..(80)
<223> Xaa= any amino acid

【表８０】

<220>
<221> misc_feature
<222> (88)..(89)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (93)..(93)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (113)..(113)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 126

Xaa Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Xaa Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Xaa Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Xaa Xaa Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Xaa Ile Xaa Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Xaa
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Xaa Xaa Asp Thr Ala Xaa Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Xaa Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 127
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (17)..(17)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (44)..(44)

【表８１】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (69)..(69)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (71)..(71)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (80)..(80)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (88)..(89)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (113)..(113)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 127

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Xaa Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Xaa Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Xaa Ile Xaa Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Xaa
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Xaa Xaa Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Xaa Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 128
<211> 109

【表８２】

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(12)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(18)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(24)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (37)..(37)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (39)..(43)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (45)..(45)
<223> Xaa= any amino acid

【表８３】

<220>
<221> misc_feature
<222> (54)..(57)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (59)..(61)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (63)..(63)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (65)..(65)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (67)..(67)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (69)..(70)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (72)..(72)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (74)..(74)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (76)..(77)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (79)..(81)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (83)..(83)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (100)..(100)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (103)..(103)

【表８４】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (105)..(109)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 128

Xaa Ile Xaa Leu Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Val Xaa Phe Xaa Cys Xaa Ala Xaa Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Gly
50 55 60

Xaa Gly Xaa Gly Xaa Xaa Phe Xaa Leu Xaa Ile Xaa Xaa Val Xaa Xaa
65 70 75 80

Xaa Asp Xaa Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
85 90 95

Thr Phe Gly Xaa Gly Thr Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
100 105

<210> 129
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa= any amino acid

【表８５】

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(10)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(14)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(18)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(24)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (39)..(39)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(42)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (54)..(54)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (57)..(57)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (60)..(60)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (63)..(63)

【表８６】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (65)..(65)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (67)..(67)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (69)..(70)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (72)..(72)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (74)..(74)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (76)..(77)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (79)..(81)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (83)..(83)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (100)..(100)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (103)..(103)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (105)..(109)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 129

Xaa Ile Xaa Leu Xaa Gln Xaa Pro Xaa Xaa Leu Xaa Val Xaa Pro Xaa
1 5 10 15

【表８７】

```
Xaa Xaa Val Xaa Phe Xaa Cys Xaa Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
            20                  25                  30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Xaa Thr Xaa Xaa Ser Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Lys Tyr Ala Ser Glu Xaa Ile Ser Xaa Ile Pro Xaa Arg Phe Xaa Gly
    50                  55                  60

Xaa Gly Xaa Gly Xaa Xaa Phe Xaa Leu Xaa Ile Xaa Xaa Val Xaa Xaa
65                  70                  75                  80

Xaa Asp Xaa Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Xaa Gly Thr Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
            100                 105
```

<210> 130
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(10)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (39)..(39)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(43)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (54)..(56)

【表８８】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (60)..(60)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (74)..(74)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (76)..(77)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (83)..(83)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (100)..(100)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (109)..(109)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 130

Xaa Ile Xaa Leu Thr Gln Ser Pro Xaa Xaa Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Xaa Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Xaa Xaa Xaa Gly Ile Pro Xaa Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Xaa Ile Xaa Xaa Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Xaa Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
85 90 95

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

<210> 131

【表８９】

<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(10)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (39)..(39)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(42)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (54)..(54)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (60)..(60)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (74)..(74)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (76)..(77)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (83)..(83)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (100)..(100)

【表９０】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (109)..(109)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 131

Xaa Ile Xaa Leu Thr Gln Ser Pro Xaa Xaa Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Xaa Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Xaa Thr Xaa Xaa Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Xaa Ile Ser Gly Ile Pro Xaa Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Xaa Ile Xaa Xaa Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Xaa Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
85 90 95

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

<210> 132
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(10)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Xaa= any amino acid

【表９１】

<220>
<221> misc_feature
<222> (39)..(39)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(43)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (60)..(60)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (74)..(74)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (76)..(77)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (83)..(83)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (100)..(100)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (109)..(109)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 132

Xaa Ile Xaa Leu Thr Gln Ser Pro Xaa Xaa Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Xaa Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Xaa Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Xaa Ile Xaa Xaa Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Xaa Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr

【表９２】

85 90 95

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

<210> 133
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(17)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(21)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (39)..(39)
<223> Xaa= any amino acid

【表９３】

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(45)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (47)..(47)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (60)..(60)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (62)..(63)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (65)..(67)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (69)..(69)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (71)..(71)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (73)..(78)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (80)..(80)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (82)..(82)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (84)..(85)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (87)..(89)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (91)..(91)

【表９４】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (93)..(93)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (110)..(110)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (113)..(113)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (115)..(115)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (117)..(118)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 133

Xaa Val Xaa Leu Xaa Glu Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Leu Xaa Leu Xaa Cys Xaa Val Xaa Asp Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Xaa Asn Xaa Xaa Leu
50 55 60

Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Ile Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Xaa
65 70 75 80

Leu Xaa Leu Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Ala Xaa Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Phe Asp Tyr Ala His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Xaa Gly Thr
100 105 110

Xaa Val Xaa Val Xaa Xaa
115

<210> 134
<211> 109

【表９５】

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(12)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(18)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(24)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (37)..(37)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (39)..(43)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (45)..(45)
<223> Xaa= any amino acid

【表９６】

<220>
<221> misc_feature
<222> (54)..(57)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (59)..(61)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (63)..(63)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (65)..(65)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (67)..(67)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (69)..(70)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (72)..(72)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (74)..(74)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (76)..(77)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (79)..(81)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (83)..(83)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (100)..(100)
<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (103)..(103)

【表９７】

<223> Xaa= any amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (105)..(109)
<223> Xaa= any amino acid

<400> 134

Xaa Ile Xaa Leu Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Val Xaa Phe Xaa Cys Xaa Ala Xaa Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Xaa Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Phe Xaa Gly
50 55 60

Xaa Gly Xaa Gly Xaa Xaa Phe Xaa Leu Xaa Ile Xaa Xaa Val Xaa Xaa
65 70 75 80

Xaa Asp Xaa Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
85 90 95

Thr Phe Gly Xaa Gly Thr Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
100 105

<210> 135
<211> 327
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 135
gaaatagtcc ttacccaatc tcccggaacc ctctcagtat ctcccggcga acgagtaacc 60

ttttcatgta gagcatccca atccatcggc acttcaattc actggtatca gcagaaaaca 120

ggtcaatccc cacggcttct tataaaatat gcatcagaat caatttctgg catcccagac 180

agattttcag gttcaggatc aggcaccgat ttcacactta caatatccag agtcgaatca 240

gaagattttg cagattacta ttgtcaacaa ataaacagct ggcccactac attcggacaa 300

ggcacaaaac tcgaaattaa acgtacg 327

<210> 136
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 136

【表９８】

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Asn Ser Trp Pro Thr
85 90 95

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

<210> 137
<211> 327
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 137
gaaatagttc ttactcaatc ccccggtaca ctctcagttt ccccaggcga acgcgtcact 60

ttttcttgca gagcatcaca atcaatcggc acttcaattc attggtatca acaaaaaaca 120

ggacaggccc cacgacttct tattaaatat gcatcagaat caatttctgg catcccagac 180

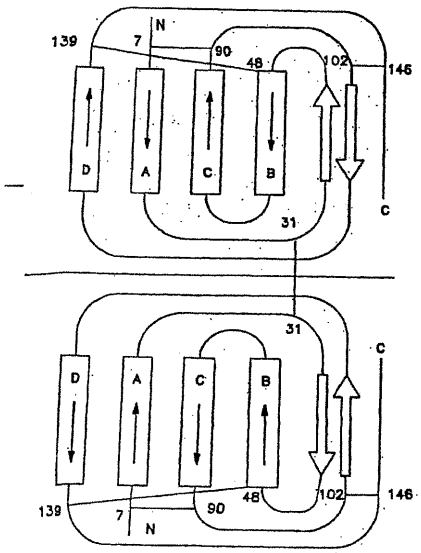
agattttcag gttcaggatc aggcaccgat ttcacactta caatatccag agtcgaatca 240

gaagattttg cagattacta ttgtcaacaa ataaacagct ggcccactac attcggacaa 300

ggcacaaaac tcgaaattaa acgtacg 327

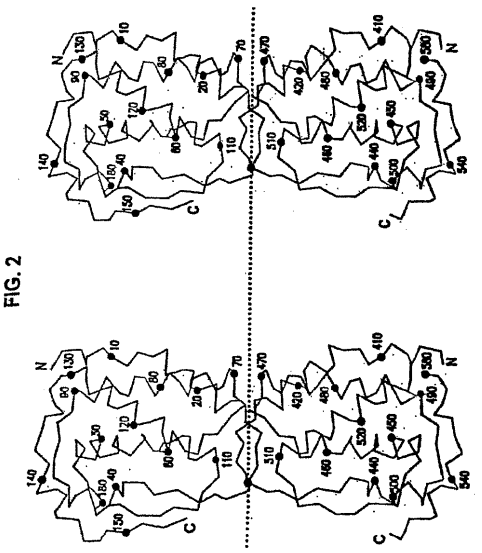
【図１】

FIG. 1



【図２】

FIG. 2



【図３Ａ】

RX1軽鎖アミノ酸配列

```
                                                
```

【図３Ｃ】

FIG. 3C

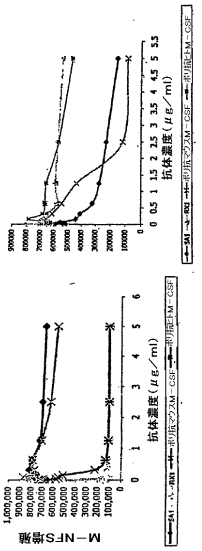
CHIR－RX1重鎖危険度割当て

	アミノ酸1－57
V領域	MELHLHLHMVLAMLALLFLLPGATGDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPYTFGQGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
危険度	MELHLHLHMVLAMLALLFLLPGATGDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPYTFGQGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
マウス	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYISYSGSTSYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCASFDYWGQGTSVTVSS---DYWGQGTSVTVSS

	アミノ酸58－113
V領域	HMHMEMLAMFHLHLHLMLLMLALLFLLPGATGDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPYTFGQGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
危険度	HMHMEMLAMFHLHLHLMLLMLALLFLLPGATGDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLSYRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFPYTFGQGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
マウス	SYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCASFDYWAHAM---------DYWGQGTSVTVSS

【図４Ａ】

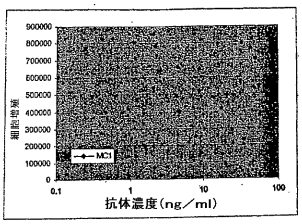
FIG. 4A



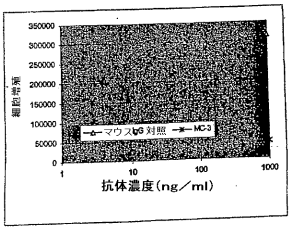
【図４Ｂ】

FIG. 4B

MC1はヒトM－CSF活性を中和する



MC3はヒトM－CSF活性を中和する



【図５】

FIG. 5

```
Met Thr Ala Pro Gly Ala Ala Gly Arg Cys Pro Pro Thr Thr Trp Leu
1               5                  10                  15

Gly Ser Leu Leu Leu Leu Val Cys Leu Leu Ala Ser Arg Ser Ile Thr
            20                  25                  30

Glu Glu Val Ser Glu Tyr Cys Ser His Met Ile Gly Ser Gly His Leu
        35                  40                  45

Gln Ser Leu Gln Arg Leu Ile Asp Ser Gln Met Glu Thr Ser Cys Gln
    50                  55                  60

Ile Thr Phe Glu Phe Val Asp Gln Glu Gln Leu Lys Asp Pro Val Cys
65                  70                  75                  80

Tyr Leu Lys Lys Ala Phe Leu Leu Val Gln Asp Ile Met Glu Asp Thr
                85                  90                  95

Met Arg Phe Arg Asp Asn Thr Pro Asn Ala Ile Ala Ile Val Gln Leu
            100                 105                 110

Gln Glu Leu Ser Leu Arg Leu Lys Ser Cys Phe Thr Lys Asp Tyr Glu
        115                 120                 125

Glu His Asp Lys Ala Cys Val Arg Thr Phe Tyr Glu Thr Pro Leu Gln
    130                 135                 140

Leu Leu Glu Lys Val Lys Asn Val Phe Asn Glu Thr Lys Asn Leu Leu
145                 150                 155                 160

Asp Lys Asp Trp Asn Ile Phe Ser Lys Asn Cys Asn Asn Ser Phe Ala
                165                 170                 175

Glu Cys Ser Ser Gln Gly His Glu Arg Gln Ser Glu Gly Ser Ser Ser
            180                 185                 190

Pro Gln Leu Gln Glu Ser Val Phe His Leu Leu Val Pro Ser Val Ile
        195                 200                 205

Leu Val Leu Leu Ala Val Gly Gly Leu Leu Phe Tyr Arg Trp Arg Arg
    210                 215                 220

Arg Ser His Gln Glu Pro Gln Arg Ala Asp Ser Pro Leu Glu Gln Pro
225                 230                 235                 240

Glu Gly Ser Pro Leu Thr Gln Asp Asp Arg Gln Val Glu Leu Pro Val
                245                 250                 255
```

【図６】

FIG. 6

```
Met Thr Ala Pro Gly Ala Ala Gly Arg Cys Pro Pro Thr Thr Trp Leu
1               5                  10                  15
Gly Ser Leu Leu Leu Leu Val Cys Leu Leu Ala Ser Arg Ser Ile Thr
            20                  25                  30
Glu Glu Val Ser Glu Tyr Cys Ser His Met Ile Gly Ser Gly His Leu
        35                  40                  45
Gln Ser Leu Gln Arg Leu Ile Asp Ser Gln Met Glu Thr Ser Cys Gln
    50                  55                  60
Ile Thr Phe Glu Phe Val Asp Gln Glu Gln Leu Lys Asp Pro Val Cys
65                  70                  75                  80
Tyr Leu Lys Lys Ala Phe Leu Leu Val Gln Asp Ile Met Glu Asp Thr
                85                  90                  95
Met Arg Phe Arg Asp Asn Thr Pro Asn Ala Ile Ala Ile Val Gln Leu
            100                 105                 110
Gln Glu Leu Ser Leu Arg Leu Lys Ser Cys Phe Thr Lys Asp Tyr Glu
        115                 120                 125
Glu His Asp Lys Ala Cys Val Arg Thr Phe Tyr Glu Thr Pro Leu Gln
    130                 135                 140
Leu Leu Glu Lys Val Lys Asn Val Phe Asn Glu Thr Lys Asn Leu Leu
145                 150                 155                 160
Asp Lys Asp Trp Asn Ile Phe Ser Lys Asn Cys Asn Asn Ser Phe Ala
                165                 170                 175
Glu Cys Ser Ser Gln Asp Val Val Thr Lys Pro Asp Cys Asn Cys Leu
            180                 185                 190
Tyr Pro Lys Ala Ile Pro Ser Ser Asp Pro Ala Ser Val Ser Pro His
        195                 200                 205
Gln Pro Leu Ala Pro Ser Met Ala Pro Val Ala Gly Leu Thr Trp Glu
    210                 215                 220
Asp Ser Glu Gly Thr Glu Gly Ser Ser Leu Leu Pro Gly Glu Gln Pro
225                 230                 235                 240
Leu His Thr Val Asp Pro Gly Ser Ala Lys Gln Arg Pro Pro Arg Ser
                245                 250                 255
Thr Cys Gln Ser Phe Glu Pro Pro Glu Thr Pro Val Val Lys Asp Ser
            260                 265                 270
Thr Ile Gly Gly Ser Pro Gln Pro Arg Pro Ser Val Gly Ala Phe Asn
        275                 280                 285
Pro Gly Met Glu Asp Ile Leu Asp Ser Ala Met Gly Thr Asn Trp Val
    290                 295                 300
Pro Glu Glu Ala Ser Gly Glu Ala Ser Glu Ile Pro Val Pro Gln Gly
305                 310                 315                 320
Thr Glu Leu Ser Pro Ser Arg Pro Gly Gly Gly Ser Met Gln Thr Glu
                325                 330                 335
Pro Ala Arg Pro Ser Asn Phe Leu Ser Ala Ser Ser Pro Leu Pro Ala
            340                 345                 350
Ser Ala Lys Gly Gln Gln Pro Ala Asp Val Thr Gly His Glu Arg Gln
        355                 360                 365
Arg Val Gly Pro Val Arg Pro Thr Gly Gln Asp Trp Asn His Thr Pro
    370                 375                 380
Gln Lys Thr Asp His Pro Ser Ala Leu Leu Arg Asp Pro Pro Glu Pro
385                 390                 395                 400
Gly Ser Pro Arg Ile Ser Ser Leu Arg Pro Gln Gly Leu Ser Asn Pro
                405                 410                 415
Ser Thr Leu Ser Ala Gln Pro Gln Leu Ser Arg Ser His Ser Ser Gly
            420                 425                 430
Ser Val Leu Pro Leu Gly Glu Leu Glu Gly Arg Arg Ser Thr Arg Asp
        435                 440                 445
Arg Arg Ser Pro Ala Glu Pro Glu Gly Gly Pro Ala Ser Glu Gly Ala
    450                 455                 460
Ala Arg Pro Leu Pro Arg Phe Asn Ser Val Pro Leu Thr Asp Thr Gly
465                 470                 475                 480
His Glu Arg Gln Ser Glu Gly Ser Ser Ser Pro Gln Leu Gln Glu Ser
                485                 490                 495
Val Phe His Leu Leu Val Pro Ser Val Ile Leu Val Leu Leu Ala Val
            500                 505                 510
Gly Gly Leu Leu Phe Tyr Arg Trp Arg Arg Arg Ser His Gln Glu Pro
        515                 520                 525
Gln Arg Ala Asp Ser Pro Leu Glu Gln Pro Glu Gly Ser Pro Leu Thr
    530                 535                 540
Gln Asp Asp Arg Gln Val Glu Leu Pro Val
```

【図７】

FIG. 7

```
Met Thr Ala Pro Gly Ala Ala Gly Arg Cys Pro Pro Thr Thr Trp Leu
1               5                  10                  15
Gly Ser Leu Leu Leu Leu Val Cys Leu Leu Ala Ser Arg Ser Ile Thr
            20                  25                  30
Glu Glu Val Ser Glu Tyr Cys Ser His Met Ile Gly Ser Gly His Leu
        35                  40                  45
Gln Ser Leu Gln Arg Leu Ile Asp Ser Gln Met Glu Thr Ser Cys Gln
    50                  55                  60
Ile Thr Phe Glu Phe Val Asp Gln Glu Gln Leu Lys Asp Pro Val Cys
65                  70                  75                  80
Tyr Leu Lys Lys Ala Phe Leu Leu Val Gln Asp Ile Met Glu Asp Thr
                85                  90                  95
Met Arg Phe Arg Asp Asn Thr Pro Asn Ala Ile Ala Ile Val Gln Leu
            100                 105                 110
Gln Glu Leu Ser Leu Arg Leu Lys Ser Cys Phe Thr Lys Asp Tyr Glu
        115                 120                 125
Glu His Asp Lys Ala Cys Val Arg Thr Phe Tyr Glu Thr Pro Leu Gln
    130                 135                 140
Leu Leu Glu Lys Val Lys Asn Val Phe Asn Glu Thr Lys Asn Leu Leu
145                 150                 155                 160
Asp Lys Asp Trp Asn Ile Phe Ser Lys Asn Cys Asn Asn Ser Phe Ala
                165                 170                 175
Glu Cys Ser Ser Gln Asp Val Val Thr Lys Pro Asp Cys Asn Cys Leu
            180                 185                 190
Tyr Pro Lys Ala Ile Pro Ser Ser Asp Pro Ala Ser Val Ser Pro His
        195                 200                 205
Gln Pro Leu Ala Pro Ser Met Ala Pro Val Ala Gly Leu Thr Trp Glu
    210                 215                 220
Asp Ser Glu Gly Thr Glu Gly Ser Ser Leu Leu Pro Gly Glu Gln Pro
225                 230                 235                 240
Leu His Thr Val Asp Pro Gly Ser Ala Lys Gln Arg Pro Pro Arg Ser
                245                 250                 255
Thr Cys Gln Ser Phe Glu Pro Pro Glu Thr Pro Val Val Lys Asp Ser
            260                 265                 270
Thr Ile Gly Gly Ser Pro Gln Pro Arg Pro Ser Val Gly Ala Phe Asn
        275                 280                 285
Pro Gly Met Glu Asp Ile Leu Asp Ser Ala Met Gly Thr Asn Trp Val
    290                 295                 300
Pro Glu Glu Ala Ser Gly Glu Ala Ser Glu Ile Pro Val Pro Gln Gly
305                 310                 315                 320
Thr Glu Leu Ser Pro Ser Arg Pro Gly Gly Gly Ser Met Gln Thr Glu
                325                 330                 335
Pro Ala Arg Pro Ser Asn Phe Leu Ser Ala Ser Ser Pro Leu Pro Ala
            340                 345                 350
Ser Ala Lys Gly Gln Gln Pro Ala Asp Val Thr Gly His Glu Arg Gln
        355                 360                 365
Ser Glu Gly Ser Ser Ser Pro Gln Leu Gln Glu Ser Val Phe His Leu
    370                 375                 380
Leu Val Pro Ser Val Ile Leu Val Leu Leu Ala Val Gly Gly Leu Leu
385                 390                 395                 400
Phe Tyr Arg Trp Arg Arg Arg Ser His Gln Glu Pro Gln Arg Ala Asp
                405                 410                 415
Ser Pro Leu Glu Gln Pro Glu Gly Ser Pro Leu Thr Gln Asp Asp Arg
            420                 425                 430
Gln Val Glu Leu Pro Val
```

【図８】

FIG. 8

5H4重鎖タンパク質配列

```
  1   EIQLQQSGPE LVKTGTSVKI SCKASGYSPT GYFMHWVKQS HGKSLEWIGY
 51   ISCVNGDTNY NQNFRGKATF TVDTSSSTAY MQFNSLTSED SAVYYCARRG
101   GNYPAYWGQG TLVTVSAAKT TPPSVYPLAP GSAAQTNSMV TLGCLVKGYF
151   PEPVTVTWNS GSLSSGVHTF PAVLQSDLYT LSSSVTVPSS TWPSETVTCN
201   VAHPASSTKV DKKIVPRDCG CKPCICTVPE VSSVFIFPPK PKDVLTITLT
251   PKVTCVVVDI SKDDPEVQFS WFVDDVEVHT AQTQPREEQF NSTFRSVSEL
301   PIMHQDWLNG KEFKCRVNSA AFPAPIEKTI SKTKGRPKAP QVYTIPPPKE
351   QMAKDKVSLT CMITDFFPED ITVEWQWNGQ PAENYKNTQP IMDTDGSYFV
401   YSKLNVQKSN WEAGNTFTCS VLHEGLHNHH TEKSLSHSPG K
```

5H4軽鎖タンパク質配列

```
  1   DIVMTQSHKF MSTSVGDRVT ITCKASQNVG TAVTWYQQKP GQSPKLLIYW
 51   TSTRHAGVPD RFTGSGSGTD FTLTISDVQS EDLADYFCQQ YSSYPLTFGA
101   GTKLELKRAD AAPTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVKWKI
151   DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
201   STSPIVKSFN RNEC
```

【図９】

FIG. 9

MC－１重鎖タンパク質配列

```
  1   EVKLVESGGG LVQPGGSLKL SCATSGFTFS DYYMYWVRQT PEKRLEWVAY
 51   ISNGGGSTYY PDTVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMSRLKSED TAMYYCARQG
101   SYGYPFAYWG QGTLVTVSAA KTTAPSVYPL APVCGDTTGS SVTLGCLVKG
151   YFPEPVTLTW NSGSLSSGVH TFPAVLQSDL YTLSSSVTVT SSTWPSQSIT
201   CNVAHPASST KVDKKIEPRG PTIKPCPPCK CPAPNLLGGP SVFIFPPPKI
251   DVLMISLSPI VTCVVVDVSE DDPDVQISWF VNNVEVHTAQ TQTHREDYNS
301   TLRVVSALPI QHQDWMSGKE FKCKVNNKDL PAPIERTISK PKGSVRAPQV
351   YVLPPPEEEM TKKQVTLTCM VTDFMPEDIY VEWTNNGKTE LNYKNTEPVL
401   DSDGSYFMYS KLRVEKKNWV ERNSYSCSVV HEGLHNHHTT KSFSRTPGK
```

MC－１軽鎖タンパク質配列

```
  1   AIQMTQTTSS LSASLGDRVT ISCSASQGIS NYLNWYQQKP DGTVKLLIYY
 51   TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEP EDIATYYCQQ YSKLPWTFGG
101   GTKLEIKRAD AAPTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVKWKI
151   DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
201   STSPIVKSFN RNEC
```

【図１０】

FIG. 10

MC－３重鎖タンパク質配列

```
  1   DVQLQESGPG LVKPSQSLSL TCTVTGYSIT SDYAWNWIRQ FPGNKLEWMG
 51   YISYSGSTSY NPSLKSRISI TRDTSKNQFF LQLNSVTTED TATYYCARLE
101   TWLFDYWGQG TTLTVSSAKT TPPSVYPLAP GCGDTTGSSV TLGCLVKGYF
151   PESVTVTWNS GSLSSSVHTF PALLQSGLYT MSSSVTVPSS TWPSQTVTCS
201   VAHPASSTTV DKKLEPSGPI STINPCPPCK ECHKCPAPNL EGGPSVFIFP
251   PNIKDVLMIS LTPKVTCVVV DVSEDDPDVQ ISWFVNNVEV HTAQTQTHRE
301   DYNSTIRVVS TLPIQHQDWM SGKEFKCKVN NKDLPSPIER TISKIKGLVR
351   APQVYILPPP AEQLSRKDVS LTCLVVGFNP GDISVEWTSN GHTEENYKDT
401   APVLDSDGSY FIYSKLNMKT SKWEKTDSFS CNVRHEGLKN YYLKKTISRS
451   PGLDLDDICA EAKDGELDGL WTTITIFISL FLLSVCYSAS VTLFKVKWIF
501   SSVVELKQKI SPDYRNMIGQ GA
```

MC－３軽鎖タンパク質配列

```
  1   DILLTQSPAI LSVSPGERVS FSCRASQSIG TSIHWYQQRT NGSPRLLIKY
 51   ASESISGIPS RFSGSGSGTD FTLSINSVES EDIADYYCQQ SNSWPTTFGG
101   GTKLEIKWAD AAPTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVKWKI
151   DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
201   STSPIVKSFN RNEC
```

【図１１Ａ】

FIG. 11A

重鎖CDR1に関して

```
                    1
H_CDR1_5H4    (1) -GYFMH
H_CDR1_MC-1   (1) -NYYMY
H_CDR1_CHIR-RX1 (1) ▒▒▒▒▒
H_CDR1_MC-3   (1) ▒▒▒▒▒
コンセンサス    (1) SDYAWN
```

重鎖CDR2に関して

```
                    1                   17
H_CDR2_5H4    (1) YISCNGDTNYNQNFKG
H_CDR2_MC-1   (1) YISNGGGSTYYPDTVKG
H_CDR2_CHIR-RX1 (1) ▒▒▒-▒▒▒▒▒▒▒▒▒▒▒▒▒
H_CDR2_MC-3   (1) ▒▒▒-▒▒▒▒▒▒▒▒▒▒▒▒▒
コンセンサス    (1) YIS YSGSTSYNPSLKS
```

重鎖CDR3に関して

```
                    1
H_CDR3_5H4    (1) --GGNYPAY
H_CDR3_MC-1   (1) QGSTGTPAY
H_CDR3_CHIR-RX1 (1) -F▒▒▒HAM▒Y
H_CDR3_MC-3   (1) --LET▒L▒▒Y
コンセンサス    (1)   DYGW FDY
```

【図１１Ｂ】

FIG. 11B

軽鎖CDR1に関して

```
                    1          11
L_CDR1_5H4    (1) RASQN[SIGT]SIH
L_CDR1_MC-1   (1) SASQG[ISNY]LN
L_CDR1_CHIR-RX1 (1) RASQ[SIGT]SIH
L_CDR1_MC-3   (1) RASQ[SIGT]SIH
コンセンサス  (1) RASQSIGTSIH
```

軽鎖CDR2に関して

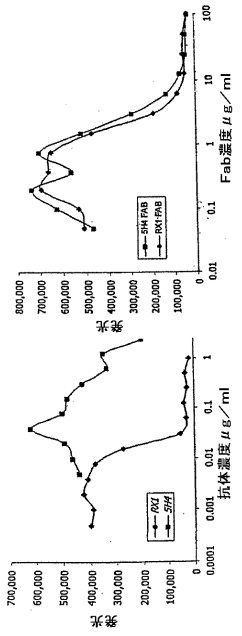
```
                    1
L_CDR2_5H4    (1) [YTSESIS]TRH
L_CDR2_MC-1   (1) [YTSESIS]SLH
L_CDR2_CHIR-RX1 (1) [YTSESIS]AS[TR]
L_CDR2_MC-3   (1) [YTSESIS]AS[TR]
コンセンサス  (1) YTSESIS
```

軽鎖CDR3に関して

```
                    1
L_CDR3_5H4    (1) QQ[YSSWPT]SLH
L_CDR3_MC-1   (1) QQ[YSSWPT]KLEW
L_CDR3_CHIR-RX1 (1) QQ[YSSWPT]IN[SW]T
L_CDR3_MC-3   (1) QQ[YSSWPT]SN[SW]T
コンセンサス  (1) QQYSSWPTT
```

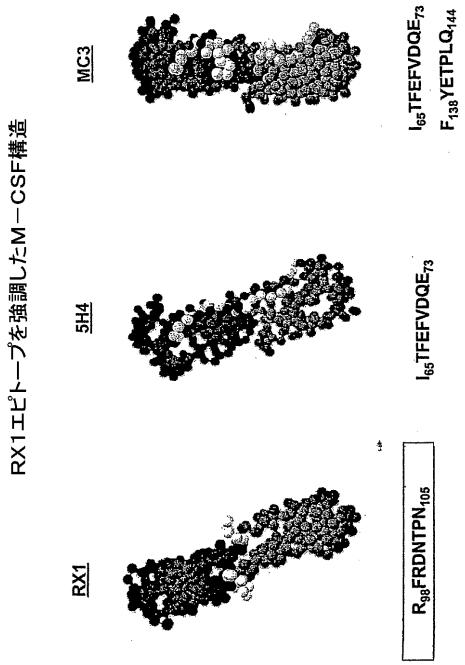
【図１１Ｃ】

FIG. 11C



【図１２】

FIG. 12



【図１３Ａ】

FIG. 13A

重鎖

V領域	変化の数	アミノ酸1－57
危険度		MHLHLHLHMLLMLLLHLHLHLHMHHHHHHHHHHHHHMLMLMHMHHHHHHHHHHHH
マウス		DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTDYSITTSDYAWN-WIRQFPGNKLEWMGYIS---YSGST
ヒト		qvqLqesGpgLVKPsqTLsLTCxvsGxsxSxxxxxxWIRQpPgkgLEWLgxIyyrsxxgxt
低危険度	2	DVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTDYSITSDYAWN-WIRQFPGKKLEWMGYIS---YSGST
低＋中危険度	5	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSDYSITSDYAWN-WIRQFPGKGLEWMGYIS---YSGST

V領域	変化の数	アミノ酸58－113
危険度		HHHHMHMLMHLHLHLMLLMLLHLHLLHLLHMHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHLHHLHLHLL
マウス		SYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCASFDYAHAM----------DYWGQGTSVTVSS
ヒト		xynpSlksRvTlsvDTSKNQfsLxLxsvtaaDTAvYyCArxxxxxxxxxxxxxxxxfdxWGqGtxVTVSS
低危険度	6	SYNPSLKSRITISRDTSKNQFSLQLNSVTAADTATYYCASFDYAHAM----------DYWGQGTTVTVSS
低＋中危険度	7	SYNPSLKSRITISRDTSKNQFSLQLNSVTAADTAVYYCASFDYAHAM----------DYWGQGTTVTVSS

【図１３Ｂ】

FIG. 13B

低危険度重鎖対Kabat Vh2コンセンサス

タンパク質配列：

DVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTDYSITSDYAWNWIRQFPGKKLEWMGYISYSGSTSYNPSLKSRITISRDTSKNQFSLQLNSVTAADTATYYCASFDYAHAMD
YWGQGTTVTVSS

DNA配列：

GACGTACAACTTCAAGAATCTGGCCCAGGTCTCGTCAAACCTTCTCAAACTCTCTCACTCACCTGCACTGTTACTGACTACTCTATTACATCCGACTACGCTT
GGAACTGGATCCGACAATTTCCTGGTAAAAAACTCGAATGGATGGGTTATATTTCTTACTCTGGCTCCACCTCCTACAATCCTTCTCTGAAATCACGCATCAC
AATTTCCCGCGATACCTCTAAAAATCAATTTTCACTCCAACTCAATTCTGTTACCGCCGCCGATACTGCCACCTACTACTGTGCCTCTTTTGACTACGCTCACG
CCATGGATTATTGGGGACAGGGTACTACCGTTACCGTAAGCTCA

低危険度＋中危険度重鎖対Kabat Vh2コンセンサス

タンパク質配列：

QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSDYSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTSYNPSLKSRITISRDTSKNQFSLQLNSVTAADTAVYYCASFDYAHAMD
YWGQGTTVTVSS

DNA配列：

CAAGTTCAACTTCAAGAATCAGGCCCCGGACTCGTTAAACCCTCTCAAACTCTCTCTCTTACTTGCACTGTATCCGATTACTCTATTACTTCAGACTACGCTTG
GAACTGGATCAGACAATTTCCCGGAAAAGGACTCGAATGGATGGGATATATCTCTTACTCTGGCTCAACCTCTTACAACCCCTCTCTCAAATCTCGAATAAC
AATCTCACGCGATACTTCTAAAAATCAATTCTCACTTCAACTTAACTCCGTTACTGCCGCCGACACTGCCGTTTACTACTGTGCTTCCTTCGATTACGCCCACG
CTATGGATTATTGGGGACAAGGAACTACCGTCACTGTCAGCTCA

【図１４Ａ】

FIG. 14A

軽鎖

V領域	変化の数	アミノ酸1－52
危険度		LHLHLHLMLLMLHLMLLLHLHLHLHMHHHHHHHHHHHHHHHMHLMLLMMHMHHHHHH
マウス		DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSIGTSIH----WYQQRTNGSPRLLIKYAS
ヒト		EIVlTQSPgTLSlSPGERaTLSCRASQSvssyL---AWYQQkPGQAPRLLIYgAS
低危険度	8	EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIH----WYQQKTGQSPRLLIKYAS
低＋中危険度	9	EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIH----WYQQKTGQAPRLLIKYAS

V領域	変化の数	アミノ酸53－109
危険度		HLMMLHMLMHLHLHLHLLHLHLHLLHLLLHLHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHLHHLHLLLLLL
マウス		ESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQINSWPT------TFGGGTKLEI-KRA
ヒト		sRATGIPdRFSGSGSGTDFTLTISrLepEDFAVYYCQQygsspp-----xTFGqGTKvEI-KRT
低危険度	8	ERISGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPT------TFGQGTKLEI-KRT
低＋中危険度	10	ERATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPT------TFGQGTKLEI-KRT

【図１４Ｂ】

FIG. 14B

低危険度軽鎖対Kabat Vk3コンセンサス

タンパク質配列：

EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIHWYQQKTGQSPRLLIKYASERISGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPTTFGQGTKLEIKRT

ヌクレオチド配列：

GAAATAGTCCTTACCCAATCTCCCGGAACCCTCTCAGTATCTCCCGGCGAACGAGTAACCTTTTCATGTAGAGCATCCCAATCCATCGGCACTTCAATTCACT
GGTATCAGCAGAAAACAGGTCAATCCCCACGGCTTCTTATAAAATATGCATCAGAAAGAATATCAGGCATTCCAGACAGATTCTCAGGTTCAGGTTCAGGC
ACAGACTTCACACTTACAATTTCCCGCGTCGAATCCGAAGACTTCGCTGACTATTACTGCCAACAAATCAACTCATGGCCTACTACTTTCGGTCAAGGCACC
AAACTCGAAATTAAACGTACG

低危険度＋中危険度軽鎖対Kabat Vk3コンセンサス

タンパク質配列：

EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIHWYQQKTGQAPRLLIKYASERATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPTTFGQGTKLEIKRT

ヌクレオチド配列：

GAAATAGTTCTTACTCAATCCCCCGGTACACTCTCAGTTTCCCCAGGCGAACGCGTCACTTTTTCTTGCAGAGCATCACAATCAATCGGCACTTCAATTCATT
GGTATCAACAAAAAACAGGACAGGCCCCACGACTTCTTATTAAATATGCATCAGAACGAGCCACAGGCATCCCAGACAGATTTTCAGGTTCAGGATCAGGC
ACCGATTTCACACTTACAATATCCAGAGTCGAATCAGAAGATTTTGCAGATTACTATTGTCAACAAATAAACAGCTGGCCCACTACATTCGGACAAGGCACA
AAACTCGAAATTAAACGTACG

【図１５Ａ】

FIG. 15A

軽鎖－マウスに戻す変化

V領域	変化の数	アミノ酸1－52
危険度		LHLHLHLMLLMLHLMLLLHLHLHLHMHHHHHHHHHHHHHHHMHLMLLMMHMHHHHHH
マウス		DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSIGTSIH----WYQQRTNGSPRLLIKYAS
ヒト		EIVlTQSPgTLSlSPGERaTLSCRASQSvssyL---AWYQQkPGQAPRLLIYgAS
低危険度	8	EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIH----WYQQKTGQSPRLLIKYAS
低＋中危険度	9	EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIH----WYQQKTGQAPRLLIKYAS

V領域	変化の数	アミノ酸53－109
危険度		HLMMLHMLMHLHLHLHLLHLHLHLLHLLLHLHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHLHHLHLLLLLL
マウス		ESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQINSWPT------TFGGGTKLEI-KRA
ヒト		sRATGIPdRFSGSGSGTDFTLTISrLepEDFAVYYCQQygsspp-----xTFGqGTKvEI-KRT
低危険度	8	ERISGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPT------TFGQGTKLEI-KRT
低＋中危険度	10	ERATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPT------TFGQGTKLEI-KRT
選択的低＋中危険度	7	ESISGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPT------TFGQGTKLEI-KRT

【図１５Ｂ】

FIG. 15B

低危険度軽鎖対Kabat Vk3コンセンサス；アミノ酸54をマウスに戻す変化

タンパク質配列：

EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIHWYQQKTGQSPRLLIKYASESISGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPTTFGQGTKLEIKRT

ヌクレオチド配列：

GAAATAGTCCTTACCCAATCTCCCGGAACCCTCTCAGTATCTCCCGGCGAACGAGTAACCTTTTCATGTAGAGCATCCCAATCCATCGGCACTTCAATTCACT
GGTATCAGCAGAAAACAGGTCAATCCCCACGGCTTCTTATAAAATATGCATCAGAATCAATTTCTGGCATCCCAGACAGATTTTCAGGTTCAGGATCAGGCA
CCGATTTCACACTTACAATATCCAGAGTCGAATCAGAAGATTTTGCAGATTACTATTGTCAACAAATAAACAGCTGGCCCACTACATTCGGACAAGGCACAA
AACTCGAAATTAAACGTACG

低危険度＋中危険度軽鎖対Kabat Vk3コンセンサス；アミノ酸54、55、56をマウスに戻す変化

タンパク質配列：

EIVLTQSPGTLSVSPGERVTFSCRASQSIGTSIHWYQQKTGQAPRLLIKYASESISGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRVESEDFADYYCQQINSWPTTFGQGTKLEIKRT

ヌクレオチド配列：

GAAATAGTTCTTACTCAATCCCCCGGTACACTCTCAGTTTCCCCAGGCGAACGCGTCACTTTTTCTTGCAGAGCATCACAATCAATCGGCACTTCAATTCATT
GGTATCAACAAAAAACAGGACAGGCCCCACGACTTCTTATTAAATATGCATCAGAATCAATTTCTGGCATCCCAGACAGATTTTCAGGTTCAGGATCAGGCA
CCGATTTCACACTTACAATATCCAGAGTCGAATCAGAAGATTTTGCAGATTACTATTGTCAACAAATAAACAGCTGGCCCACTACATTCGGACAAGGCACAA
AACTCGAAATTAAACGTACG

【図１６Ｂ】

FIG. 16B

低危険度軽鎖対VK6サブグループ2－1－(1)A14

タンパク質配列：

DIVLTQSPAFLSVTPGEKVTFTCQASQSIGTSIHWYQQKTDQSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSVEAEDAADYYCQQINSWPTTFGGGTKLEIKRT

ヌクレオチド配列：合成せず

低危険度＋中危険度軽鎖対VK6サブグループ2－1－(1)A14

DIVLTQSPAFLSVTPGEKVTFTCQASQSIGTSIHWYQQKTDQAPKLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSVEAEDAADYYCQQI
NSWPTTFGGGTKLEIKRT

ヌクレオチド配列

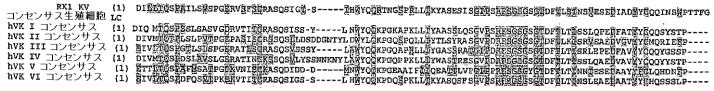
GACATAGTTCTCACACAATCACCAGCATTCCTCTCAGTTACACCCGGCGAAAAAGTAACCTTTACCTGTCAGGCTTCTCAATCTATCGGCACTTCTATTCACT
GGTATCAACAAAAAACCGATCAAGCTCCTAAACTCCTCATAAAATACGCATCCGAATCCATCTCCGGTATCCCCTCCAGATTTTCAGGCTCCGGCTCCGGCA
CAGATTTCACCCTTACCATTAGCTCAGTTGAAGCCGAAGACGCAGCTGATTACTACTGTCAACAAATAAACTCATGGCCCACTACTTTCGGCGGCGGCACTA
AACTCGAAATAAAACGTACG

【図１７Ａ】

FIG. 17A

マウスRX－1軽鎖

DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSIGTSIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQINSWPTTFGGGTK
LEIKRA



軽鎖アミノ末端側の半分

RX-1 DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSI--GTSIH----WYQQRTNGSPRLLIKYAS

pos… 10 20 abcdef 30 40 50

Kabat:

HK1…DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSLVXX-XISXXLXWYQQKPGKAPKLLIYXAS
HK2…DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSXDGXXYLNWYLQKPGQSPQLLIYXXS
HK3…EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQS-----VSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS
HK4…DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAS

生殖細胞コンセンサス（JK4を含む）

hVK1 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQS------ISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS
hVK2 DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLDSDDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLS
hVK3 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQS-----VSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS
hVK4 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAS
hVK5 ETTLTQSPAFMSATPGDKVNISCKASQDIDD------DMNWYQQKPGEAAIFIIQEAT
hVK6 EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIG------SSLHWYQQKPDQSPKLLIKYAS

【図１６Ａ】

FIG. 16A

軽鎖－HK6 2－1－1(A14)に基づく変化

V領域	変化の数	アミノ酸1－52
危険度		LHLHLHLMLLMLHLMLLLHLHLHLHMHHHHHHHHHHHHHHHMHLMLLMHMHHHHHH
マウス		DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQSIGTSIH----WYQQRTNGSPRLLIKYAS
ヒト		DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCQASEGIGNYLY----WYQQKPDQAPKLLIKYAS
低危険度	10	DIVLTQSPAFLSVTPGEKVTFTCQASQSIGTSIH----WYQQKTDQSPRLLIKYAS
低＋中危険度	12	DIVLTQSPAFLSVTPGEKVTFTCQASQSIGTSIH----WYQQKTDQAPKLLIKYAS

V領域	変化の数	アミノ酸53－109
危険度		HLMMLHMLMHLHLHLHLLLHLHLLHLLLHLHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHHLHHLHLLLLLL
マウス		ESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQINSWPT------TFGGGTKLEI-KRA
ヒト		QSISGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQQGNKHP------LTFGGGTKVEI-KRT
低危険度	5	ESISGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSVEAEDAADYYCQQINSWPT------TFGGGTKLEI-KRT
低＋中危険度	5	ESISGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSVEAEDAADYYCQQINSWPT------TFGGGTKLEI-KRT

【図１７Ｂ】

FIG. 17B

軽鎖カルボキシ末端側の半分

```
RX-1  ESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQINSWPT------TFGGGTKLEI-KRA

pos...      60        70        80        90      abcdef  100       a

Kabat:

HK1...XLXSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQXXXXPE-----XTFGQGTKVEI-KRT
HK2...NRXSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQAXQXPR-----XTFGQGTKVEI-KRT
HK3...SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPP-----XTFGQGTKVEI-KRT
HK4...TRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTP------XTFGQGTKVEI-KRT
```

生殖細胞コンセンサス（JK4を含む）

```
hVK1  SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP------LTFGGGTKVEI-KRT
hVK2  YRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFP------LTFGGGTKVEI-KRT
hVK3  SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSP------LTFGGGTKVEI-KRT
hVK4  TRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTP------LTFGGGTKVEI-KRT
hVK5  TLVPGIPPRFSGSGYGTDFTLTINNIESEDAAYYFCLQHDNFP------LTFGGGTKVEI-KRT
hVK6  QSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQSSSLP------LTFGGGTKVEI-KRT
```

【図１８Ａ】

FIG. 18A

マウスRX－１重鎖

```
DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTDYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYISYSGSTSYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYC
ASFDYAHAMDYWGQGTSVTVSS
```

```
RX1 VH
コンセンサス生殖細胞
hVH I コンセンサス
hVH II コンセンサス
hVH III コンセンサス
hVH IV コンセンサス
hVH V コンセンサス
hVH VI コンセンサス
hVH VII コンセンサス
```

重鎖アミノ末端側の半分

```
          DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTDYSITSDYAWN-WIRQFPGNKLEWMGYIS---YSGST

pos ...         10        20        30      ab    40        50  abc

Kabat:

HH1 ...XVQLVQSGAEVKKPGXSVKVSCKASGYTFXSYXIX--WVRQAPGQGLEWMGXIXPY-XXGXT
HH2 ...QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCXVSGXSXSSXXXXXWIRQPPGKGLEWIGXIYYRAXXGXT
HH3 ...EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSXYXMX--WVRQAPGKGLEWVXXIXXKXXGXXT

生殖細胞コンセンサス（JK4を含む）

hVHI    QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMH--WVRQAPGQGLEWMGWINP--NSGGT
hVHII   QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGVGVGWIRQPPGKALEWLALIY---WNDDK
hVHIII  EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMS--WVRQAPGKGLEWVANIK--QDGSEK
hVHIV   QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGGSISSSNWW-SWVRQPPGKGLEWIGEIY---HSGST
hVHV    EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIG--WVRQMPGKGLEWMGIIYP--GDSDT
hVHVI   QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYY-RSKWYN
hVHVII  QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMN--WVRQAPGQGLEWMGWINT--NTGNP
```

【図１８Ｂ】

FIG. 18B

重鎖カルボキシ末端側の半分

```
        SYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCASFDYAHAM----------DYWGQGTSVTVSS

pos ... 60        70        80  abc       90        100abcdefghijk        110

Kabat:

HH1 ...NYAQKFQGRVTITXDXSTSTAYMELSSLRSXDTAVYYCARXXXXXXXXXXXXXXDXXFDXWGQGTLVTVSS
HH2 ...XYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLXLXSVTAADTAVYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXFDXWGQGTXVTVSS
HH3 ...YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAXXXXXXXXXXXXXYYXXFDXWGQGTLVTVSS
```

生殖細胞コンセンサス（JK4を含む）

```
hVHI    NYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXYFDYWGQGTLVTVSS
hVHII   RYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAHRXXXXXXXXXXXXXXXYFDYWGQGTLVTVSS
hVHIII  YYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARXXXXXXXXXXXXXXXYFDYWGQGTLVTVSS
hVHIV   NYNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARXXXXXXXXXXXXXXXYFDYWGQGTLVTVSS
hVHV    RYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXYFDYWGQGTLVTVSS
hVHVI   DYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXYFDYWGQGTLVTVSS
hVHVII  TYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQICSLKAEDTAVYYCARXXXXXXXXXXXXXXXXYFDYWGQGTLVTVSS
```

【図１８Ｃ】

FIG. 18C

5H4のKabat番号付け法

5H4重鎖タンパク質配列

```
1-30:    EIQLQQSGPE LVKPGYSVKI SCKASGYSFT
31-35:   GYTMH
36-49:   WVKQSHGKSL EWIG
50-65:   YIS C (52A) YNGDTNY NQKFKG
66-94:   KATF TVDTSSSTAY MQF N (82A) S (82B) L(82C) TSED SAVYYCAR
95-102:  EGSNYFDAY
103-437: WGQG TLATVSAAKT TPPSVYPLAP GSAAQTNSMV TLGCLVKGYF PEPVTVTWNS GSLSSGVHTF PAVLQSDLYT LSSSVTVPSS TWPSETVTCN VAHPASSTKV DKKIVPRDCG CKPCICTVPE VSSVFIFPPK PKDVLTITLT PKVTCVVVDI SKDDPEVQFS WFVDDVEVHT AQTQPREEQF NSTFRSVSEL PIMHQDWLNG KEFKCRVNSA AFPAPIEKTI SKTKGRPKAP QVYTIPPPKE QMAKDKVSLT CMITGFFPED ITVEWQWNGQ PAENYKNTQP IMDTDGSYFV YSKLNVQKSN WEAGNTFTCS VLHEGLHNHH TEKSLSHSPG K
```

5H4軽鎖タンパク質配列

```
1-23:    DIVMTQSHKF MSTSVGDRVT ITC
24-34:   KASQDVG TAVAT
35-49:   WYQQKPGQSP KLLIY
50-56:   WTSTRHA
57-88:   GVPD RFTGSGSGTD FTLTISDVQS EDLADYFC
89-97:   QQYSSYPLT
98-214:  FGAGTKLELKRAD AAPTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVKWKI DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT STSPIVKSFN RNEC
```

JP 2012-162572 A 2012.8.30

【図１８Ｄ】

FIG. 18D

MC1のKabat番号付け法

MC－１重鎖タンパク質配列

```
1-30:       EVKLVESGGG LVQPGGSLKL SCATSGFTFS
31-35:      DYYMY
36-49:      WVRQTPEKRLEWVA
50-65:      YIS N (52A) GGGSTYY PDTVKG
66-94:      RFTI SRDNAKNTLY LQM S (82A) R (82B) L (82C) KSED TAMYYCAR
95-102:     QGSYGYPFAY
103-449:    WG QGTLVTVSAA KTTAPSVYPL APVCGDTTGS SVTLGCLVKG YFPEPVTLTW
NSGSLSSGVH TFPAVLQSDL YTLSSSVTVT SSTWPSQSIT CNVAHPASST KVDKKIEPRG
PTIKPCPPCK CPAPNLLGGP SVFIFPPKIK DVLMISLSPI VTCVVVDVSE DDPDVQISWF
VNNVEVHTAQ TQTHREDYNS TLRVVSALPI QHQDWMSGKE FKCKVNNKDL PAPIERTISK
PKGSVRAPQV YVLPPPEEEM TKKQVTLTCM VTDFMPEDIY VEWTNNGKTE LNYKNTEPVL
DSDGSYFMYS KLRVEKKNWV ERNSYSCSVV HEGLHNHHTT KSFSRTPGK
```

MC－１軽鎖タンパク質配列

```
1-23:       AIQMTQTTSS LSASLGDRVT ISC
24-34:      SASQGIS NYLN
35-49:      WYQQKP DGTVKLLIY
50-56:      YTSSLHS
57-88:      GVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEP EDIATYYC
89-97:      QQ YSKLPWT
98-214:     FGGGTKLEIKRAD AAPTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVKWKI
DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT STSPIVKSFN
RNEC
```

【図１８Ｅ】

FIG. 18E

MC3のKabat番号付け法

MC－３重鎖タンパク質配列

```
1-30:   DVQLQESGPG LVKPSQSLSL TCTVTGYSIT
31-35:  SDYAW N (35A)
36-49:  WIRQ FPGNKLEWMG
50-65:  YISYSGSTSY NPSLKS
66-94:  RISIT RDTSKNQFFL QL N (82A) S (82B) V (82C) TTEDT ATYYCAR
95-102: LETWLFDY

103-522: WGQG TTLTVSSAKT TPPSVYPLAP GCGDTTGSSV TLGCLVKGYF PESVTVTWNS
         GSLSSSVHTF PALLQSGLYT MSSSVTVPSS TWPSQTVTCS VAHPASSTTV
         DKKLEPSGPI STINPCPPCK ECHKCPAPNL EGGPSVFIFP PNIKDVLMIS
         LTPKVTCVVV DVSEDDPDVQ ISWFVNNVEV HTAQTQTHRE DYNSTIRVVS
         TLPIQHQDWM SGKEFKCKVN NKDLPSPIER TISKIKGLVR APQVYILPPP
         AEQLSRKDVS LTCLVVGFNP GDISVEWTSN GHTEENYKDT APVLDSDGSY
         FIYSKLNMKT SKWEKTDSFS CNVRHEGLKN YYLKKTISRS PGLDLDDICA
         EAKDGELDGL WTTITIFISL FLLSVCYSAS VTLFKVKWIF SSVVELKQKI
         SPDYRNMIGQ GA
```

MC－３軽鎖タンパク質配列

```
1-23: DILLTQSPAI LSVSPGERVS FSC
24-34: RASQSIG TSIH
35-49: WYQQRT NGSPRLLIK
50-56: YASESIS
57-88: GIPS RFSGSGSGTD FTLSINSVES EDIADYYC
89-97: QQ SNSWPTT
98-214: PGG GTKLEIKWAD AAPTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVKWKI
        DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
        STSPIVKSFN RNEC
```

【図１９Ａ】

FIG. 19A

heRX－１低危険度重鎖γ１

アミノ酸

MGWSCIILFLVATATGVHS

DVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTDYSITSDYAWNWIRQFPGKKLEWMGYISYSGSTSYNPSLKSRITISRDTSKNQFSL
QLNSVTAADTATYYCASFDYAHAMDYWGQGTTVTVSS

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY
ICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK*

ヌクレオチド

ATGGGATGGAGTTGCATTATACTTTTCCTCGTTGCCACCGCCACTGGAGTTCACTCTGACGTACAACTTCAAGAATC
TGGCCCAGGTCTCGTCAAACCTTCTCAAACTCTCTCACTCACCTGCACTGTTACTGACTACTCTATTACATCCGACTA
CGCTTGGAACTGGATCCGACAATTTCCTGGTAAAAAACTCGAATGGATGGGTTATATTTCTTACTCTGGCTCCACCT
CCTACAATCCTTCTCTGAAATCACGCATCACAATTTCCCGCGATACCTCTAAAAATCAATTTTCACTCCAACTCAATT
CTGTTACCGCCGCCGATACTGCCACCTACTACTGTGCCTCTTTTGACTACGCTCACGCCATGGATTATTGGGGACAG
GGTACTACCGTTACCGTAAGCTCAGCCAGCACAAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCA
CCTCTGGGGGCACACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTC
AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGG
TGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT
GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGTCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGG
GGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGT
GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGC
CAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGA
CTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC
AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAG
GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG
AGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGAC
AAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA
AGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
```

【図１９Ｂ】

FIG. 19B

heRX－１低＋中危険度重鎖γ１

アミノ酸

MGWSCIILFLVATATGVHS

QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSDYSITSDYAWNWIRQFPGKGLEWMGYISYSGSTSYNPSLKSRITISRDTSKNQFSL
QLNSVTAADTAVYYCASFDYAHAMDYWGQGTTVTVSS

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY
ICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK*

ヌクレオチド

ATGGGTTGGTCTTGCATCATTCTCTTTCTCGTCGCTACCGCAACTGGTGTACACTCCCAAGTTCAACTTCAAGAATCA
GGCCCCGGACTCGTTAAACCCICTCAAACTCTCTCTCTTACTTGCACTGTATCCGATTACTCTATTACTTCAGACTAC
GCTTGGAACTGGATCAGACAATTTCCCGGAAAAGGACTCGAATGGATGGGATATATCTCTTACTCTGGCTCAACCT
CTTACAACCCCTCTCTCAAATCTCGAATAACACCATCTCACGCGATACTTCTAAAAATCAATTCTCACTTCAACTTAAC
TCCGTTACTGCCGCCGACACTGCCGTTTACTACTGTGCTTCCTTCGATTACGCCCACGCTATGGATTATTGGGGACA
AGGAACTACCGTCACTGTCAGCTCAGCCAGCACAAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGC
ACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACT
CAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG
GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
TGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGTCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGG
GGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCG
TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG
CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG
ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTC
CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA
GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG
GAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCA
GAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
```

【図２０】

FIG. 20

heRX－１低危険度重鎖γ４

アミノ酸

MGWSCILFLVATATGVHSDVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVTDYSITSDYAWNWIRQFPGKKLEWMGYISYSGSTSYN
PSLKSRITISRDTSKNQFSLQLNSVTAADTATYYCASFDYAHAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY
GPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

ヌクレオチド cDNA

ATGGGATGGAGTTGCATTATACTTTTCCTCGTTGCCACCGCCACTGGAGTTCACTCTGACGTACAACTTCAAGAATC
TGGCCCAGGTCTCGTCAAACCTTCTCAAACTCTCTCACTCACCTGCACTGTTACTGACTACTCTATTACATCCGACTA
CGCTTGGAACTGGATCCGACAATTTCCTGGTAAAAAACTCGAATGGATGGGTTATATTTCTACTCTGGCTCCACCT
CCTACAATCCTTCTCTGAAATCACGCATCACAATTTCCCGCGATACCTCTAAAAATCAATTTTCACTCCAACTCAATT
CTGTTACCGCCGCCGATACTGCCACCTACTACTGTGCCTCTTTTGACTACGCTCACGCCATGGATTATTGGGGACAG
GTACTACCGTTACCGTAAGCTCAGCCAGCACAAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCA
TCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTC
AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGG
TGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT
GGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCATCATGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGACCATCA
GTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGA
CGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAC
GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC
TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCA
GGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCT
CTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA

ゲノム

ATGGGATGGAGTTGCATTATACTTTTCCTCGTTGCCACCGCCACTGGAGTTCACTCTGACGTACAACTTCAAGAATC
TGGCCCAGGTCTCGTCAAACCTTCTCAAACTCTCTCACTCACCTGCACTGTTACTGACTACTCTATTACATCCGACTA
CGCTTGGAACTGGATCCGACAATTTCCTGGTAAAAAACTCGAATGGATGGGTTATATTTCTACTCTGGCTCCACCT
CCTACAATCCTTCTCTGAAATCACGCATCACAATTTCCCGCGATACCTCTAAAAATCAATTTTCACTCCAACTCAATT
CTGTTACCGCCGCCGATACTGCCACCTACTACTGTGCCTCTTTTGACTACGCTCACGCCATGGATTATTGGGGACAG
GGTACTACCGTTACCGTAAGCTCAGCCAGCACAAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCA
CCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTC
AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGG
TGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT
GGACAAGAGAGTTGGTGAGAGGCCAGCACAGGGAGGGAGGGTGTCTGCTGGAAGCCAGGCTCAGCCCTCCTGCCT
GGACGCACCCCGGCTGTGCAGCCCCAGCCCAGGGCAGCAAGGCATGCCCCATCTGTCTCCTCACCCGGAGGCCTCT
GACCACCCCACTCATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTGGATTTTTCCACCAGGCTCCGGGCAGCCACAGGCTGGATGC
CCCTACCCCAGGCCCTGCGCATACAGGGGCAGCTGCTGCGCTCAGACCTGCCAAGAGCCATATCCGGGAGGACCCT
GCCCCTGACCTAAGCCCACCCCAAAGGCCAAACTCTCCACTCCCTCAGCTCAGACACCTTCTCTCCTCCCAGATCTG
AGTAACTCCCAATCTTCTCTCTGCAGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCATCATGCCCAGGTAAGCCAACCCAGG
CCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGGACAGGTGCCCTAGAGTAGCCTGCATCCAGGGACAGGCCCCAGCCGGGTGCTG
ACGCATCCACCTCCATCTCTTCCTCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCAAAAACCC
AAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGG
TCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACA
ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT
CTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGTGGGACCCACGGGGTGCGAGG
GCCACATGGACAGAGGTCAGCTCGGCCCACCCTCTGCCCTGGGAGTGACCGCTGTGCCAACCTCTGTCCCTACAGG
GCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGAC
CTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTA
CAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGG
TGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCT
CCCTGTCTCTGGGTAAATGA

【配列表】

2012162572000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	FI	テーマコード（参考）
	Ｃ０７Ｋ 16/24 ＺＮＡ	

(72)発明者 ウィリアム マイケル カバナフ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４５６３, オリンダ, オーチャード ロード ２２

Ｆターム(参考) 4C085 AA13 AA14 BB11 CC23 DD63 EE03
4H045 AA11 AA30 CA40 DA76 EA20 FA74

【外国語明細書】
2012162572000001.pdf