

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-518829

(P2015-518829A)

(43) 公表日 平成27年7月6日(2015.7.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C07K 16/28 (2006.01)</b>	C O 7 K 16/28 Z N A	4 B O 2 4
<b>A61K 39/395 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395 D	4 B O 6 4
<b>A61K 38/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395 N	4 B O 6 5
<b>A61K 47/48 (2006.01)</b>	A 6 1 K 37/02	4 C O 7 6
<b>A61K 47/34 (2006.01)</b>	A 6 1 K 47/48	4 C O 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 84 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2015-512763 (P2015-512763)	(71) 出願人	592221528
(86) (22) 出願日	平成25年5月14日 (2013.5.14)		バイオジェン・エムエイ・インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成26年12月22日 (2014.12.22)		Biogen MA Inc.
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/040988		アメリカ合衆国02142 マサチューセツ
(87) 国際公開番号	W02013/173364		州ケンブリッジ、ビニー・ストリート2
(87) 国際公開日	平成25年11月21日 (2013.11.21)		50番
(31) 優先権主張番号	61/646, 611	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成24年5月14日 (2012.5.14)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100113413
(31) 優先権主張番号	61/798, 398		弁理士 森下 夏樹
(32) 優先日	平成25年3月15日 (2013.3.15)	(72) 発明者	ミー, シャ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国 マサチューセツ 02
			478, ベルモント, ヴァーノン ロード 4
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 運動ニューロンに関する状態の処置のためのLINGO-2アンタゴニスト

## (57) 【要約】

本発明は、LINGO-2アンタゴニストを投与することによって、運動ニューロンの生存および軸索成長に関する疾患、障害または傷害（筋萎縮性側索硬化症を含む）を処置する方法を提供する。運動ニューロンの生存を促進するための例示的な方法であって、前記運動ニューロンと、LINGO-2アンタゴニストを含む有効量の組成物とを接触させることを含み、このLINGO-2アンタゴニストが、(i)可溶性LINGO-2ポリペプチド；(ii)LINGO-2抗体またはその抗原結合断片；(iii)LINGO-2アンタゴニストポリヌクレオチド；(iv)LINGO-2アプタマー；および(v)前記LINGO-2アンタゴニストのうちの2つ以上の組み合わせからなる群より選択される方法。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

L I N G O - 2 に特異的に結合することができる単離された抗体またはその抗原結合断片であって、運動ニューロンの生存を促進することができる、単離された抗体またはその抗原結合断片。

**【請求項 2】**

配列番号 2 のポリペプチドまたはその変異体の可溶性断片をコードするポリヌクレオチドを含む単離された核酸であって、前記ポリペプチドが運動ニューロンの生存を促進することができる、単離された核酸。

**【請求項 3】**

配列番号 2 のポリペプチドまたはその変異体の可溶性断片をコードするポリヌクレオチドを含む単離された核酸であって、前記ポリペプチドが運動ニューロンの軸索成長の阻害の低減の生存を促進することができる、単離された核酸。

**【請求項 4】**

配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 5 0 0 からなる群より選択される参照アミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、請求項 2 または 3 に記載の核酸。

**【請求項 5】**

該ポリペプチドが、前記参照アミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一のアミノ酸配列を含む、請求項 3 に記載の核酸。

**【請求項 6】**

該ポリペプチドが、前記参照アミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む、請求項 4 に記載の核酸。

**【請求項 7】**

前記ポリペプチドに融合された異種ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに含む、請求項 2 ~ 6 のいずれか一項に記載の核酸。

**【請求項 8】**

前記異種ポリペプチドが、免疫グロブリン、血清アルブミン、標的化ポリペプチド、レポーターポリペプチド、精製促進ポリペプチド、前記ポリペプチドのいずれかの断片、および前記ポリペプチドまたは断片の 2 つ以上の組み合わせからなる群より選択される、請求項 7 に記載の核酸。

**【請求項 9】**

前記異種ポリペプチドが、免疫グロブリン F c、ヒト血清アルブミンまたはその断片、ヒスチジントグ、および運動ニューロン糖タンパク質またはその断片からなる群より選択される、請求項 8 に記載の核酸。

**【請求項 10】**

薬学的に許容され得る担体と、請求項 2 ~ 9 のいずれか一項に記載の核酸とを含む、組成物。

**【請求項 11】**

請求項 2 ~ 9 のいずれか一項に記載の核酸を含む、ベクター。

**【請求項 12】**

前記核酸が発現制御配列に作動可能に連結されている、請求項 11 に記載のベクター。

**【請求項 13】**

前記ベクターがウイルスベクターである、請求項 12 に記載のベクター。

**【請求項 14】**

前記ウイルスベクターが、アデノウイルスベクター、レンチウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、エプスタインバーウイルスベクター、パポバウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、および単純ヘルペスウイルスベクターからなる群より選択される、請求項 13 に記載のベクター。

**【請求項 15】**

請求項 2 ~ 9 のいずれか一項に記載の核酸、または請求項 11 ~ 14 のいずれか一項に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 16】

前記ポリペプチドを発現する、請求項 15 に記載の宿主細胞。

【請求項 17】

請求項 2 ~ 9 のいずれか一項に記載の核酸によってコードされる、単離されたポリペプチド。

【請求項 18】

合成的に生産される、請求項 17 に記載のポリペプチド。

【請求項 19】

ポリマーにコンジュゲートされている、請求項 17 または 18 に記載のポリペプチド。

【請求項 20】

前記ポリマーが、ポリアルキレングリコール、糖ポリマーおよびポリペプチドからなる群より選択される、請求項 19 に記載のポリペプチド。

【請求項 21】

前記ポリアルキレングリコールがポリエチレングリコール (PEG) である、請求項 20 に記載のポリペプチド。

【請求項 22】

1 個、2 個、3 個または 4 個のポリマーにコンジュゲートされている、請求項 19 ~ 21 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 23】

該ポリマーの総分子量が 20,000 Da ~ 40,000 Da である、請求項 22 に記載のポリペプチド。

【請求項 24】

請求項 17 または 18 に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、運動ニューロンの生存を促進することができる、抗体または抗体結合断片。

【請求項 25】

請求項 17 または 18 に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、運動ニューロンの軸索成長の阻害を低減することができる、抗体または抗体結合断片。

【請求項 26】

薬学的に許容され得る担体、請求項 17 ~ 23 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、組成物。

【請求項 27】

薬学的に許容され得る担体、請求項 15 または 16 に記載の宿主細胞を含む、組成物。

【請求項 28】

運動ニューロンの生存を促進するための方法であって、前記運動ニューロンと、

(i) 可溶性 LINGO-2 ポリペプチド；  
 (ii) LINGO-2 抗体またはその抗原結合断片；  
 (iii) LINGO-2 アンタゴニストポリヌクレオチド；  
 (iv) LINGO-2 アプタマー；および  
 (v) 前記 LINGO-2 アンタゴニストのうちの 2 つ以上の組み合わせ  
 からなる群より選択される LINGO-2 アンタゴニストを含む有効量の組成物とを接触させることを含む、方法。

【請求項 29】

運動ニューロンの軸索成長を促進するための方法であって、前記運動ニューロンと、

(i) 可溶性 LINGO-2 ポリペプチド；  
 (ii) LINGO-2 抗体またはその抗原結合断片；  
 (iii) LINGO-2 アンタゴニストポリヌクレオチド；

10

20

30

40

50

( i v ) L I N G O - 2 アブタマー ; および  
 ( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストの 2 つ以上の組み合わせ  
 からなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む組成物とを接触させるこ  
 とを含む、方法。

【請求項 3 0】

哺乳動物における運動ニューロンの生存を促進するための方法であって、

( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド ;  
 ( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片 ;  
 ( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド ;  
 ( i v ) L I N G O - 2 アブタマー ; および  
 ( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストのうちの 2 つ以上の組み合わせ  
 からなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む有効量の組成物を、それ  
 を必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

10

【請求項 3 1】

哺乳動物における運動ニューロンの軸索成長を促進するための方法であって、

( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド ;  
 ( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片 ;  
 ( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド ;  
 ( i v ) L I N G O - 2 アブタマー ; および  
 ( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストのうちの 2 つ以上の組み合わせ  
 からなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む有効量の組成物を、それ  
 を必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

20

【請求項 3 2】

哺乳動物における運動ニューロンの生存に関連する疾患、障害または傷害を処置するた  
 めの方法であって、

( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド ;  
 ( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片 ;  
 ( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド ;  
 ( i v ) L I N G O - 2 アブタマー ; および  
 ( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストのうちの 2 つ以上の組み合わせ  
 からなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む治療有効量の組成物を、  
 それを必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

30

【請求項 3 3】

哺乳動物における運動ニューロンの軸索成長に関連する疾患、障害または傷害を処置す  
 るための方法であって、

( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド ;  
 ( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片 ;  
 ( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド ;  
 ( i v ) L I N G O - 2 アブタマー ; および  
 ( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストのうちの 2 つ以上の組み合わせ  
 からなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む治療有効量の組成物を、  
 それを必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

40

【請求項 3 4】

前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドである、請求  
 項 2 8 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが、請求項 1 7 ~ 2 3 のいずれか一項に記載のポリ  
 ペプチドを含む、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

前記可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドが、

50

( i ) L I N G O - 2 の I g ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体、  
 ( i i ) L I N G O - 2 の L R R ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体、および  
 ( i i i ) 前記 L I N G O - 2 ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体の組み合わせ  
 からなる群より選択される L I N G O - 2 領域を含む、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドが、  
 ( i ) L I N G O - 2 の膜貫通ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体、  
 ( i i ) L I N G O - 2 の細胞内ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体、および  
 ( i i i ) 前記 L I N G O - 2 ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体の組み合わせ  
 からなる群より選択される L I N G O - 2 領域を欠く、請求項 3 5 または請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片である、請求項 2 8 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記 L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片が、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合断片である、請求項 1 1 9 に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチドを含む、請求項 2 8 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記 L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチドが、  
 ( i ) アンチセンスポリヌクレオチド；  
 ( i i ) リボザイム；  
 ( i i i ) 低分子干渉 RNA ( s i R N A ) ；および  
 ( i v ) 低分子ヘアピン RNA ( s h R N A )  
 からなる群より選択される、請求項 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが L I N G O - 2 アプタマーを含む、請求項 2 8 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記哺乳動物が、運動ニューロンに関する疾患、障害または傷害と診断されたものである、請求項 3 0 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記疾患、障害または傷害が、筋萎縮性側索硬化症 ( A L S ) 、原発性側索硬化症 ( P L S ) 、進行性筋萎縮症 ( P M A ) 、遺伝性痙性対麻痺 ( H S P ) 、X連鎖球脊髄性筋萎縮症 ( S B M A ；ケニー病 ) 、進行性球麻痺、偽性球麻痺、脊髄性筋萎縮症 ( S M A ) 、ポリオ後症候群 ( P P S ) 、ハンチントン病、本態性振戦 ( E T ) 、運動ニューロン疾患、麻痺およびパーキンソン病からなる群より選択される、請求項 3 2 、3 3 および 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記疾患、障害または傷害が筋萎縮性側索硬化症 ( A L S ) である、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

ボラス注射または慢性注入によって、前記 L I N G O - 2 アンタゴニストを投与する、請求項 2 8 ~ 4 5 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 47】

前記 L I N G O - 2 アンタゴニストを中枢神経系に直接投与する、請求項 28 ~ 45 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 48】

前記 L I N G O - 2 アンタゴニストを全身投与する、請求項 28 ~ 45 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 49】

(a) 発現制御配列への作動可能な連結により前記 L I N G O - 2 アンタゴニストをコードするポリヌクレオチドで前記運動ニューロンをトランスフェクトすること、および (b) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストを発現させることを含む、請求項 28 または 29 に記載の方法。

10

## 【請求項 50】

(a) 発現制御配列への作動可能な連結により前記 L I N G O - 2 アンタゴニストをコードするポリヌクレオチドを前記哺乳動物に投与すること、および (b) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストを発現させることを含む、請求項 30 ~ 48 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 51】

発現ベクターとして前記ポリヌクレオチドを投与する、請求項 50 に記載の方法。

## 【請求項 52】

前記発現ベクターがウイルスベクターである、請求項 51 に記載の方法。

20

## 【請求項 53】

該ウイルスベクターが、アデノウイルスベクター、アルファウイルスベクター、エンテロウイルスベクター、ペスチウイルスベクター、レンチウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、ヘルペスウイルスベクター、パポバウイルスベクターおよびボックスウイルスベクターからなる群より選択される、請求項 52 に記載の方法。

## 【請求項 54】

前記投与が、(a) 前記ポリヌクレオチドを含む培養宿主細胞であって、前記 L I N G O - 2 アンタゴニストを発現する培養宿主細胞を提供すること；および (b) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが前記哺乳動物で発現されるように、前記培養宿主細胞を前記哺乳動物に導入することを含む、請求項 50 ~ 53 のいずれか一項に記載の方法。

30

## 【請求項 55】

前記培養宿主細胞が、処置すべき哺乳動物に由来する、請求項 54 に記載の方法。

## 【請求項 56】

局所投与、眼内投与、非経口投与、髄腔内投与、硬膜下投与および皮下投与からなる群より選択される経路によって、前記ベクターを投与する、請求項 51 ~ 55 のいずれか一項に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【背景技術】

40

## 【0001】

発明の背景

運動ニューロンは、筋肉機能を制御するニューロンである。それらは中枢神経系に位置し、筋肉を制御するために中枢神経系の外側に伸びる軸索を有する。通常、脳に位置する上位運動ニューロンは、脊髄に位置する下位運動ニューロンにシグナルを送り、下位運動ニューロンが筋活動を指令する。当然のことながら、筋肉は、呼吸、嚥下、会話および歩行を含む多くの活動に重要である。したがって、運動ニューロンの損傷または運動ニューロン機能の低下には壊滅的な臨床効果がある場合があり、運動ニューロンに関連する多数の症状が同定されている。

## 【0002】

50

このような症状としては、限定されないが、以下の疾患、障害および傷害が挙げられる：筋萎縮性側索硬化症（ALS）、原発性側索硬化症（PLS）、進行性筋萎縮症（PMA）、遺伝性痙性対麻痺（HSP）、X連鎖球脊髄性筋萎縮症（SBMA；ケニー病）、進行性球麻痺、偽性球麻痺、脊髄性筋萎縮症（SMA）、ポリオ後症候群（PPS）、ハンチントン病、本態性振戦（ET）、運動ニューロン疾患、麻痺およびパーキンソン病。ALSは、これらの疾患の代表的なものの1つであり、毎年、100,000人に1～2人がALSを発症している。ALSは、上位運動ニューロンおよび下位運動ニューロンの両方の破壊に関連する急速進行性疾患であり、随意筋運動の喪失をもたらす。

#### 【0003】

損傷ニューロンに関連するある特定のナトリウムチャネル *that* を遮断するリルゾールの使用を含むいくつかの疾患修飾処置が、ALSおよび他の運動ニューロン関連疾患に利用可能である。このような処置は疾患進行を遅らせ得るが、現在のところ、運動ニューロン疾患の治療法はない。したがって、運動ニューロンの軸索の再生を促進し、および/または運動ニューロンの生存を促進する治療が、不十分な運動ニューロン機能に関連する疾患を有する患者にとって非常に必要である。

#### 【発明の概要】

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0004】

##### 発明の簡単な概要

LINGO-2（FLJ31810、ロイシンリッチリピートおよび免疫グロブリン様ドメイン含有nog受容体相互作用タンパク質2、LERN3、ロイシンリッチリピート神経タンパク質3、ロイシンリッチリピート神経タンパク質6C、LRRN6C、PRO31993またはUNQ9234）は、皮質ニューロンおよび後根神経節（DRG）ニューロンで発現しており、運動ニューロンの生存および運動ニューロンの軸索長を負に調節する。LINGO-2アンタゴニストは、インビボおよびインビトロの両方で運動ニューロンの生存および成長を促進するのに使用することができる。例えば、抗体、その抗原結合断片およびその誘導体は、LINGO-2アンタゴニストとして使用することができる。可溶性LINGO-2ポリペプチド、およびLINGO-2領域に対応するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含有する核酸もLINGO-2アンタゴニストとして使用することができる。したがって、運動ニューロンとLINGO-2アンタゴニストとを接触させることによって、運動ニューロンの生存および運動ニューロンの軸索成長を促進するための方法が本明細書で提供される。

#### 【0005】

本発明のある特定の実施形態は、以下のものを包含する（各実施形態は、大文字「E」の後の数字によって示される）：

#### 【0006】

E1）C09抗体と同じLINGO-2エピトープに特異的に結合することができる、単離された結合分子。

#### 【0007】

E2）C09抗体がLINGO-2に結合するのを競合的に阻害する、E1に記載の単離された結合分子。

#### 【0008】

E3）C09抗体の少なくとも1つの相補性決定領域（CDR）を含む、単離された結合分子。

#### 【0009】

E4）抗体またはその抗原結合断片を含む、E1～E3のいずれか一項に記載の結合分子。

#### 【0010】

E5）C09の可変重ドメイン（VH）CDR1～3を含み、1つ以上のVH CDRが3個以下の単一アミノ酸置換を有する、E1～E4のいずれか一項に記載の結合分子。

- 【 0 0 1 1 】  
E 6 ) C 0 9 の V H C D R 1 ~ 3 を含む、E 5 に記載の結合分子。
- 【 0 0 1 2 】  
E 7 ) C 0 9 の可変軽ドメイン ( V L ) C D R 1 ~ 3 を含み、1 つ以上の V L C D R が 3 個以下の単一アミノ酸置換を有する、E 1 ~ E 6 のいずれか一項に記載の結合分子。
- 【 0 0 1 3 】  
E 8 ) C 0 9 の V L C D R 1 ~ 3 を含む、E 7 に記載の結合分子。
- 【 0 0 1 4 】  
E 9 ) C 0 9 の V H C D R 1 ~ 3 および V L C D R 1 ~ 3 を含む、E 1 ~ E 4 のいずれか一項に記載の結合分子。 10
- 【 0 0 1 5 】  
E 1 0 ) 該 V H が、C 0 9 の V H と少なくとも 8 5 %、9 0 % または 9 5 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む、E 1 ~ E 9 のいずれか一項に記載の結合分子。
- 【 0 0 1 6 】  
E 1 1 ) 該 V H が、C 0 9 の V H と同一のアミノ酸配列を含む、E 1 0 に記載の結合分子。
- 【 0 0 1 7 】  
E 1 2 ) C 0 9 の V L と少なくとも 8 5 %、9 0 % または 9 5 % 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む、E 1 ~ E 1 1 のいずれか一項に記載の結合分子。
- 【 0 0 1 8 】 20  
E 1 3 ) 該 V L が、C 0 9 の V L と同一のアミノ酸配列を含む、E 1 2 に記載の結合分子。
- 【 0 0 1 9 】  
E 1 4 ) C 0 9 の V H および V L と少なくとも 8 5 %、9 0 % または 9 5 % 同一のアミノ酸配列を含む V H および V L を含む、E 1 ~ E 1 3 のいずれか一項に記載の結合分子。
- 【 0 0 2 0 】  
E 1 5 ) 該 V H および V L が、C 0 9 の V H および V L と同一のアミノ酸配列を含む、E 1 4 に記載の結合分子。
- 【 0 0 2 1 】  
E 1 6 ) L I N G O - 2 の L R R ドメインに結合する、E 1 ~ E 1 5 のいずれか一項に記載の結合分子。 30
- 【 0 0 2 2 】  
E 1 7 ) L I N G O - 2 の L R R 7 ~ L R R 1 2 におけるエピトープに結合する、E 1 6 に記載の結合分子。
- 【 0 0 2 3 】  
E 1 8 ) 配列番号 2 のアミノ酸 2 0 2 ~ 3 4 3 におけるエピトープに結合する、E 1 6 に記載の結合分子。
- 【 0 0 2 4 】  
E 1 9 ) 配列番号 2 のアミノ酸 2 8 ~ 4 0 8 または配列番号 2 のアミノ酸 4 1 0 ~ 5 0 0 の L I N G O - 2 領域に結合する、E 1 ~ E 1 8 のいずれか一項に記載の結合分子。 40
- 【 0 0 2 5 】  
E 2 0 ) ヒト、ラットおよびマウス L I N G O - 2 に結合する、E 1 ~ E 1 9 のいずれか一項に記載の結合分子。
- 【 0 0 2 6 】  
E 2 1 ) ヒトおよびラット L I N G O - 2 に結合する、E 1 ~ E 1 9 のいずれか一項に記載の結合分子。
- 【 0 0 2 7 】  
E 2 2 ) ヒトおよびマウス L I N G O - 2 に結合する、E 1 ~ E 1 9 のいずれか一項に記載の結合分子。
- 【 0 0 2 8 】 50

E 2 3 ) ヒト L I N G O - 2 に結合する、E 1 ~ E 1 9 のいずれか一項に記載の結合分子。

【 0 0 2 9 】

E 2 4 ) 運動ニューロンの生存を促進する、E 1 ~ E 2 3 のいずれか一項に記載の結合分子。

【 0 0 3 0 】

E 2 5 ) 運動ニューロンの軸索成長を促進する、E 1 ~ E 2 4 のいずれか一項に記載の結合分子。

【 0 0 3 1 】

E 2 6 ) オリゴデンドロサイト分化を促進する、E 1 ~ E 2 5 のいずれか一項に記載の結合分子。

10

【 0 0 3 2 】

E 2 7 ) 髄鞘形成を促進する、E 1 ~ E 2 6 のいずれか一項に記載の結合分子。

【 0 0 3 3 】

E 2 8 ) A K T リン酸化を促進する、E 1 ~ E 2 7 のいずれか一項に記載の結合分子。

【 0 0 3 4 】

E 2 9 ) ヒト抗体、キメラ抗体またはヒト化抗体を含む、E 1 ~ E 2 8 のいずれか一項に記載の結合分子。

【 0 0 3 5 】

E 3 0 ) 天然に存在する抗体、s c F v 断片、F a b 断片、F ( a b ' ) 2 断片、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディまたは一本鎖抗体を含む、E 1 ~ E 2 8 のいずれか一項に記載の結合分子。

20

【 0 0 3 6 】

E 3 1 ) モノクローナル抗体を含む、E 1 ~ E 2 8 のいずれか一項に記載の結合分子。

【 0 0 3 7 】

E 3 2 ) 該 V H が、C 0 9 の V H C D R 1 ~ 3 を含む V H をコードする核酸を含む、単離されたポリヌクレオチド。

【 0 0 3 8 】

E 3 3 ) 該 V H が、C 0 9 の V H と少なくとも 8 5 %、9 0 % もしくは 9 5 % 同一であるかまたはこれと同一のアミノ酸配列を含む V H をコードする核酸を含む、単離されたポリヌクレオチド。

30

【 0 0 3 9 】

E 3 4 ) 該 V L が、C 0 9 の V L C D R 1 ~ 3 を含む V L をコードする核酸を含む、単離されたポリヌクレオチド。

【 0 0 4 0 】

E 3 5 ) 該 V L が、C 0 9 の V L と少なくとも 8 5 %、9 0 % もしくは 9 5 % 同一であるかまたはこれと同一のアミノ酸配列を含む V L をコードする核酸を含む、単離されたポリヌクレオチド。

【 0 0 4 1 】

E 3 6 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 に特異的に結合することができる、E 3 2 ~ E 3 5 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

40

【 0 0 4 2 】

E 3 7 ) 該抗体またはその抗原結合断片が、C 0 9 抗体と同じエピトープに特異的に結合する、E 3 6 に記載のポリヌクレオチド。

【 0 0 4 3 】

E 3 8 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 の L R R ドメインに結合することができる、E 3 2 ~ E 3 7 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【 0 0 4 4 】

50

E 3 9 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 の L R R 7 ~ L R R 1 2 におけるエピトープに結合することができる、E 3 2 ~ E 3 7 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【 0 0 4 5 】

E 4 0 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 2 のアミノ酸 2 8 ~ 4 0 8 または配列番号 2 のアミノ酸 4 1 0 ~ 5 0 0 の L I N G O - 2 領域に結合することができる、E 3 2 ~ E 3 7 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【 0 0 4 6 】

E 4 1 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 のアミノ酸 2 0 2 ~ 3 4 3 におけるエピトープに結合することができる、E 3 2 ~ E 3 7 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

10

【 0 0 4 7 】

E 4 2 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒト、ラットおよびマウス L I N G O - 2 に結合することができる、E 3 2 ~ E 4 1 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【 0 0 4 8 】

E 4 3 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒトおよびラット L I N G O - 2 に結合することができる、E 3 2 ~ E 4 1 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

20

【 0 0 4 9 】

E 4 4 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒトおよびマウス L I N G O - 2 に結合することができる、E 3 2 ~ E 4 1 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【 0 0 5 0 】

E 4 5 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒト L I N G O - 2 に結合することができる、E 3 2 ~ E 4 1 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【 0 0 5 1 】

E 4 6 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、運動ニューロンの生存を促進することができる、E 3 2 ~ E 4 5 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

30

【 0 0 5 2 】

E 4 7 ) 前記 V H、前記 V L、または前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、運動ニューロンの軸索成長を促進することができる、E 3 2 ~ E 4 5 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド。

【 0 0 5 3 】

E 4 8 ) E 1 ~ E 3 1 のいずれか一項に記載の結合分子をコードする、ポリヌクレオチド。

【 0 0 5 4 】

E 4 9 ) E 3 2 ~ E 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

40

【 0 0 5 5 】

E 5 0 ) V H をコードする核酸を含むポリヌクレオチドと、V L をコードする核酸を含むポリヌクレオチドとを含む組成物であって、該 V H および該 V L が、C 0 9 の V H および V L と少なくとも 8 5 %、9 0 % もしくは 9 5 % 同一であるかまたはこれらと同一のアミノ酸配列を含む、組成物。

【 0 0 5 6 】

E 5 1 ) V H をコードする核酸を含むポリヌクレオチドと、V L をコードする核酸を含むポリヌクレオチドとを含む組成物であって、該 V H C D R 1 ~ 3 および該 V L C D R 1 ~ 3 が、C 0 9 の V H C D R 1 ~ 3 および V L C D R 1 ~ 3 である、組成物。

50

## 【 0 0 5 7 】

E 5 2 ) V H をコードする核酸を含む該ポリヌクレオチドと、V L をコードする核酸を含む該ポリヌクレオチドとが同じベクターの中にある、E 5 0 または E 5 1 に記載の組成物。

## 【 0 0 5 8 】

E 5 3 ) V H をコードする核酸を含む該ポリヌクレオチドと、V L をコードする核酸を含む該ポリヌクレオチドとが異なるベクターの中にある、E 5 0 または E 5 1 に記載の組成物。

## 【 0 0 5 9 】

E 5 4 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 に特異的に結合することができる、E 5 0 ~ E 5 3 のいずれか一項に記載の組成物。

10

## 【 0 0 6 0 】

E 5 5 ) 該抗体またはその抗原結合断片が、C 0 9 抗体と同じエピトープに特異的に結合することができる、E 5 4 に記載の組成物。

## 【 0 0 6 1 】

E 5 6 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 の L R R ドメインに結合することができる、E 5 0 ~ E 5 5 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【 0 0 6 2 】

E 5 7 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 の L R R 2 ~ L R R 7 におけるエピトープに結合することができる、E 5 0 ~ E 5 5 のいずれか一項に記載の組成物。

20

## 【 0 0 6 3 】

E 5 8 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 2 のアミノ酸 2 8 ~ 4 0 8 または配列番号 2 のアミノ酸 4 1 0 ~ 5 0 0 の L I N G O - 2 領域に結合することができる、E 5 0 ~ E 5 5 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【 0 0 6 4 】

E 5 9 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 のアミノ酸 2 0 2 ~ 3 4 3 におけるエピトープに結合することができる、E 5 0 ~ E 5 5 のいずれか一項に記載の組成物。

30

## 【 0 0 6 5 】

E 6 0 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒト、ラットおよびマウス L I N G O - 2 に結合することができる、E 5 0 ~ E 5 9 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【 0 0 6 6 】

E 6 1 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒトおよびラット L I N G O - 2 に結合することができる、E 5 0 ~ E 5 9 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【 0 0 6 7 】

E 6 2 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒトおよびマウス L I N G O - 2 に結合することができる、E 5 0 ~ E 5 9 のいずれか一項に記載の組成物。

40

## 【 0 0 6 8 】

E 6 3 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒト L I N G O - 2 に結合することができる、E 5 0 ~ E 5 9 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【 0 0 6 9 】

E 6 4 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、運動ニューロンの生存を促進することができる、E 5 0 ~ E 6 3 のいずれか一項に記載の組成物。

## 【 0 0 7 0 】

E 6 5 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、運動ニューロ

50

ンの軸索成長を促進することができる、E 5 0 ~ E 6 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【0071】

E 6 6 ) E 3 2 ~ E 4 7 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドによってコードされる、ポリペプチド。

【0072】

E 6 7 ) V H ポリペプチドと、V L ポリペプチドとを含む組成物であって、該 V H および該 V L が、C 0 9 の V H および V L と少なくとも 8 5 %、9 0 % もしくは 9 5 % 同一であるかまたはこれらと同一のアミノ酸配列を含む、組成物。

【0073】

E 6 8 ) V H ポリペプチドと、V L ポリペプチドとを含む組成物であって、該 V H C D R 1 ~ 3 および該 V L C D R 1 ~ 3 が、C 0 9 の V H C D R 1 ~ 3 および V L C D R 1 ~ 3 である、組成物。

10

【0074】

E 6 9 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 に特異的に結合することができる、E 6 7 または E 6 8 に記載の組成物。

【0075】

E 7 0 ) 該抗体またはその抗原結合断片が、C 0 9 抗体と同じエピトープに特異的に結合することができる、E 6 9 に記載の組成物。

【0076】

E 7 1 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 の L R R ドメインに結合することができる、E 6 7 ~ E 7 0 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【0077】

E 7 2 ) 前記 V H または前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 の L R R 7 ~ L R R 1 2 におけるエピトープに結合することができる、E 6 7 ~ E 7 0 のいずれか一項に記載の組成物。

【0078】

E 7 3 ) 前記 V H または前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 2 のアミノ酸 2 8 ~ 4 0 8 または配列番号 2 のアミノ酸 4 1 0 ~ 5 0 0 の L I N G O - 2 領域に結合することができる、E 6 7 ~ E 7 0 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【0079】

E 7 4 ) 前記 V H または前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、L I N G O - 2 のアミノ酸 2 0 2 ~ 3 4 3 におけるエピトープに結合することができる、E 6 7 ~ E 7 0 のいずれか一項に記載の組成物。

【0080】

E 7 5 ) 前記 V H または前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒト、ラットおよびマウス L I N G O - 2 に結合することができる、E 6 7 ~ E 7 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【0081】

E 7 6 ) 前記 V H または前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒトおよびラット L I N G O - 2 に結合することができる、E 6 7 ~ E 7 4 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【0082】

E 7 7 ) 前記 V H または前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒトおよびマウス L I N G O - 2 に結合することができる、E 6 7 ~ E 7 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【0083】

E 7 8 ) 前記 V H または前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、ヒト L I N G O - 2 に結合することができる、E 6 7 ~ E 7 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【0084】

50

E 7 9 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、運動ニューロンの生存を促進することができる、E 6 7 ~ E 7 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【 0 0 8 5 】

E 8 0 ) 前記 V H および前記 V L を含む抗体またはその抗原結合断片が、運動ニューロンの軸索成長を促進することができる、E 6 7 ~ E 7 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【 0 0 8 6 】

E 8 1 ) E 3 2 ~ E 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、E 4 9 に記載のベクター、E 5 0 ~ E 6 5 もしくは E 6 7 ~ E 8 0 のいずれか一項に記載の組成物、または E 6 6 に記載のポリペプチドを含む、宿主細胞。

【 0 0 8 7 】

E 8 2 ) 抗 L I N G O - 2 結合分子を生産する方法であって、E 8 1 に記載の宿主細胞を培養すること、および前記結合分子を回収することを含む、方法。

【 0 0 8 8 】

E 8 3 ) E 8 2 に記載の方法によって生産される、抗 L I N G O - 2 結合分子。

【 0 0 8 9 】

E 8 4 ) 試料における L I N G O - 2 発現を検出するための方法であって、( a ) 前記試料と、E 1 ~ E 3 1 または E 8 3 のいずれか一項に記載の結合分子とを接触させること、および ( b ) 前記試料における前記結合分子の結合を検出することを含む、方法。

【 0 0 9 0 】

E 8 5 ) ( a ) E 1 ~ E 3 1 もしくは E 8 3 のいずれか一項に記載の結合分子、E 3 2 ~ E 4 8 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド、E 4 9 に記載のベクター、E 5 0 ~ E 6 5 もしくは E 6 7 ~ E 8 0 のいずれか一項に記載の組成物、E 6 6 に記載のポリペプチド、または E 8 1 に記載の宿主細胞、および ( b ) 担体を含む、医薬組成物。

【 0 0 9 1 】

E 8 6 ) 配列番号 2 のポリペプチドまたはその変異体の可溶性断片をコードするポリヌクレオチドを含む単離された核酸であって、前記ポリペプチドが運動ニューロンの生存を促進することができる、単離された核酸。

【 0 0 9 2 】

E 8 7 ) 配列番号 2 のポリペプチドまたはその変異体の可溶性断片をコードするポリヌクレオチドを含む単離された核酸であって、前記ポリペプチドが運動ニューロンの軸索成長の阻害の低減の生存を促進することができる、単離された核酸。

【 0 0 9 3 】

E 8 8 ) 配列番号 2 のアミノ酸 1 ~ 5 0 0 からなる群より選択される参照アミノ酸配列と少なくとも 9 0 % 同一のアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む、E 8 6 または E 8 7 に記載の核酸。

【 0 0 9 4 】

E 8 9 ) 該ポリペプチドが、前記参照アミノ酸配列と少なくとも 9 5 % 同一のアミノ酸配列を含む、E 8 8 に記載の核酸。

【 0 0 9 5 】

E 9 0 ) 該ポリペプチドが、前記参照アミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む、E 8 8 に記載の核酸。

【 0 0 9 6 】

E 9 1 ) 前記ポリペプチドに融合された異種ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに含む、E 8 6 ~ E 9 0 のいずれか一項に記載の核酸。

【 0 0 9 7 】

E 9 2 ) 前記異種ポリペプチドが、免疫グロブリン、血清アルブミン、標的化ポリペプチド、レポーターポリペプチド、精製促進ポリペプチド、前記ポリペプチドのいずれかの断片、および前記ポリペプチドまたは断片の 2 つ以上の組み合わせからなる群より選択される、E 9 1 に記載の核酸。

【 0 0 9 8 】

10

20

30

40

50

E 9 3 ) 前記異種ポリペプチドが、免疫グロブリンFc、ヒト血清アルブミンまたはその断片、ヒスチジntag、および運動ニューロン糖タンパク質またはその断片からなる群より選択される、E 9 2 に記載の核酸。

【0099】

E 9 4 ) 薬学的に許容され得る担体と、E 8 6 ~ E 9 3 のいずれか一項に記載の核酸とを含む、組成物。

【0100】

E 9 5 ) E 8 6 ~ E 9 3 のいずれか一項に記載の核酸を含む、ベクター。

【0101】

E 9 6 ) 前記核酸が発現制御配列に作動可能に連結されている、E 9 5 に記載のベクター。 10

【0102】

E 9 7 ) 前記ベクターがウイルスベクターである、E 9 6 に記載のベクター。

【0103】

E 9 8 ) 前記ウイルスベクターが、アデノウイルスベクター、レンチウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、エプスタインバーウイルスベクター、パポバウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、および単純ヘルペスウイルスベクターからなる群より選択される、E 9 7 に記載のベクター。

【0104】

E 9 9 ) E 8 6 ~ E 9 3 のいずれか一項に記載の核酸、またはE 9 5 ~ E 9 8 のいずれか一項に記載のベクターを含む、宿主細胞。 20

【0105】

E 1 0 0 ) 前記ポリペプチドを発現する、E 9 9 に記載の宿主細胞。

【0106】

E 1 0 1 ) E 8 6 ~ E 9 3 のいずれか一項に記載の核酸によってコードされる、単離されたポリペプチド。

【0107】

E 1 0 2 ) 合成的に生産される、E 1 0 1 に記載のポリペプチド。

【0108】

E 1 0 3 ) ポリマーにコンジュゲートされている、E 1 0 1 またはE 1 0 2 に記載のポリペプチド。 30

【0109】

E 1 0 4 ) 前記ポリマーが、ポリアルキレングリコール、糖ポリマーおよびポリペプチドからなる群より選択される、E 1 0 3 に記載のポリペプチド。

【0110】

E 1 0 5 ) 前記ポリアルキレングリコールがポリエチレングリコール(PEG)である、E 1 0 4 に記載のポリペプチド。

【0111】

E 1 0 6 ) 1 個、2 個、3 個または4 個のポリマーにコンジュゲートされている、E 1 0 3 ~ E 1 0 5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。 40

【0112】

E 1 0 7 ) 該ポリマーの総分子量が20,000Da~40,000Daである、E 1 0 6 に記載のポリペプチド。

【0113】

E 1 0 8 ) E 1 0 1 またはE 1 0 2 に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、運動ニューロンの生存を促進することができる、抗体またはその抗原結合断片。

【0114】

E 1 0 9 ) E 1 0 1 またはE 1 0 2 に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、運動ニューロンの軸索成長の阻害を低減する 50

ことができる、抗体またはその抗原結合断片。

【0115】

E110) E101またはE102に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、オリゴデンドロサイト分化を促進することができる、抗体またはその抗原結合断片。

【0116】

E111) E101またはE102に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、髄鞘形成を促進することができる、抗体またはその抗原結合断片。

【0117】

E112) E101またはE102に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、AKTリン酸化を促進することができる、抗体またはその抗原結合断片。

【0118】

E113) E101またはE102に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、LINGO-2のLRRドメインに対する、抗体またはその抗原結合断片。

【0119】

E114) E101またはE102に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、配列番号2のアミノ酸202～343におけるエピトープに対する、抗体またはその抗原結合断片。

【0120】

E115) E101またはE102に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、配列番号2のアミノ酸28～408または配列番号2のアミノ酸410～500のLINGO-2領域に結合する、抗体またはその抗原結合断片。

【0121】

E116) E101またはE102に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、LINGO-2のLRRNTまたはLRRCTドメインに結合する、抗体またはその抗原結合断片。

【0122】

E117) E101またはE102に記載のポリペプチドに特異的に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、LINGO-2の免疫グロブリンドメインに結合する、抗体またはその抗原結合断片。

【0123】

E118) 薬学的に許容され得る担体、E102～E107のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、組成物。

【0124】

E119) 薬学的に許容され得る担体、E99またはE100に記載の宿主細胞を含む、組成物。

【0125】

E120) 運動ニューロンの生存を促進するための方法であって、前記運動ニューロンと、(i)可溶性LINGO-2ポリペプチド；(ii)LINGO-2抗体またはその抗原結合断片；(iii)LINGO-2アンタゴニストポリヌクレオチド；(iv)LINGO-2アプタマー；および(v)前記LINGO-2アンタゴニストの2つ以上の組み合わせからなる群より選択されるLINGO-2アンタゴニストを含む有効量の組成物とを接触させることを含む、方法。

【0126】

E121) 運動ニューロンの軸索成長を促進するための方法であって、前記運動ニューロンと、(i)可溶性LINGO-2ポリペプチド；(ii)LINGO-2抗体または

10

20

30

40

50

その抗原結合断片；( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド；( i v ) L I N G O - 2 アプタマー；および( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストの 2 つ以上の組み合わせからなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む組成物とを接触させることを含む、方法。

【 0 1 2 7 】

E 1 2 2 ) 哺乳動物における運動ニューロンの生存を促進するための方法であって、( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド；( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片；( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド；( i v ) L I N G O - 2 アプタマー；および( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストの 2 つ以上の組み合わせからなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む有効量の組成物を、それを必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

10

【 0 1 2 8 】

E 1 2 3 ) 哺乳動物における運動ニューロンの軸索成長を促進するための方法であって、( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド；( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片；( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド；( i v ) L I N G O - 2 アプタマー；および( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストの 2 つ以上の組み合わせからなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む有効量の組成物を、それを必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

【 0 1 2 9 】

E 1 2 4 ) 哺乳動物における運動ニューロンの生存に関連する疾患、障害または傷害を処置するための方法であって、( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド；( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片；( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド；( i v ) L I N G O - 2 アプタマー；および( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストの 2 つ以上の組み合わせからなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む治療有効量の組成物を、それを必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

20

【 0 1 3 0 】

E 1 2 5 ) 哺乳動物における運動ニューロンの軸索成長に関連する疾患、障害または傷害を処置するための方法であって、( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド；( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片；( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド；( i v ) L I N G O - 2 アプタマー；および( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストの 2 つ以上の組み合わせからなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む治療有効量の組成物を、それを必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

30

【 0 1 3 1 】

E 1 2 6 ) 哺乳動物におけるオリゴデンドロサイトの死または分化の欠如に関連する疾患、障害または傷害を処置するための方法であって、( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド；( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片；( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド；( i v ) L I N G O - 2 アプタマー；および( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストの 2 つ以上の組み合わせからなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む治療有効量の組成物を、それを必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

40

【 0 1 3 2 】

E 1 2 7 ) 哺乳動物における脱髄 ( d e m y l i n a t i o n ) に関連する疾患、障害または傷害を処置するための方法であって、( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド；( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片；( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド；( i v ) L I N G O - 2 アプタマー；および( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストの 2 つ以上の組み合わせからなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む治療有効量の組成物を、それを必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

50

## 【 0 1 3 3 】

E 1 2 8 ) 哺乳動物における髄鞘形成不全に関連する疾患、障害または傷害を処置するための方法であって、( i ) 可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド；( i i ) L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片；( i i i ) L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチド；( i v ) L I N G O - 2 アプタマー；および( v ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストの 2 つ以上の組み合わせからなる群より選択される L I N G O - 2 アンタゴニストを含む治療有効量の組成物を、それを必要とする哺乳動物に投与することを含む、方法。

## 【 0 1 3 4 】

E 1 2 9 ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドである、E 1 2 0 ~ E 1 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

10

## 【 0 1 3 5 】

E 1 3 0 ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが、E 1 0 2 ~ E 1 0 7 のいずれか一項に記載のポリペプチドを含む、E 1 2 9 に記載の方法。

## 【 0 1 3 6 】

E 1 3 1 ) 前記可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドが、( i ) L I N G O - 2 の I g ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体、( i i ) L I N G O - 2 の L R R ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体、および( i i i ) 前記 L I N G O - 2 ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体の組み合わせからなる群より選択される L I N G O - 2 領域を含む、E 1 2 9 に記載の方法。

## 【 0 1 3 7 】

E 1 3 2 ) 前記可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドが、( i ) L I N G O - 2 の膜貫通ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体、( i i ) L I N G O - 2 の細胞内ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体、および( i i i ) 前記 L I N G O - 2 ドメインまたはその断片、変異体もしくは誘導体の組み合わせからなる群より選択される L I N G O - 2 領域を欠く、E 1 3 0 または E 1 3 1 に記載の方法。

20

## 【 0 1 3 8 】

E 1 3 3 ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片である、E 1 2 0 ~ E 1 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

## 【 0 1 3 9 】

E 1 3 4 ) 前記 L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片が、E 1 ~ E 2 8 および E 8 0 のいずれか一項に記載の結合分子である、E 1 3 3 に記載の方法。

30

## 【 0 1 4 0 】

E 1 3 5 ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチドを含む、E 1 2 0 ~ E 1 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

## 【 0 1 4 1 】

E 1 3 6 ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチドが、( i ) アンチセンスポリヌクレオチド；( i i ) リボザイム；( i i i ) 低分子干渉 RNA ( s i RNA ) ；および( i v ) 低分子ヘアピン RNA ( s h RNA ) からなる群より選択される、E 1 3 5 に記載の方法。

## 【 0 1 4 2 】

E 1 3 7 ) 前記 L I N G O - 2 アンタゴニストが L I N G O - 2 アプタマーを含む、E 1 2 0 ~ E 1 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

40

## 【 0 1 4 3 】

E 1 3 8 ) 前記哺乳動物が、運動ニューロンに関する疾患、障害または傷害と診断されたものである、E 1 2 2 ~ E 1 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【 0 1 4 4 】

E 1 3 9 ) 前記疾患、障害または傷害が、筋萎縮性側索硬化症 ( A L S ) 、原発性側索硬化症 ( P L S ) 、進行性筋萎縮症 ( P M A ) 、遺伝性痙性対麻痺 ( H S P ) 、X 連鎖球脊髄性筋萎縮症 ( S B M A ; ケニー病 ) 、進行性球麻痺、偽性球麻痺、脊髄性筋萎縮症 ( S M A ) 、ポリオ後症候群 ( P P S ) 、ハンチントン病、本態性振戦 ( E T ) 、運動ニュー

50

ーロン疾患、麻痺およびパーキンソン病からなる群より選択される、E 1 2 4、E 1 2 5 またはE 1 3 8のいずれか一項に記載の方法。

【0 1 4 5】

E 1 4 0) 前記疾患、障害または傷害が筋萎縮性側索硬化症 ( a m y l o t r o p h i c c l a t e r a l s c l e r o s i s ) ( A L S ) である、E 1 3 9に記載の方法。

【0 1 4 6】

E 1 4 1) ボーラス注射または慢性注入によって、前記L I N G O - 2 アンタゴニストを投与する、E 1 2 0 ~ E 1 4 0のいずれか一項に記載の方法。

【0 1 4 7】

E 1 4 2) 前記L I N G O - 2 アンタゴニストを中枢神経系に直接投与する、E 1 2 0 ~ E 1 4 0のいずれか一項に記載の方法。

【0 1 4 8】

E 1 4 3) 前記L I N G O - 2 アンタゴニストを全身投与する、E 1 2 0 ~ E 1 4 0のいずれか一項に記載の方法。

【0 1 4 9】

E 1 4 4) ( a ) 発現制御配列への作動可能な連結により前記L I N G O - 2 アンタゴニストをコードするポリヌクレオチドで前記運動ニューロンをトランスフェクトすること、および( b ) 前記L I N G O - 2 アンタゴニストを発現させることを含む、E 1 2 0 またはE 1 2 1に記載の方法。

【0 1 5 0】

E 1 4 5) ( a ) 発現制御配列への作動可能な連結により前記L I N G O - 2 アンタゴニストをコードするポリヌクレオチドを前記哺乳動物に投与すること、および( b ) 前記L I N G O - 2 アンタゴニストを発現させることを含む、E 1 2 2 ~ E 1 4 3のいずれか一項に記載の方法。

【0 1 5 1】

E 1 4 6) 発現ベクターとして前記ポリヌクレオチドを投与する、E 1 4 5に記載の方法。

【0 1 5 2】

E 1 4 6) 前記発現ベクターがウイルスベクターである、E 1 4 5に記載の方法。

【0 1 5 3】

E 1 4 7) 該ウイルスベクターが、アデノウイルスベクター、アルファウイルスベクター、エンテロウイルスベクター、ペスチウイルスベクター、レンチウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、ヘルペスウイルスベクター、パポバウイルスベクターおよびポックスウイルスベクターからなる群より選択される、E 1 4 6に記載の方法。

【0 1 5 4】

E 1 4 8) 前記投与が、( a ) 前記ポリヌクレオチドを含む培養宿主細胞であって、前記L I N G O - 2 アンタゴニストを発現する培養宿主細胞を提供すること；および( b ) 前記L I N G O - 2 アンタゴニストが前記哺乳動物で発現されるように、前記培養宿主細胞を前記哺乳動物に導入することを含む、E 1 4 5 ~ E 1 4 7のいずれか一項に記載の方法。

【0 1 5 5】

E 1 4 9) 前記培養宿主細胞が、処置するべき哺乳動物に由来する、E 1 4 8に記載の方法。

【0 1 5 6】

E 1 5 0) 局所投与、眼内投与、非経口投与、髄腔内投与、硬膜下投与および皮下投与からなる群より選択される経路によって、前記ベクターを投与する、E 1 4 6 ~ E 1 4 9のいずれか一項に記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【0 1 5 7】

【図 1】ラット組織のQ - P C R。L I N G O - 2 は、成体ラット脳組織で高発現してい

10

20

30

40

50

る。Q - P C Rによって、L I N G O - 2 のm R N A発現の定量を行った。

【 0 1 5 8 】

【図2】P6マウス組織のQ - P C R。L I N G O - 2 は、生後6日（P6）マウス脳および脊髄組織で高発現している。Q - P C Rによって、L I N G O - 2 のm R N A発現の定量を行った。

【 0 1 5 9 】

【図3】ラット神経細胞集団のQ - P C R。L I N G O - 2 は、皮質ニューロンおよび後根神経節（D R G）で高発現している。Q - P C Rによって、L I N G O - 2 のm R N A発現の定量を行った。

【 0 1 6 0 】

【図4】L I N G O - 2 - F cおよび抗L I N G O - 2 抗体は、運動ニューロンの生存を促進する。ヒト運動ニューロンを亜ヒ酸ナトリウムで30分間処理し、ヒトI g G（対照）、可溶性L I N G O - 2 - F cまたは抗L I N G O - 2 抗体C 0 9 F a bのいずれかの存在下で回復させた。インキュベーション後、抗I I Iチューブリンおよび抗神経フィラメントによる免疫細胞化学によって、運動ニューロンを染色した。

【 0 1 6 1 】

【図5】L I N G O - 2 - F cは、運動ニューロンの軸索成長を促進する。N y c o d e n z 勾配遠心分離によって、胎生期16日（E16）ラット脊髄由来の運動ニューロンを単離した。単離した運動ニューロンを亜ヒ酸ナトリウムで30分間処理し、ヒトI g Gまたは可溶性L I N G O - 2 - F cのいずれかの存在下で回復させた。インキュベーション後、抗神経フィラメントによる免疫細胞化学によって、運動ニューロンを染色した。

【 0 1 6 2 】

【図6】L I N G O - 2 発現レベルは、S O D G 9 3 Aマウスでアップレギュレートしている。インサイチューハイブリダイゼーションを使用して、65日齢の野生型およびS O D G 9 3 AマウスにおけるL I N G O - 2 R N Aレベルを測定した。各種マウス由来の前角領域におけるL I N G O - 2 陽性細胞の数を計数した。グラフは、L I N G O - 2 陽性細胞の数（左）およびL I N G O - 2 陽性細胞の割合（右）を示す。

【 0 1 6 3 】

【図7】抗L I N G O - 2 抗体は、A K Tリン酸化をアップレギュレートする。対照試料、および抗L I N G O - 2 抗体C 0 9または対照抗体で処理した試料において、ウェスタンブロットによってA K Tリン酸化のレベルを測定した。

【 0 1 6 4 】

【図8】抗L I N G O - 2 抗体は、オリゴデンドロサイト分化を促進する。対照試料、および1、3または10  $\mu$  g / m l の濃度の抗L I N G O - 2 抗体C 0 9で処理した試料において、ミエリン関連糖タンパク質（M A G）およびミエリン塩基性タンパク質（M B P）のレベルを測定した。

【発明を実施するための形態】

【 0 1 6 5 】

発明の詳細な説明

I . 定義

別段の定義がない限り、本明細書で使用されるすべての技術的および科学的用語は、本発明が属する分野の当業者によって一般に理解されているのと同じの意味を有する。矛盾する場合は、該定義を含む本出願が優先される。文脈によって別段の必要がない限り、単数形用語は複数形を含み、複数形用語は単数形を含むものとする。本明細書で言及されるすべての刊行物、特許、および他の参考文献は、個々の各刊行物または特許出願が、参照により組み込まれるものとして具体的および個別に示されるかのように、あらゆる目的のためにそれら全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 1 6 6 】

本明細書に記載されるものに類似または同等の方法および材料を、本発明の実践または試験に使用することができるが、適切な方法および材料を以下に記載する。材料、方法、

10

20

30

40

50

および実施例は単なる例証であり、限定することを意図しない。本発明の他の特徴および利点は、詳細な説明および特許請求の範囲から明らかになるだろう。

【0167】

本発明をさらに定義するために、以下の用語および定義を提供する。

【0168】

用語「1つ(aまたはan)の」実体は、その実体の1つ以上を指すことに留意すべきである。例えば、「1つの免疫グロブリン分子」は、1つ以上の免疫グロブリン分子を表すと理解すべきである。したがって、用語「1つ(aまたはan)」、「1つ以上の(one or more)」および「少なくとも1つの(at least one)」は、本明細書で互換的に使用することができる。

10

【0169】

用語「ポリヌクレオチド」は、単数の核酸および複数の核酸を包含することを意図し、単離された核酸分子または構築物、例えばメッセンジャーRNA(mRNA)またはプラスミドDNA(pDNA)を指す。ポリヌクレオチドは、在来型のホスホジエステル結合または非在来型の結合(例えば、ペプチド核酸(PNA)に見られるアミド結合)を含み得る。用語「核酸」は、ポリヌクレオチド中に存在する任意の1つ以上の核酸セグメント、例えばDNAまたはRNA断片を指す。「単離された」核酸またはポリヌクレオチドは、その天然の環境から取り出された核酸分子、DNAまたはRNAを意図する。例えば、抗LINGO-2結合分子、例えば抗体またはその抗原結合断片をコードする組換えポリヌクレオチドであって、ベクターに含まれる組換えポリヌクレオチドは、単離されたときみなされる。単離されたポリヌクレオチドのさらなる例としては、異種宿主細胞中に維持されている組換えポリヌクレオチドまたは(部分的または実質的に)精製されたポリヌクレオチドの溶液が挙げられる。単離されたRNA分子としては、ポリヌクレオチドのインビボまたはインビトロRNA転写産物が挙げられる。単離されたポリヌクレオチドまたは核酸としてはさらに、合成的に生産されたこのような分子が挙げられる。さらに、ポリヌクレオチドまたは核酸は、プロモーター、リボソーム結合部位または転写ターミネーターなどの調節要素であり得るか、またはこれを含み得る。ポリヌクレオチドは、非修飾RNAもしくはDNAまたは修飾RNAもしくはDNAであり得る任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドから構成され得る。例えば、ポリヌクレオチドは、一本鎖および二本鎖DNA、一本鎖および二本鎖領域の混合物であるDNA、一本鎖および二本鎖RNA、および一本鎖および二本鎖領域の混合物であるRNA、一本鎖またはより典型的には二本鎖または一本鎖および二本鎖領域の混合物であり得るDNAおよびRNAを含むハイブリッド分子から構成され得る。加えて、ポリヌクレオチドは、RNAもしくはDNAまたはRNAおよびDNAの両方を含む三本鎖領域から構成され得る。ポリヌクレオチドはまた、1つ以上の修飾塩基、または安定性もしくは他の理由により修飾されたDNAもしくはRNA骨格を含有し得る。「修飾」塩基としては、例えば、トリチル化塩基および異常塩基、例えばイノシンが挙げられる。様々な修飾をDNAおよびRNAに行うことができる。したがって、「ポリヌクレオチド」は、化学的、酵素的、または代謝的に修飾された形態を包含する。

20

30

【0170】

本明細書で使用される場合、「コード領域」は、アミノ酸に翻訳されるコドンからなる核酸の一部である。「停止コドン」(TAG、TGAまたはTAA)はアミノ酸に翻訳されないがコード領域の一部とみなすことができ、しかし、任意のランキング配列、例えばプロモーター、リボソーム結合部位、転写ターミネーター、イントロンなどは、コード領域の一部ではない。2つ以上のコード領域は、単一のポリヌクレオチド構築物、例えば単一のベクター上に、または別々のポリヌクレオチド構築物、例えば別々の(異なる)ベクター上に存在できる。さらに、任意のベクターは単一のコード領域を含有し得るか、または2つ以上のコード領域を含み得、例えば、単一のベクターは、免疫グロブリン重鎖可変領域および免疫グロブリン軽鎖可変領域を別々にコードし得る。さらに、ベクター、ポリヌクレオチドまたは核酸は、抗LINGO-2アンタゴニスト、例えば抗体またはその

40

50

断片、変異体もしくは誘導体をコードする核酸に融合されているかまたは融合されていない異種コード領域をコードし得る。異種コード領域としては、限定されないが、分泌シグナルペプチドまたは異種機能性ドメインなどの特殊な要素またはモチーフが挙げられる。

#### 【0171】

ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドまたは核酸は、DNAである。DNAの場合、ポリペプチドをコードする核酸を含むポリヌクレオチドは、通常、1つ以上のコード領域に作動可能に結合されたプロモーターおよび/または他の転写もしくは翻訳制御要素を含み得る。作動可能な結合は、遺伝子産物の発現を調節配列の影響または制御下に置くように、遺伝子産物、例えばポリペプチドのコード領域が1つ以上の調節配列に結合する場合である。2つのDNA断片（例えば、ポリペプチドコード領域およびそれに結合したプロモーター）は、プロモーター機能の誘導が所望の遺伝子産物をコードするmRNAの転写をもたらす場合、および2つのDNA断片間の結合の性質が、発現調節配列が遺伝子産物の発現を指令する能力を妨害しないかまたはDNA鋳型が転写される能力を妨害しない場合、「作動可能に結合」している。したがって、プロモーター領域は、プロモーターが核酸の転写をもたらすことができる場合、ポリペプチドをコードする核酸に作動可能に結合している。プロモーターは、所定の細胞においてのみDNAの実質的な転写を指令する細胞特異的プロモーターであり得る。プロモーター以外の他の転写制御要素、例えばエンハンサー、オペレーター、リプレッサーおよび転写終結シグナルは、ポリヌクレオチドに作動可能に結合して、細胞特異的転写を指令することができる。適切なプロモーターおよび他の転写制御領域は、本明細書に開示される。

#### 【0172】

様々な転写制御領域が当業者に公知である。これらとしては、限定されないが、脊椎動物細胞において機能する転写制御領域、例えば限定されないが、サイトメガロウイルス（イントロンAを伴う最初期プロモーター）、サルウイルス40（初期プロモーター）およびレトロウイルス（例えば、ラウス肉腫ウイルス）由来のプロモーターおよびエンハンサーセグメントが挙げられる。他の転写制御領域としては、脊椎動物遺伝子由来のもの、例えばアクチン、熱ショックタンパク質、ウシ成長ホルモンおよびウサギ グロビン、ならびに真核細胞における遺伝子発現を制御することができる他の配列が挙げられる。さらなる適切な転写制御領域としては、組織特異的プロモーターおよびエンハンサー、ならびにリンホカイン誘導性プロモーター（例えば、インターフェロンまたはインターロイキンによって誘導可能なプロモーター）が挙げられる。

#### 【0173】

同様に、様々な翻訳制御要素が当業者に公知である。これらとしては、限定されないが、リボソーム結合部位、翻訳開始および終結コドン、ならびにピコルナウイルス由来の要素（特に、配列内リボソーム進入部位またはIRES、CITE配列とも称される）が挙げられる。

#### 【0174】

他の実施形態では、ポリヌクレオチドは、例えばメッセンジャーRNA（mRNA）の形態のRNAである。

#### 【0175】

ポリヌクレオチドおよび核酸コード領域は、ポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの分泌を指令する分泌またはシグナルペプチドをコードするさらなるコード領域に結合され得る。シグナルの仮説によると、哺乳動物細胞によって分泌されるタンパク質は、成長中のタンパク質鎖が粗面小胞体を通して輸送され始めると成熟タンパク質から切断されるシグナルペプチドまたは分泌リーダー配列を有する。当業者であれば、脊椎動物細胞によって分泌されるポリペプチドが、一般に、ポリペプチドのN末端に融合されたシグナルペプチドを有し、これが完全または「全長」ポリペプチドから切断されて分泌または「成熟」形態のポリペプチドを生成することを理解している。ある特定の実施形態では、天然シグナルペプチド、例えば免疫グロブリン重鎖もしくは軽鎖シグナルペプチド、または作動可能に結合されたポリペプチドの分泌を指令する能力を保持するその配列の機能

的誘導体を使用する。あるいは、異種哺乳動物シグナルペプチドまたはその機能的誘導体を使用することができる。例えば、野生型リーダー配列は、ヒト組織プラスミノゲン活性化因子 (TPA) またはマウス - グルクロニダーゼのリーダー配列で置換することができる。

#### 【0176】

本明細書で使用される場合、用語「ポリペプチド」は、単数の「ポリペプチド」および複数の「ポリペプチド」を包含することを意図し、アミド結合 (ペプチド結合としても公知である) によって直鎖状に連結されたモノマー (アミノ酸) から構成される分子を指す。用語「ポリペプチド」は、2つ以上のアミノ酸の任意の1つ以上の鎖を指し、特定の長さの産物を指さない。したがって、ペプチド、ジペプチド、トリペプチド、オリゴペプチド、「タンパク質」、「アミノ酸鎖」または2つ以上のアミノ酸の1つ以上の鎖を指すのに使用される任意の他の用語は、「ポリペプチド」の定義の中に含まれ、用語「ポリペプチド」は、これらの用語のいずれかの代わりにまたは互換的に使用することができる。用語「ポリペプチド」はまた、限定されないが、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、公知の保護/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解切断または天然に存在しないアミノ酸による修飾を含むポリペプチドの発現後修飾の産物を指すこと意図する。ポリペプチドは、天然の生物学的供給源に由来し得るか、または組換え技術によって生産することができるが、指定の核酸配列から翻訳される必要はない。化学合成を含む任意の方法でそれを作製することができる。

10

#### 【0177】

ポリペプチドは、約3以上、5以上、10以上、20以上、25以上、50以上、75以上、100以上、200以上、500以上、1,000以上または2,000以上のアミノ酸のサイズのものであり得る。ポリペプチドは、規定の三次元構造を有し得るが、このような構造を有する必要はない。規定の三次元構造を有するポリペプチドはフォールディングされたと称され、規定の三次元構造を有さず多数の異なる立体構造を採用することができるポリペプチドは、フォールディングされていないと称される。本明細書で 사용되는場合、用語「糖タンパク質」は、少なくとも1つの炭水化物部分 (これは、アミノ酸残基、例えばセリン残基またはアスパラギン残基の酸素含有または窒素含有側鎖を介してタンパク質に結合する) にカップリングしたタンパク質を指す。

20

#### 【0178】

「単離された」ポリペプチドまたはその断片、変異体もしくは誘導体は、その自然環境にないポリペプチドを意図する。特定のレベルの精製は必要とされない。例えば、単離されたポリペプチドは、その天然または自然の環境から取り出すことができる。宿主細胞中で発現された組換え生産ポリペプチドおよびタンパク質は、任意の適切な技術によって分離、分画、または部分的もしくは実質的に精製された天然または組換えポリペプチドと同様に、単離されたとみなされる。

30

#### 【0179】

ポリペプチドは、ペプチド結合または修飾ペプチド結合によって互いに結合したアミノ酸、すなわちペプチドアイソスターから構成され得、遺伝子によってコードされる20種のアミノ酸以外のアミノ酸 (例えば、天然に存在しないアミノ酸) を含有し得る。ポリペプチドは、翻訳後プロセッシングなどの自然過程または当技術分野で周知の化学修飾技術のいずれかによって、修飾することができる。

40

#### 【0180】

用語「断片」、「変異体」、「誘導体」および「類似体」は、LINGO-2アンタゴニストについて言及する場合、運動ニューロンの生存を促進する任意のアンタゴニスト分子を含む。これらの用語はまた、運動ニューロンの軸索成長を促進する任意のアンタゴニスト分子を含む。可溶性LINGO-2ポリペプチドは、LINGO-2のタンパク質分解断片、欠失断片、特に、動物に送達されるとより容易に作用部位に達する断片を含み得る。ポリペプチド断片は、線形および三次元エピトープを含む、天然ポリペプチドの抗原性または免疫原性エピトープを含むポリペプチドの任意の部分をさらに含む。可溶性LI

50

NGO-2ポリペプチドは、変異体LINGO-2領域(上記断片を含む)、およびさらにはアミノ酸置換、欠損、または挿入により改変されたアミノ酸配列を有するポリペプチドを含み得る。変異体は、対立遺伝子変異体などの天然に存在するものであり得る。「対立遺伝子変異体」は、生物の染色体上の所定の遺伝子座を占有する別の形態の遺伝子を意図する。Genes II, Lewin, B., ed., John Wiley & Sons, New York (1985)。天然に存在しない変異体は、当技術分野で公知の突然変異誘発技術を使用して生産することができる。可溶性LINGO-2ポリペプチドは、保存的または非保存的アミノ酸置換、欠損、または付加を含み得る。LINGO-2アンタゴニストはまた、誘導体分子を含み得る。例えば、可溶性LINGO-2ポリペプチドは、天然のポリペプチドに見られないさらなる機能を示すように改変されたLINGO-2領域を含み得る。例としては、融合タンパク質およびタンパク質コンジュゲートが挙げられる。

10

#### 【0181】

保存的置換としては、以下の群内での置換が挙げられる：バリン、アラニン、およびグリシン；ロイシン、バリン、およびイソロイシン；アスパラギン酸およびグルタミン酸；アスパラギンおよびグルタミン；セリン、システイン、およびスレオニン；リシンおよびアルギニン；ならびにフェニルアラニンおよびチロシン。非極性疎水性アミノ酸としては、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、およびメチオニンが挙げられる。極性中性アミノ酸としては、グリシン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、およびグルタミンが挙げられる。正電荷(塩基性)アミノ酸としては、アルギニン、リシン、およびヒスチジンが挙げられる。負電荷(酸性)アミノ酸としては、アスパラギン酸およびグルタミン酸が挙げられる。上記の極性、塩基性、または酸性基の1つのメンバーの、同じ群の別のメンバーによる任意の置換は、保存的置換とみなされ得る。

20

#### 【0182】

非保存的置換としては、(i)陽性電荷側鎖を有する残基(例えば、Arg、His、またはLys)が陰性電荷残基(例えば、GluまたはAsp)の代わりとなるもの、もしくははこれによって置換されるもの、(ii)親水性残基(例えば、SerまたはThr)が疎水性残基(例えば、Ala、Leu、Ile、Phe、またはVal)の代わりとなるもの、もしくははこれによって置換されるもの、(iii)システインもしくはプロリンが任意の他の残基の代わりとなるもの、もしくははこれによって置換されるもの、または(iv)巨大な疎水性または芳香族側鎖を有する残基(例えば、Val、Ile、Phe、またはTrp)がより小さな側鎖(例えば、Ala、Ser)を有するかもしくは側鎖を有しない(例えば、Gly)ものの代わりとなるもの、もしくははこれによって置換されるものが挙げられる。

30

#### 【0183】

2つのポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列間の用語「配列同一性パーセント」は、比較領域にわたって配列が共有する同一のマッチ位置の数であって、2つの配列の最適なアライメントのために導入しなければならない付加または欠失(すなわち、ギャップ)を考慮したものを指す。マッチ位置は、同一のヌクレオチドまたはアミノ酸が標的および参照配列の両方に現れる任意の位置である。標的配列中に現れるギャップは、ヌクレオチドまたはアミノ酸ではないため計数されない。同様に、参照配列由来のヌクレオチドまたはアミノ酸でなく標的配列のヌクレオチドまたはアミノ酸が計数されるため、参照配列中に現れるギャップは計数されない。

40

#### 【0184】

配列同一性の割合は、同一のアミノ酸残基または核酸塩基が両配列に存在する位置の数を決定してマッチ位置の数を求め、マッチ位置の数を比較領域中の位置の総数で割り、その結果に100を乗じて配列同一性の割合を求めることによって計算される。2つの配列間の配列の比較および配列同一性パーセントの決定は、オンライン使用およびダウンロードの両方について容易に入手可能なソフトウェアを使用して達成することができる。適切

50

なソフトウェアプログラムは、タンパク質およびヌクレオチド配列の両方のアライメントについて、様々な供給源から入手可能である。配列同一性パーセントを決定するための1つの適切なプログラムは**bl2seq**であり、これは、米国政府の国立バイオテクノロジー情報センター(National Center for Biotechnology Information)BLASTウェブサイト([blast.ncbi.nlm.nih.gov](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov))から入手可能なプログラムのBLASTパッケージソフトの一部である。**bl2seq**は、BLASTNまたはBLASTPアルゴリズムのいずれかを使用して2つの配列間の比較を行う。BLASTNは核酸配列を比較するのに使用され、BLASTPはアミノ酸配列を比較するのに使用される。他の適切なプログラムは、例えば、Needle、Stretcher、Water、またはMatcherであり、これは、

バイオインフォマティクスプログラムのEMBOSSパッケージソフトの一部であり、欧州バイオインフォマティクス研究所(European Bioinformatics Institute)(EBI)、[www.ebi.ac.uk/Tools/psa](http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa)からも入手可能である。

10

20

30

40

50

#### 【0185】

ポリヌクレオチドまたはポリペプチド参照配列とアライメントする単一ポリヌクレオチドまたはポリペプチド標的配列内の異なる領域は、それら自体の配列同一性パーセントをそれぞれ有し得る。配列同一性パーセント値は、小数第2位で四捨五入されることに留意すべきである。例えば、80.11、80.12、80.13、および80.14は切り捨てて80.1に四捨五入され、80.15、80.16、80.17、80.18、および80.19は切り上げて80.2に四捨五入される。長さ値は常に整数であることにも留意すべきである。

#### 【0186】

当業者であれば、配列同一性パーセントの計算のための配列アライメントの作成は、専ら一次配列データによって行われる配列-配列のバイナリ比較に限定されないことを認識するであろう。配列アライメントは、複数の配列アライメントから得られ得る。複数の配列アライメントを作成するための1つの適切なプログラムは**ClustalW2**であり、[www.clustal.org](http://www.clustal.org)から入手可能である。別の適切なプログラムは**MUSCLE**であり、[www.drive5.com/muscle/](http://www.drive5.com/muscle/)から入手可能である。あるいは、**ClustalW2**および**MUSCLE**は、例えば、EBIから入手可能である。

#### 【0187】

配列アライメントは、配列データを異種源からのデータ、例えば、構造データ(例えば、結晶学的タンパク質構造)、機能データ(例えば、突然変異の位置)、または系統発生のデータと統合することによって作成することができるとも認識されよう。異種データを統合して複数の配列アライメントを作成するための適切なプログラムは**T-Coffee**であり、[www.tcoffee.org](http://www.tcoffee.org)から入手可能であり、あるいは例えばEBIから入手可能である。配列同一性パーセントを計算するのに使用される最終アライメントは、自動または手動のいずれかでキュレートすることができるとも認識されよう。

#### 【0188】

用語「断片」、「変異体」、「誘導体」および「類似体」は、抗LINGO-2抗体または抗体ポリペプチドについて言及する場合、対応する抗体または抗体ポリペプチドの抗原結合特性の少なくとも一部を保持する任意のポリペプチドを含む。ポリペプチドの断片としては、本明細書の他の場所で論じる特異的抗体断片に加えて、タンパク質分解断片および欠失断片が挙げられる。別段の明記がない限り、本明細書で使用される場合、抗体に関する「その断片」は、免疫特異的断片、すなわち抗原特異的断片を指す。抗LINGO-2抗体および抗体ポリペプチドの変異体としては、上記断片、およびさらにはアミノ酸置換、欠失または挿入により改変されたアミノ酸配列を有するポリペプチドが挙げられる。変異体は、天然に存在するものかまたは天然に存在しないものであり得る。変異体ポリペプチドは、保存的または非保存的アミノ酸置換、欠失または付加を含み得る。変異体ポリペプチドは、本明細書では「ポリペプチド類似体」とも称され得る。本明細書で使用さ

れる場合、抗LINGO-2抗体または抗体ポリペプチドの「誘導体」は、官能性側基の反応によって化学的に誘導体化された1つ以上の残基を有する主題ポリペプチドを指す。

「誘導体」として、20種の標準アミノ酸の1つ以上の天然に存在するアミノ酸誘導体を含むポリペプチドも挙げられる。例えば、4-ヒドロキシプロリンは、プロリンの代わりとなり得る；5-ヒドロキシリシンは、リシンの代わりとなり得る；3-メチルヒスチジンは、ヒスチジンの代わりとなり得る；ホモセリンは、セリンの代わりとなり得る；オルニチンは、リシンの代わりとなり得る；。抗LINGO-2抗体および抗体ポリペプチドの誘導体は、参照抗体または抗体ポリペプチドに見られないさらなる特徴を示すように改変されたポリペプチドを含み得る。

#### 【0189】

「ポリペプチド断片」は、ポリペプチドの短いアミノ酸配列を指す。タンパク質断片は、「独立したもの」であり得るか、または該断片が領域の一部を形成するより大きいポリペプチド内に含まれ得る。ポリペプチド断片の代表的な例としては、例えば、約5アミノ酸、約10アミノ酸、約15アミノ酸、約20アミノ酸、約30アミノ酸、約40アミノ酸、約50アミノ酸、約60アミノ酸、約70アミノ酸、約80アミノ酸、約90アミノ酸、約100アミノ酸、約200アミノ酸、約300アミノ酸、約400アミノ酸、約500アミノ酸、約600アミノ酸および約1,000アミノ酸長を含む断片が挙げられる。

#### 【0190】

「結合分子」または「抗原結合分子」は、その最も広い意味において、抗原決定基に特異的に結合する分子を指す。一実施形態では、結合分子は、LINGO-2、例えば全長LINGO-2または成熟LINGO-2に特異的に結合する。別の実施形態では、結合分子は、抗体またはその抗原結合断片である。

#### 【0191】

抗LINGO-2抗体またはその抗原結合断片、変異体および誘導体が、本明細書に記載される。天然に存在する抗体などのフルサイズ抗体についての具体的な言及がない限り、用語「抗LINGO-2抗体」は、フルサイズ抗体およびこのような抗体の抗原結合断片、変異体、類似体または誘導体、例えば、天然に存在する抗体もしくは免疫グロブリン分子もしくは人工抗体分子、または抗体分子と同様に抗原に結合する断片を包含する。

#### 【0192】

ある特定の実施形態では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。あるいは、例えば、飽和突然変異誘発によってコード配列の全部または一部に沿って突然変異をランダムに導入することができ、得られた突然変異体を生物学的活性についてスクリーニングして、活性（例えば、LINGO-2ポリペプチド、例えばヒト、霊長類、マウスまたはヒト、霊長類およびマウスの任意の組み合わせのLINGO-2に結合する能力）を保持する突然変異体を同定することができる。「ヒト」または「完全ヒト」抗体のこのような変異体（またはその誘導体）は、「最適化された」または「抗原結合について最適化された」ヒトまたは完全ヒト抗体とも称され、抗原に対する改善された親和性を有する抗体を含む。

#### 【0193】

一実施形態では、LINGO-2アンタゴニストは、「抗体」もしくは「免疫グロブリン」分子またはその抗原結合断片、例えば、天然に存在する抗体もしくは免疫グロブリン分子もしくは人工抗体分子、または抗体分子と同様に抗原に結合する断片である。用語「抗体」および「免疫グロブリン」は、本明細書で互換的に使用される。抗体または免疫グロブリンは、少なくとも重鎖の可変ドメインを含み、通常は少なくとも重鎖および軽鎖の可変ドメインを含む。脊椎動物系の基本的な免疫グロブリン構造は、比較的良好に理解されている。例えば、Harlowら、Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed., 1988)を参照のこと。

#### 【0194】

天然に存在する抗体において、各抗原結合ドメインに存在する6つの「相補性決定領域」または「CDR」は、抗体が水性環境でその三次元配置を取ると、特異的に配置されて抗原結合ドメインを形成するアミノ酸の短い非連続配列である。抗原結合ドメインにおけるアミノ酸の残りは、「フレームワーク」領域と称され、分子間の可変性をほとんど示さない。フレームワーク領域は主としてシート立体構造を取り、CDRは、シート構造を接続し、いくつかの場合ではシート構造の一部を形成するループを形成する。したがって、フレームワーク領域は、鎖間の非共有結合性相互作用によってCDRを正しい方向に配置する骨格を形成するように作用する。配置されたCDRによって形成される抗原結合ドメインは、免疫反応性抗原上のエピトープに対する表面相補性を規定する。この相補的な表面は、抗体のその同族エピトープに対する非共有結合を促進する。それぞれCDRおよびフレームワーク領域を含むアミノ酸は正確に定義されているため、当業者であれば、任意の所定の重鎖または軽鎖可変領域を容易に同定することができる( " Sequences of Proteins of Immunological Interest , " Kabat , Eら、U . S . Department of Health and Human Services , ( 1983 ) ; および Chothia and Lesk , J . Mol . Biol . , 196 : 901 - 917 ( 1987 ) ( これらは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる ) を参照のこと ) 。

10

#### 【0195】

当技術分野で使用および/または承認されている用語の定義が2つ以上ある場合、本明細書で使用される用語の定義は、反対の明示がない限り、すべてのこのような意味を含むと意図される。具体例は、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見られる非連続な抗原結合部位を説明するための用語「相補性決定領域」(「CDR」)の使用である。この特定の領域は、Kabatら、(1983) U . S . Dept . of Health and Human Services , " Sequences of Proteins of Immunological Interest " および Chothia and Lesk , J . Mol . Biol . 196 : 901 - 917 ( 1987 ) ( これらは、参照により本明細書に組み込まれる ) によって記載されており、ここで、これらの定義は、互いに比較した場合にアミノ酸残基についてオーバーラップまたはサブセットを含む。それでもなお、抗体またはその変異体のCDRを指すためにいずれかの定義を適用することは、本明細書で定義および使用される用語の範囲内であると意図される。上で引用した各参考文献によって定義した場合のCDRを包含する適切なアミノ酸残基を、比較として以下の表1に示す。特定のCDRを包含する正確な残基数は、CDRの配列およびサイズに応じて変化し得る。当業者であれば、抗体の可変領域アミノ酸配列を考慮して、どの残基が特定のCDRを含むかをルーチンに決定することができる。

20

30

#### 【表1】

表1. CDRの定義<sup>1</sup>

	Kabat	Chothia
VH CDR1	31-35	26-32
VH CDR2	50-65	52-58
VH CDR3	95-102	95-102
VL CDR1	24-34	26-32
VL CDR2	50-56	50-52
VL CDR3	89-97	91-96

40

<sup>1</sup> 表1におけるすべてのCDRの定義の番号付けは、Kabatらによって記載されている番号付けの慣例に従う(以下を参照のこと)。

#### 【0196】

Kabatらはまた、任意の抗体に適用可能な可変ドメイン配列についての番号付けシステムを定義した。当業者であれば、配列それ自体以外のいかなる実験データにも依存することなく、この「Kabat番号付け」システムを任意の可変ドメイン配列に一義的に

50

割り当てることができる。本明細書で使用される場合、「K a b a t 番号付け」は、K a b a t ら、U . S . D e p t . o f H e a l t h a n d H u m a n S e r v i c e s , " S e q u e n c e o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t " ( 1 9 8 3 ) に記載されている番号付けシステムを指す。別段の明記がない限り、L I N G O - 2 抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体における特定のアミノ酸残基位置の番号付けについての言及は、K a b a t 番号付けシステムに従う。

#### 【 0 1 9 7 】

一実施形態では、抗原結合分子は、参照抗体分子の少なくとも1つの重鎖または軽鎖 C D R を含む。別の実施形態では、抗原結合分子は、1つ以上の参照抗体分子由来の少なくとも2つの C D R を含む。別の実施形態では、抗原結合分子は、1つ以上の参照抗体分子由来の少なくとも3つの C D R を含む。別の実施形態では、抗原結合分子は、1つ以上の参照抗体分子由来の少なくとも4つの C D R を含む。別の実施形態では、抗原結合分子は、1つ以上の参照抗体分子由来の少なくとも5つの C D R を含む。別の実施形態では、抗原結合分子は、1つ以上の参照抗体分子由来の少なくとも6つの C D R を含む。ある特定の実施形態では、参照抗体分子は C 0 9 である。主題抗原結合分子に含まれ得る少なくとも1つの C D R を含む例示的な抗体分子は当技術分野で公知であり、例示的な分子が本明細書に記載される。

10

#### 【 0 1 9 8 】

天然に存在する抗体などのフルサイズ抗体についての具体的な言及がない限り、用語「抗 L I N G O - 2 抗体」は、フルサイズ抗体およびこのような抗体の抗原結合断片、変異体、類似体または誘導体、例えば、天然に存在する抗体もしくは免疫グロブリン分子もしくは人工抗体分子、または抗体分子と同様に抗原に結合する断片を包含する。

20

#### 【 0 1 9 9 】

抗体またはその抗原結合断片としては、限定されないが、ポリクローナル、モノクローナル、多重特異的、ヒト、ヒト化、霊長類化、またはキメラ抗体、一本鎖抗体、エピトープ結合断片、例えば、F a b 、F a b ' および F ( a b ' ) <sub>2</sub>、F d 、F v 、一本鎖 F v ( s c F v )、一本鎖抗体、ジスフィルド結合 F v ( s d F v )、V<sub>L</sub> または V<sub>H</sub> ドメインのいずれかを含む断片、F a b 発現ライブラリーによって産生される断片、ならびに抗イディオタイプ(抗 I d )抗体(例えば、本明細書に開示される結合分子に対する抗 I d 抗体を含む)が挙げられる。S c F v 分子は当技術分野で公知であり、例えば米国特許第 5 , 8 9 2 , 0 1 9 号に記載されている。免疫グロブリンまたは抗体分子は、任意の種類(例えば、I g G 、I g E 、I g M 、I g D 、I g A 、および I g Y )、クラス(例えば、I g G<sub>1</sub>、I g G<sub>2</sub>、I g G<sub>3</sub>、I g G<sub>4</sub>、I g A<sub>1</sub>、および I g A<sub>2</sub>)、またはサブクラスの免疫グロブリン分子であり得る。

30

#### 【 0 2 0 0 】

一本鎖抗体を含む抗体断片は可変領域を単独で、またはヒンジ領域、C<sub>H</sub> 1、C<sub>H</sub> 2、および C<sub>H</sub> 3 ドメインの全部または一部と組み合わせて含み得る。可変領域と、ヒンジ領域、C<sub>H</sub> 1、C<sub>H</sub> 2、および C<sub>H</sub> 3 ドメインとの任意の組み合わせも含む抗原結合断片も本明細書で提供される。抗体またはその抗原結合断片は、トリおよび哺乳動物を含む任意の動物起源由来のものであり得る。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト、マウス、ロバ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ラマ、ウマ、またはニワトリの抗体である。別の実施形態では、可変領域は、(例えば、サメ由来の)コンドリクトイド(c o n d r i c t h o i d )起源であり得る。

40

#### 【 0 2 0 1 】

本明細書で使用される場合、用語「重鎖部分」は、免疫グロブリン重鎖由来のアミノ酸配列を含む。重鎖部分を含むポリペプチドは、C<sub>H</sub> 1 ドメイン、ヒンジ(例えば、上部、中央および/または下部ヒンジ領域)ドメイン、C<sub>H</sub> 2 ドメイン、C<sub>H</sub> 3 ドメイン、またはそれらの変異体もしくは断片の少なくとも1つを含む。例えば、結合ポリペプチドは、C<sub>H</sub> 1 ドメインを含むポリペプチド鎖；C<sub>H</sub> 1 ドメインと、ヒンジドメインの少なくとも

50

一部と、 $C_H2$ ドメインとを含むポリペプチド鎖； $C_H1$ ドメインと $C_H3$ ドメインとを含むポリペプチド鎖； $C_H1$ ドメインと、ヒンジドメインの少なくとも一部と、 $C_H3$ ドメインとを含むポリペプチド鎖、または $C_H1$ ドメインと、ヒンジドメインの少なくとも一部と、 $C_H2$ ドメインと、 $C_H3$ ドメインとを含むポリペプチド鎖を含み得る。別の実施形態では、ポリペプチドは、 $C_H3$ ドメインを含むポリペプチド鎖を含む。さらに、結合ポリペプチドは、 $C_H2$ ドメインの少なくとも一部（例えば、 $C_H2$ ドメインの全部または一部）を欠き得る。上記のように、当業者であれば、これらのドメイン（例えば、重鎖部分）は、天然に存在する免疫グロブリン分子由来のアミノ酸配列において異なるように修飾され得ることを理解するであろう。結合ポリペプチドの重鎖部分は、異なる免疫グロブリン分子に由来し得る。例えば、ポリペプチドの重鎖部分は、 $IgG_1$ 分子由来の $C_H1$ ドメインと、 $IgG_3$ 分子由来のヒンジ領域とを含み得る。別の例では、重鎖部分は、部分的に $IgG_1$ 分子由来であり、部分的に $IgG_3$ 分子由来のヒンジ領域を含み得る。別の例では、重鎖部分は、部分的に $IgG_1$ 分子由来であり、部分的に $IgG_4$ 分子由来のキメラヒンジを含み得る。

10

#### 【0202】

本明細書で使用される場合、用語「軽鎖部分」は、免疫グロブリンの軽鎖由来のアミノ酸配列を含む。典型的には、軽鎖部分は、 $V_L$ または $C_L$ ドメインの少なくとも1つを含む。

#### 【0203】

本明細書に開示される抗LINGO-2抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、抗原のエピトープまたは一部、例えば、それらが認識または特異的に結合する本明細書に開示される標的ポリペプチド（例えば、全長または成熟LINGO-2）の点で記載または特定され得る。抗体の抗原結合ドメインと特異的に相互作用する標的ポリペプチドの一部は、「エピトープ」または「抗原決定基」である。標的ポリペプチドは単一のエピトープを含み得るが、典型的には少なくとも2つのエピトープを含み、抗原のサイズ、立体構造および種類に応じて任意の数のエピトープを含み得る。さらに、標的ポリペプチド上の「エピトープ」は、非ポリペプチド要素であり得るかまたはこれを含み得、例えばエピトープは、炭水化物側鎖を含み得ることに留意するべきである。

20

#### 【0204】

抗体に対するペプチドまたはポリペプチドエピトープの最小サイズは、約4～5アミノ酸であると考えられる。ペプチドまたはポリペプチドエピトープは、少なくとも7、少なくとも9、または少なくとも約15～約30のアミノ酸を含有し得る。 $CDR$ は、三次形態の抗原性ペプチドまたはポリペプチドを認識することができるので、エピトープを含むアミノ酸は連続的である必要はなく、いくつかの場合では同じペプチド鎖上にさえなくてもよい。抗LINGO-2抗体が認識するペプチドまたはポリペプチドエピトープは、LINGO-2の連続的または非連続的な少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25または約15～約30アミノ酸の配列を含有し得る。

30

#### 【0205】

「特異的に結合する」は、一般に、抗体がその抗原結合ドメインを介してエピトープに結合し、該結合が抗原結合ドメインとエピトープとの間のいくつかの相補性を伴うことを意味する。この定義によれば、抗体は、それが無関係なランダムエピトープに結合するよりも容易にその抗原結合ドメインを介してエピトープに結合する場合に、エピトープに「特異的に結合する」といわれる。用語「特異性」は、本明細書では、ある特定の抗体がある特定のエピトープに結合する相対的親和性を述べるのに使用される。例えば、抗体「A」は、所定のエピトープに対する特異性が抗体「B」よりも高いとみなされ得るか、または抗体「A」は、それが関連エピトープ「D」に対して有するよりも高い特異性でエピトープ「C」に結合するといわれ得る。

40

#### 【0206】

「選択的に結合する」は、抗体が、それが関連、類似、相同または相似エピトープに結

50

合するよりも容易にエピトープに特異的に結合することを意味する。したがって、所定のエピトープに「選択的に結合する」抗体は、このような抗体が関連エピトープと交差反応し得るとしても、関連エピトープよりもそのエピトープに結合する可能性が高い。

#### 【0207】

非限定的な例として、抗体は、第2のエピトープに対するその抗体の解離定数 ( $K_D$ ) よりも小さい  $K_D$  で第1のエピトープに結合する場合、前記第1のエピトープに選択的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例では、抗体は、第2のエピトープに対するその抗体の  $K_D$  よりも少なくとも1桁小さい親和性で第1のエピトープに結合する場合、第1の抗原に選択的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例では、抗体は、第2のエピトープに対するその抗体の  $K_D$  よりも少なくとも2桁小さい親和性で第1のエピトープに結合する場合、第1のエピトープに選択的に結合するとみなされ得る。

10

#### 【0208】

別の非限定的な例では、抗体は、第2のエピトープに対するその抗体の off 速度 ( $k_{off}$ ) よりも小さい  $k_{off}$  で第1のエピトープに結合する場合、第1のエピトープに選択的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例では、抗体は、第2のエピトープに対するその抗体の  $k_{off}$  よりも少なくとも1桁小さい親和性で第1のエピトープに結合する場合、第1のエピトープに選択的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例では、抗体は、第2のエピトープに対するその抗体の  $k_{off}$  よりも少なくとも2桁小さい親和性で第1のエピトープに結合する場合、第1のエピトープに選択的に結合するとみなされ得る。本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、 $5 \times 10^{-2} \text{ 秒}^{-1}$  以下、 $10^{-2} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-3} \text{ 秒}^{-1}$  または  $10^{-3} \text{ 秒}^{-1}$  の off 速度 ( $k_{off}$ ) で、本明細書に開示される標的ポリペプチド (例えば、LINGO-2、例えばヒト、霊長類、マウスまたはヒト、霊長類およびマウスの任意の組み合わせの LINGO-2) またはその断片もしくは変異体に結合するといわれ得る。抗体は、 $5 \times 10^{-4} \text{ 秒}^{-1}$  以下、 $10^{-4} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-5} \text{ 秒}^{-1}$  または  $10^{-5} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-6} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $10^{-6} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-7} \text{ 秒}^{-1}$  または  $10^{-7} \text{ 秒}^{-1}$  の off 速度 ( $k_{off}$ ) で、本明細書に開示される標的ポリペプチド (例えば、LINGO-2、例えばヒト、霊長類、マウスまたはヒト、霊長類およびマウスの任意の組み合わせの LINGO-2) またはその断片もしくは変異体に結合するといわれ得る。

20

30

#### 【0209】

本明細書に開示される抗体または抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$  以上、 $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$  または  $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$  の on 速度 ( $k_{on}$ ) で、本明細書に開示される標的ポリペプチド (例えば、LINGO-2、例えばヒト、霊長類、マウスまたはヒト、霊長類およびマウスの任意の組み合わせの LINGO-2) またはその断片もしくは変異体に結合するといわれ得る。抗体は、 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$  以上、 $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$ 、 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$  または  $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$  または  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ 秒}^{-1}$  の on 速度 ( $k_{on}$ ) で、本明細書に開示される標的ポリペプチド (例えば、LINGO-2、例えばヒト、霊長類、マウスまたはヒト、霊長類およびマウスの任意の組み合わせの LINGO-2) またはその断片もしくは変異体に結合し得る。

40

#### 【0210】

抗体は、それがエピトープに対する参照抗体の結合をある程度遮断する程度にそのエピトープに選択的に結合する場合、所定のエピトープに対する参照抗体の結合を競合的に阻害するといわれる。競合阻害は、当技術分野で公知の任意の方法、例えば競合 ELISA アッセイによって決定することができる。抗体は、所定のエピトープに対する参照抗体の結合を、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%または少なくとも50%競合的に阻害するといわれ得る。

#### 【0211】

本明細書で使用される場合、用語「親和性」は、個々のエピトープと免疫グロブリン分

50

子のCDRとの結合強度の尺度を指す。例えば、Harlowら、(1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed.) pages 27-28を参照のこと。本明細書で使用される場合、用語「アビディティ」は、免疫グロブリン集団と抗原との間の複合体の全体的な安定性、すなわち、免疫グロブリン混合物と抗原との機能的な結合強度を指す。例えば、Harlowの29～34頁を参照のこと。アビディティは、特定のエピトープを有する集団における個々の免疫グロブリン分子の親和性、ならびにさらには免疫グロブリンおよび抗原の価数の両方に関係する。例えば、二価モノクローナル抗体と、高度に反復しているエピトープ構造を有する抗原、例えばポリマーとの間の相互作用は、アビディティが高いものの1つである。

10

#### 【0212】

抗LINGO-2抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体はまた、それらの交差反応性の点で記載または特定され得る。本明細書で使用される場合、用語「交差反応性」は、第1の抗原に対して特異的な抗体が第2の抗原と反応する能力；2つの異なる抗原性物質間の関係性の尺度を指す。したがって、抗体は、その形成を誘導したエピトープ以外のエピトープに抗体が結合する場合に交差反応性である。交差反応性エピトープは、一般に、誘導エピトープと同じ相補性構造特徴の多くを含有し、いくつかの場合では、実際には元のものよりもよく適合し得る。

#### 【0213】

例えば、ある特定の抗体は、非同一の関連エピトープ、例えば（当技術分野で公知の本明細書に記載される方法を使用して計算した場合に）参照エピトープと少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも65%、少なくとも60%、少なくとも55%および少なくとも50%の同一性を有するエピトープに結合するというある程度の交差反応性を有する。抗体は、それが（当技術分野で公知の本明細書に記載される方法を使用して計算した場合に）参照エピトープと95%未満、90%未満、85%未満、80%未満、75%未満、70%未満、65%未満、60%未満、55%未満および50%未満の同一性を有するエピトープに結合しない場合、交差反応性をほとんどまたは全く有しないといわれ得る。抗体は、それが特定のエピトープのいかなる他の類似体、オルソログまたはホモログにも結合しない場合、そのエピトープに対して「高度に特異的」であるとみなされ得る。

20

30

#### 【0214】

前記のように、様々な免疫グロブリンクラスの定常領域のサブユニット構造および三次元構造が周知である。本明細書で使用される場合、用語「VHドメイン」は、免疫グロブリン重鎖のアミノ末端可変ドメインを含み、用語「CH1ドメイン」は、免疫グロブリン重鎖の最初（最もアミノ末端側）の定常領域ドメインを含む。CH1ドメインはVHドメインに隣接し、免疫グロブリン重鎖分子のヒンジ領域に対してアミノ末端側である。

#### 【0215】

本明細書で使用される場合、用語「CH2ドメイン」は、従来の番号付けスキームを使用して、抗体の例えば約残基244～残基360（残基244～360、Kabats番号付けシステム；および残基231～340、EU番号付けシステム；Kabats EArを参照のこと）に及ぶ重鎖分子の一部を含む。CH2ドメインは、別のドメインと密接に対形成しない点で独特である。むしろ、2つのN連結分岐炭水化物鎖が、インタクトな天然IgG分子の2つのCH2ドメイン間に介在する。CH3ドメインはIgG分子のCH2ドメインからC末端に及び、約108個の残基を含むことも十分に立証されている。

40

#### 【0216】

本明細書で使用される場合、用語「ヒンジ領域」は、CH1ドメインとCH2ドメインとを連結する重鎖分子の一部を含む。このヒンジ領域は約25個の残基を含み、フレキシブルであるので、2つのN末端抗原結合領域が独立して動くことを可能にする。ヒンジ領域は、3つの別個のドメイン：上部、中央および下部ヒンジドメインに細分化することができる（Rouxら、J. Immunol. 161: 4083 (1998)）。

50

## 【0217】

本明細書で使用される場合、用語「ジスルフィド結合」は、2つの硫黄原子間に形成される共有結合を含む。アミノ酸システインは、第2のチオール基とジスルフィド結合または架橋を形成することができるチオール基を含む。最も多く天然に存在するIgG分子では、CH1およびCL領域はジスルフィド結合によって連結され、2つの重鎖は、Kabata番号付けシステムを使用すれば239および242に対応する位置（226位または229位、EU番号付けシステム）で2つのジスルフィド結合によって連結される。

## 【0218】

本明細書で使用される場合、用語「キメラ抗体」は、免疫反応性領域または部位が第1の種から得られるかまたはこれに由来し、定常領域（これはインタクトなものでもよいし、部分的なものでもよいし、または本発明にしたがって改変されたものでもよい）が第2の種から得られる任意の抗体を含む。ある特定の実施形態では、標的結合領域または部位は非ヒト供給源（例えば、マウスまたは霊長類）に由来し、定常領域はヒトのものである。

## 【0219】

本明細書で使用される場合、「ヒト」または「完全ヒト」抗体は、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有する抗体を含み、下記のようにおよび例えばKucheralapatiらによる米国特許第5,939,598号に記載されているように、ヒト免疫グロブリンライブラリーからまたは1つ以上のヒト免疫グロブリンについてトランスジェニックな動物であって、内因性免疫グロブリンを発現しない動物から単離された抗体を含む。「ヒト」または「完全ヒト」抗体はまた、少なくとも重鎖の可変ドメインまたは少なくとも重鎖および軽鎖の可変ドメインを含む抗体であって、該可変ドメインがヒト免疫グロブリン可変ドメインのアミノ酸配列を有する抗体を含む。「ヒト」または「完全ヒト」抗体はまた、本明細書に記載される抗体分子（例えば、V<sub>H</sub>領域および/またはV<sub>L</sub>領域）の変異体（誘導体を含む）を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる上記「ヒト」または「完全ヒト」抗体を含み、この抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2ポリペプチドまたはその断片もしくは変異体に免疫特異的に結合する。

## 【0220】

限定されないが、アミノ酸置換をもたらす部位特異的突然変異誘発およびPCR媒介突然変異誘発を含む当業者に公知の標準的技術を使用して、ヒト抗LINGO-2抗体をコードするヌクレオチド配列に変異を導入することができる。変異体（誘導体を含む）は、参照V<sub>H</sub>領域、V<sub>H</sub>CDR1、V<sub>H</sub>CDR2、V<sub>H</sub>CDR3、V<sub>L</sub>領域、V<sub>L</sub>CDR1、V<sub>L</sub>CDR2またはV<sub>L</sub>CDR3に対して50個未満のアミノ酸置換、40個未満のアミノ酸置換、30個未満のアミノ酸置換、25個未満のアミノ酸置換、20個未満のアミノ酸置換、15個未満のアミノ酸置換、10個未満のアミノ酸置換、5個未満のアミノ酸置換、4個未満のアミノ酸置換、3個未満のアミノ酸置換または2個未満のアミノ酸置換をコードする。一実施形態では、抗体のCDRに存在する1つ以上のシステイン残基は、異なるアミノ酸残基に変更される。

## 【0221】

本明細書で使用される場合、用語「人工抗体」は、特異性が公知の抗体の1つ以上のCDRを少なくとも部分的に置換することによって、必要な場合にはフレームワーク領域を部分的に置換し配列を変更することによって、重鎖もしくは軽鎖またはその両方の可変ドメインを変化させた抗体を指す。CDRは、フレームワーク領域が由来する抗体と同じクラスまたはさらにサブクラスの抗体に由来するものでもよいが、CDRは、異なるクラスの抗体および/または異なる種由来の抗体に由来するものであると想定される。特異性が公知の非ヒト抗体由来の1つ以上の「ドナー」CDRをヒト重鎖または軽鎖フレームワーク領域に移植した人工抗体は、本明細書では「ヒト化抗体」と称される。ある特定の実施形態では、ある可変ドメインの抗原結合能を別のものに移すために、CDRのすべてをドナー可変領域由来の完全CDRで置換する必要はない。むしろ、標的結合部位の活性を維

持するのに必要な残基を移植すれば十分であり得る。例えば、米国特許第 5, 585, 089 号、米国特許第 5, 693, 761 号、米国特許第 5, 693, 762 号および米国特許第 6, 180, 370 号に記載されている説明を考慮すると、ルーチンな実験を行うことによって、または試行錯誤の試験によって機能的な人工抗体またはヒト化抗体を得ることは、十分に当業者の能力の範囲内であろう。

#### 【0222】

ヒト化抗体の重鎖もしくは軽鎖またはその両方の可変ドメイン中のフレームワーク領域は、ヒト起源の残基のみを含み得ることがさらに認識され、この場合、ヒト化抗体のこれらのフレームワーク領域は、「完全ヒトフレームワーク領域」と称される。あるいは、必要に応じて、LINGO-2 抗原に対する適切な結合を維持するかまたは LINGO-2 抗原に対する結合を増強するために、ドナー可変ドメインのフレームワーク領域の 1 つ以上の残基を、ヒト化抗体の重鎖もしくは軽鎖またはその両方の可変ドメインのヒトフレームワーク領域の対応する位置内で操作することができる。したがって、このように操作したヒトフレームワーク領域は、ヒトおよびドナーフレームワーク残基の混合物を含み、本明細書では「部分的ヒトフレームワーク領域」と称される。

#### 【0223】

例えば、抗 LINGO-2 抗体のヒト化は、基本的には Winter および共同研究者 (Jones ら、Nature 321: 522-525 (1986); Riechmann ら、Nature 332: 323-327 (1988); Verhoeyen ら、Science 239: 1534-1536 (1988)) の方法にしたがって、齧歯類もしくは突然変異齧歯類抗 LINGO-2 CDR または CDR 配列をヒト抗体の対応する配列に置換することによって行うことができる。米国特許第 5, 225, 539 号; 米国特許第 5, 585, 089 号; 米国特許第 5, 693, 761 号; 米国特許第 5, 693, 762 号; 米国特許第 5, 859, 205 号 (参照により本明細書に組み込まれる) も参照のこと。得られたヒト化抗 LINGO-2 抗体は、ヒト化抗体の重鎖および/または軽鎖の可変ドメインの完全ヒトフレームワーク領域内に、少なくとも 1 つの齧歯類または突然変異齧歯類 CDR を含み得る。いくつかの場合では、ヒト化抗 LINGO-2 抗体の 1 つ以上の可変ドメインのフレームワーク領域内の残基は、対応する非ヒト (例えば、齧歯類) 残基で置換され (例えば、米国特許第 5, 585, 089 号; 米国特許第 5, 693, 761 号; 米国特許第 5, 693, 762 号; および米国特許第 6, 180, 370 号を参照のこと)、この場合、得られたヒト化抗 LINGO-2 抗体は、重鎖および/または軽鎖の可変ドメイン内に部分的ヒトフレームワーク領域を含み得る。

#### 【0224】

さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体またはドナー抗体に見られない残基を含み得る。抗体性能をさらに改良するために (例えば、所望の親和性を得るために)、これらの改変が行われる。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも 1 つ、典型的には 2 つの可変ドメインの実質的にすべてを含み、ここで、すべてまたは実質的にすべての CDR は、非ヒトヒト免疫グロブリンのものに対応し、すべてのまたは実質的にすべてのフレームワーク領域は、ヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体はまた、場合により、免疫グロブリン定常領域 (Fc)、典型的にはヒト免疫グロブリンのものの少なくとも一部を含むであろう。さらなる詳細については、Jones ら、Nature 331: 522-525 (1986); Riechmann ら、Nature 332: 323-329 (1988); and Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2: 593-596 (1992) (参照により本明細書に組み込まれる) を参照のこと。したがって、このような「ヒト化」抗体は、インタクトなヒト可変ドメインよりも実質的に少ないものが非ヒト種由来の対応する配列で置換された抗体を含み得る。實際上、ヒト化抗体は、典型的には、いくつかの CDR 残基および可能であればいくつかのフレームワーク残基が齧歯類抗体の類似部位由来の残基で置換されたヒト抗体である。例えば、米国特許第 5, 225, 539 号; 米国特許第 5, 585, 089 号; 米国特許第 5, 693, 761 号; 米国特許第 5, 693, 762 号; 米国特許第 5, 859, 205 号を参照のこと。米

国特許第 6, 180, 370 号および国際公開第 01/27160 号も参照のこと（ここでは、ヒト化抗体および所定の抗原に対する改善された親和性を有するヒト化抗体を生産するための技術が開示されている）。

【0225】

本明細書で使用される場合、用語「連結された」、「融合された」または「融合」は、互換的に使用される。これらの用語は、化学的コンジュゲーションまたは組換え手段を含む手段によって、2 つ以上の要素または成分を結合することを指す。「インフレーム融合」は、元の ORF の正しいリーディングフレームを維持するように、2 つ以上のオープンリーディングフレーム（ORF）を結合して連続するより長い ORF を形成することを指す。したがって、得られた組換え融合タンパク質は、元の ORF によってコードされるポリペプチドに対応する 2 つ以上のセグメント（これらのセグメントは、自然では、通常はそうのように結合されていない）を含有する単一タンパク質である。したがって、リーディングフレームは融合セグメント全体を通して連続的にされるが、例えば、インフレームリンカー配列によってこのセグメントを物理的または空間的に分けることができる。

10

【0226】

ポリペプチドとの関連において、「直鎖状配列」または「配列」は、ポリペプチドがミノ末端からカルボキシル末端方向に線形のアミノ酸であって、配列中で互いに隣接する残基がポリペプチドの一次構造において連続的であるアミノ酸である。

【0227】

用語「発現」は、本明細書で使用される場合、遺伝子が生化学的物質、例えば RNA またはポリペプチドを生成するプロセスを指す。このプロセスは、限定されないが、遺伝子ノックダウンならびに一過性発現および安定的発現の両方を含む、細胞内における遺伝子の機能的存在の任意の発現を含む。これには、限定されないが、メッセンジャー RNA（mRNA）、トランスファー RNA（tRNA）、低分子ヘアピン RNA（shRNA）、低分子干渉 RNA（siRNA）または任意の他の RNA 産物への遺伝子の転写、およびポリペプチドへのこのような mRNA の翻訳が挙げられる。所望の最終産物が生化学的物質である場合、発現は、その生化学的物質および任意の前駆体の創出を含む。遺伝子の発現は「遺伝子産物」を生成する。本明細書で使用される場合、遺伝子産物は、核酸、例えば遺伝子の転写によって生成されるメッセンジャー RNA、または転写産物から翻訳されるポリペプチドのいずれかであり得る。本明細書に記載される遺伝子産物は、転写後修飾、例えばポリアデニル化を有する核酸、または翻訳後修飾、例えばメチル化、グリコシル化、脂質付加、他のタンパク質サブユニットとの結合、タンパク質分解切断などを有するポリペプチドをさらに含む。

20

30

【0228】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」は、必要な投与量および時間において、所望の治療結果を達成するのに有効な量を指す。治療結果は、例えば、症候の緩和、生存の延長、運動性の改善などであり得る。治療結果は「治療」である必要はない。

【0229】

本明細書で使用される場合、「予防有効量」は、必要な投与量および時間において、所望の予防結果を達成するのに有効な量を指す。典型的には、予防用量は、疾患前または疾患の初期段階において被験体に使用されるため、予防有効量は治療有効量よりも少ないであろう。

40

【0230】

本明細書で使用される場合、用語「処置する」または「処置」は、その目的が、自己免疫性症状の進行などの望ましくない生理的变化または障害を防止または遅延（減少）することである治療的処置および予防的または防止的措置の両方を指す。有益なまたは所望の臨床的結果としては、限定されないが、検出可能または検出不可能にかかわらず、症候の緩和、疾患程度の減少、疾患状態の安定化（すなわち、悪化しない）、疾患進行の遅延または減速、疾患状態の改善もしくは一次的緩和および寛解（部分的または完全にかかわらず）が挙げられる。「処置」はまた、処置を受けない場合に予想される生存と比較して

50

延長された生存を意味し得る。処置を必要とするものとしては、症状もしくは障害を既に有するもの、および症状もしくは障害を有する傾向にあるもの、または症状もしくは障害を予防しようとするものが挙げられる。

【0231】

「被験体」、「個体」、「動物」、「患者」、または「哺乳動物」は、診断、予後、または治療が望まれる任意の被験体、特に哺乳動物被験体を意味する。哺乳動物被験体としては、限定されないが、ヒト、家畜、農場動物、動物園動物、競技用動物、愛玩動物、例えばモルモット、ウサギ、ラットおよびマウス、霊長類、例えばサル、オランウータンおよびチンパンジー、イヌ科動物、例えばイヌおよびオオカミ、ネコ科動物、例えばネコ、ライオンおよびトラ、ウマ科動物、例えばウマ、ロバおよびシマウマ、食用動物、例えばウシ、ブタおよびヒツジ、有蹄動物、例えばシカおよびキリン、クマなどが挙げられる。ある特定の実施形態では、哺乳動物はヒト被験体である。

10

【0232】

本明細書で使用される場合、「LINGO-2アンタゴニストの投与によって利益を受け得る被験体」および「処置を必要とする動物」などの語句は、例えば、抗LINGO-2ポリペプチドの検出に（例えば、診断手順に）使用されるLINGO-2アンタゴニストの投与から、および/または抗LINGO-2抗体などのLINGO-2アンタゴニストによる処置（すなわち、ALSなどの疾患の一時的緩和または予防）から利益を受け得る被験体（例えば、哺乳動物被験体）を含む。

20

【0233】

用語「RNA干渉」または「RNAi」は、siRNAによる遺伝子発現のサイレンシングまたは減少を指す。それは、動物および植物における配列特異的な転写後遺伝子サイレンシングの過程であり、サイレンシングされる遺伝子の配列とその二本鎖領域が相同であるsiRNAによって開始される。遺伝子は、生物に対して内因性もしくは外因性のものでもよいし、染色体に組み込まれて存在するものでもよいし、またはゲノムに組み込まれないトランスフェクションベクター中に存在するものでもよい。遺伝子の発現は、完全または部分的に阻害される。RNAiはまた、標的RNAの機能を阻害すると考えられ得る；標的RNAの機能は、完全または部分的であり得る。

【0234】

II. LINGO-2

30

LINGO-2は、皮質ニューロンおよび後根神経節(DRG)で発現しており、運動ニューロンの生存および運動ニューロンの軸索成長を負に調節する。

【0235】

天然に存在するヒトLINGO-2は、606アミノ酸のポリペプチドである。ヒトLINGO-2 mRNAをコードするポリヌクレオチドは、GenBankにおいてアクセッション番号NM\_152570として報告されている：

## 【化 1】

```

aatttagaga agatgtaggg agtggttaac atgttcgttg tggaagagaa agagctaaga
gagaggagct taaagacaca aacgggtaga atcaaggagt gtgctctcaa atgagaggaa
caggagtga cattaaccttg aaatgctcgg agactctact ccttcatgac agtaggagga
taattaacaa tagatacaaa tgcaggaatt gatgagtgcc atcagaaagc tgtatcatga
gotgootgca cttctaaagt gtccagtggg tttttaatca catgagcctg gaaatagggt
tatgaaaaga agctcagagc agagcaccga aagtggccac taccagcatg aagagcccaa
caattcaaac tgggtgaagt agaaaaacag aatgcagctt tcaaggttcg tttcaagcag
ctggcttctg ggactctgag agatgctgct gccatgaca tgggggaatt atcatgatca
actacccagc ttggatttca tccagtggcc aagagctttg tgtgggagac ggcaagggtt
ggatttttca aaagagttaa ccaggataaa tcatgaggaa cctataacce ttttggccac
atgcaaaaaa gcaagaccgc tgaccaaggt gtagactaag aagtggagtc atgcttcaca
cggccatata atgtgtggcag ccattcctgg gtctggctgt ggtgttaato ttcattggat
ccaccattgg ctgccccgct cgctgtgagt gctctgccc gaacaaatct gttagtctgc
acagaaggcg attgatcgcc atcccagagg gcattcccat cgaaaccaa atcttggacc
tcagtaaaaa caggctaaaa agcgtcaacc ctgaagaatt catatcatat cctctgctgg
aagagataca cttgagtga cacaatcattg ccaatgtgga accaggagca ttcaacaatc
tctttaacct ggcgtccctc cgctaaaaag gcaatcgtct aaagctggtc ccttggggag
tattcacggg gctgtccaat ctactaagc ttgacattag tgagaataag attgtcattt
tactagacta catgttccaa gatctacata acctgaagtc tctagaagtg ggggacaatg
atttggttta tatatcacac agggcattca gtgggcttct tagcttggag cagctacccc
tggagaaatg caacttaaca gcagtaccaa cagaagccct ctcccacctc cgcagcctca
tcagcctgca tctgaagcat ctcaatatca acaatatgcc tgtgtatgcc tttaaaagat
tgttccacct gaaacacct gagattgact attggccttt actggatatg atgcttcca
atagcctcta cggctctaac ctacatccc tttcagtcac caacaccaat ctgtctactg
tacccttctt tgcctttaa cacttggtat acctgaetca ccttaacctc tctacaatc
ccatcagcac tattgaagca ggcattgtct ctgacctgat ccgcttcag gagcttcata
tagtgggggc ccagcttcgc accattgagc ctcaactcct ccaagggtc cgttctctac
gctgtctcaa tgtgtctcag aaactgtgtg aaactttgga agagaatgtc ttctctctcc
ctagggctct ggaggtcttg agcattaaca acaacctct ggctgtgac tggcgccttc
tctggatctt gcagcgacag ccacacctgc agtttgggtg ccagcaacct atgtgtgtg
gcccagacac catcctgtg aggtotttca aggttttcca tagcactgoc ctttctttt
actttacctg caaaaaaccc aaatccgtg aaagaagtt gcagcatctg ctagttagatg
aagggcagac agtccagcta gaatgcagt cagatggaga ccgcagcct gtgatttctt
gggtgacac ccgaaggcgt ttcacacca ccaagtccaa tggagagac accgtgttgg
gtgatggcac cttggaaatc cgttttggcc aggatcaaga cagcgggatg tatgtttgca
tcgtagacaa tctgtctggg aatgatacct tcacagcctc cttactgtg aaaggattcg
cttcagatcg ttttctttat ggaacagga cccctatgta catgaccgac tccaatgaca
ccattttcaa tggcaaccaat gcaataactt tttccctgga ccttaaaaca atactggtgt
ctacagctat gggctgtctt acattcctgg gagtgggttt attttgtttt cttctccttt
ttgtgtggag ccgaggga aaagcagaca aaaacagcat tgaccttgag tatgtgccc
gaaaaaacia tgggtgtgtt gtggaaggag aggtagctgg acccaggagg ttcaacatga
aaatgatttg aaggcccacc cctcacatta ctgtctcttt gtcaatgtgg gtaatcagta
agacagtatg gcacagtaaa ttaactagatt aagaggcagc catgtgcagc tggccctgta
tcaaaagcag ggtctatgga agcaggagga cttccaatgg agactctcca tggaaaggca
ggcaggcagg catgtgtcag agcccttcac acagtgggag actaagtgtt tgcgttgcaa
atattggcgt tctggggatc tcagtaatga acctgaatat ttggctcaca ctacgggaca
attattcagc atttctaac actgcaaaaa ac (配列番号1).

```

10

20

30

## 【0236】

(配列番号1のヌクレオチド651～2471によってコードされる) ヒトLINGO  
- 2のポリペプチド配列は、GenBankにおいてアクセッション番号NP\_6897  
83として報告されている：

40

## 【化 2】

MLHTAISCWQPFGLAVVLI FMGSTIGCPARCECSAQNKSVSCHRRRLIAIPEGIPIETKILDLSKNRLK  
SVNPEEFISYPLLEEIDLSDNIIANVEPGAFFNNLFNIRSLRLKGNRLKLVPLGVFTGLSNLTKLDISENK  
IVILLDYMEQDLHNLKSLEVGDNLDVYISHRAFSGLLSLEQLTLEKCNLTAVPTEALSHLRSLISLHLKH  
LNINNMPVYAFKRLFHLKHLEIDYWPLLDMPANSYGLNLTSLSVTNTNLSTVPFLAFKHLVYLTHLNL  
SYNPISTIEAGMFSDLIRLQELHIVGAQLRTIEPHSFQGLRFLRVLNVSQNLLETLEENVFSSPRALEVL  
SINNPLACDCRLLWLQROPTLQFGGQQPMCAGNDTIRERSFKDFHSTALSFYFTCKKPKIREKKLQHL  
LVDEGQTVQLECSADGDPQPVISWVTPRRRFITTKSNGRATVLGDGTLEIRFAQDQDSGMYVCIASNAAG  
NDTFTASLTIVKGFASDRFLYANRTPMYMTDSNDTISNGTNANTESLDLKTI LVSTAMGCFTFLGVVLFCE  
LLLFVWSRGKGKHKNSIDLEYVPRKNNGAVVEGEVAGPRRFNMKMI (配列番号2).

マウスLINGO-2 mRNAをコードするポリヌクレオチドは、GenBankにお 10  
いてアクセッション番号NM\_175516.4として報告されている：

## 【化 3】

gccagtgcac tctagaaacc cagcctgcat gtagaaagcc ctgtctactg cagaagatga  
 ttcttgcccc gggttaaagt tgcacaactc gcggaaatgc cagtaccttc cacctgaagg  
 cacttagtggt ctagaaaacc agcaatctac cccgaaacac actgtactaa acacagcaag  
 agaccacaat gattggacat atacctatga agatccactt tgagaaagat gccagttggt  
 ccacaggatg cactttgaga atgaattcat tctagctggt acagcaaaag gagtgcatta  
 agggccgtaa ccaagggtgta gacaaagaag tggagtcagt ctccacacgg ctataccatg  
 ctggcagcca ttctggggtc tggctgtggt gttactctta atgggatcca ccattggctg  
 tctgtctgc tgtgagtgt cgcgccagaa caaatctgtt agctgccaca gaagacgatt  
 gctcgcgac ccagaaggca ttcccatgga gaccaaatac ttggacctga gcaaaaatcg  
 actaaagagc ataaaccctg aagagttcat ctcatatcct ctggtggagg agatagactt  
 gagcgacaac attattgcca atgtggagcc tggggcattt aacaatctct ttaacctgcg  
 ttccctccgc ctaaaaggca atcgccctaa gttggctcct ttaggagtat tcacaggact  
 gtccaacctc adcaagcttg acattagtga gaataagatt gtcattttgc tggactacat  
 gttccaggat ctgcataacc tgaagtctct agaagtgggg gacaatgatt tagtgtatat  
 ctccacacagg gccttcagcg gactacttag ctgggagcag ctccacctgg agaagtgcaa  
 ctgacagca gtaccaacag aagccctttc ccatctccgc agcctcatcg cctgcatct  
 gaagcatctc aatatcaaca atatgcctgt gtatgccttt aaaagattgt tccacctgaa  
 aaacctagag atcgactatt ggctttgtt ggatttgatg ccagccaaca gcctctatgg  
 tctcaacctc acgtcccttt caatcaccaa caccaacctg tccactgtcc ccttctctgc  
 ctttaaacac ctgtataacc tgacctacct taacctctcc tacaatcca tcagcactat  
 tgaagctggc atgttctctg acctgatccg cctacaggag ctccatatag tgggggcccc  
 gctccgcaat attgagcctc actccttcca agggctccgc ttctccgtg tgctcaatgt  
 atctcagaac ctgctggaaa cattggaaga gaacgtcttc tctccctta gggctttgga  
 ggtcctgagc attacaaca acccaactagc ctgtgactgc cgaactctct ggctcctgca  
 ggcacaaccc aacctgcagt ttgggggcca gcagcccatg tgtgctgggc cagacaccat  
 ccgtgagaga tcattttaagg atttccatag cactgctctt tctttttatt ttacctgcaa  
 aaaacccaaa atccgtgaaa agaagttaca gcatctcttc gtggatgaag ggcaaacggt  
 ccagctggag tgcaacgctg atggagacc gcagcccggtg atttctggg tgacacctg  
 aaggcgcttt atcacacca agtccaacgg aaggccact gtgttggtg atggcactt  
 ggaatccgt tttgccagg atcaagacag tgggatgtat gtttgcatg cagcaacgc  
 tgctgggaac gataccttca cagcatctct cactgtgaag ggattcacgt cagacogctt  
 cctttacgca aacaggacc ctatgtacat gactgactcc aacgacaccg tttccaacgg  
 cactaatgcc aatactttct cctggacct taaaacaata ctggtatcta cagccatggg  
 ctgtttcaca ttctgggag tggttttatt ttgtttctc ctcttttttg tgtggagccg  
 agggaaaggc aagcacaana acagcattga ccttgagtat gtgcccogaa aaaacaatgg  
 tgctgttgtg gaaggggagg tggctggccc caggagggtt aacatgaaaa tgatctaagg  
 gccaccaca cactactgtc tctctgttac tgttggctgt gagtaagacg totgatagag  
 tgactcgatc acaaggttat cgggcagctt tgccgagctg cccctgtgtc aaagcagggg  
 ccattggaagc aggaagactt ctcatggaga ctggctgatt agaggcaggc aggcattgtg  
 cagagccctt cacacagtgg gatactaatt gtttgattg caaatattgg cattctgggg  
 atctcagcaa tgaacctgaa cctttggctc atgctgatgg acaataattc aacattttct  
 accactgcaa aactaaaagg aaaaaaatt aaaaagaaca acctacagt taggatttac  
 atattaaaaa gacacatttg tctaaaacat actctacagt caaatttgta tttattatca  
 ttgtttaaaa ccttgcatc tacaatactg ttggttcagc accaaaaaga gatcaatata  
 ttcttttttt tgaacatat atgctgtata tgttttaaag caatatgaat gagaggttgt  
 gcttttagtt actcaccagt atagatccaa gtgtgggttc accttccctt tactgcaga  
 taaacctgag aatagatccc tggaaatacta ggcagagatg tgttgagatg tgtatgtctg  
 atgtaggatg ccaagaaaca agaccaagt caaaactgct caactctgtt aacttctgtt  
 actataaata aaggcatgtg cctagttttg atacagaatg gaatattttt tatacataca  
 ctaccaacct ggaccagttt actgtaacag aagcccttgg tttctccaga aggcggtaca  
 tcgctagggg tactataga atacaaggta ggtgtcactc ttaaaagtaa tccatgtagc  
 tactgcttag ttttactttc gccagtcact gctaattgggt taatgaccaa tggaaaagag  
 aatattgatt atatagaatt atttggcaat attcaccat agctaataatc aataattctg  
 ttgtccgaaa gccctctgaa taaggaggtt tcagaagtca ataggaagca gggagagaca  
 agagcatcac agcagcgatt cagccaatga tctctttcaa atgtggcagc tgccctgccg  
 atggctacaa atcaaaggga atagctgca catgccagcc caacttctat ccaagtacta  
 tacacagagt aggaccacag ttaggcaact tcaggatatt cctctgcttc ctgatcaaga  
 tcttttagtt catattgaaa accatattac acagctacga ggaatatgtt ttgtgtgaaa  
 gaagtaaaag tagtgaaaga aaaaccaata tagatctaaa aaacaatgtt ttgttcttc  
 actggggag agctaagctt atagttctac aaatatgtaa tgctgtgcca attcttttac  
 cttcttgacc tgagcatatt tgcccaatta agttgatatt aatgttacta atgcaaacat  
 aaccagaaa (配列番号 3) .

10

20

30

40

50

号NP\_780725として報告されている：

【化4】

```
mlhtaipcwq pflglavvll lmgstigcpa rcecsaqnks vschrrrlla ipegipietk
ildlsknrlk sinpeefisy plleeidlsd niianvepga fnnlfnlrsl rlkgnrklv
plgvftglsn ltkldisenk ivilldymfq dlhnkslev gdndlvvyish rafsgllsle
qltlekcnlt avptealshl rsliaihlkh lninnmpvya fkrllfhknl eidywplldl
mpanslygln ltslsitntn lstvpflafk hlvyllthlnl synpistiea gmfsdlirlq
elhivgaqlr tiephsfqgl rflrvlnvsq nlletleenv fsspralevl sinnnplacd
crllwllqrq pnlqfggqqp mcagpdtire rsfkdfhsta lsfyftckkp kirekklqhl
lvdegqtvql ecnadgdpqp viswvtprrr fittksngra tvlgdgtlei rfaqdqdsqm
yvciasnaag ndtftasltv kgftsdrfly anrtpmymtd sndtvsngtn antfsldlkt
ilvstamgcf tflgvvlfcf lllfvwsrgk gkhknsidle yvprknngav vegevagpr
fnmkmi (配列番号4) .
```

10

ラットLINGO - 2 mRNAをコードするポリヌクレオチドは、GenBankにおいてアクセッション番号NM\_001107926.1として報告されている：

## 【化 5】

gtgccagggc actctagaaa cccagcctgc atgtagacag ccctgcctac tgcagaagat  
 gattcctgcc ccgggttaaa cgtgtacaac tctgtgaaat gccagtacct tccacctgaa  
 ggcaacttagt ggctagaaaa ccagcaatct accccgaaac aactgtact aaacacagca  
 agagaccaca atgattggac atagacctat aaggatacac tttgagaaaag atgccagttg  
 ttcctcagga tgcactttga aaatgcagtc attctagctg gtaccgcaaa atgagtgcac  
 taaggcccat aaccaaggtg tagaataaac agtggagtca tgcttcacac ggctatacca  
 tgctggcagc cattcctggg tctggctatg gtgttactct tcatgggac caccattggc  
 tgtcctgctc gctgtgagtg ctctgccag aacaaatctg ttagctgcca cagaagacgc  
 ttgatecgca tccccgaagg cattccatt gagacaaaaa tottggaact gagcaaaaat  
 cgactaaaga gcataaacc cgaagaattc atctcatatc ctctgttgga ggagatagac  
 ttgagcgaca acatcatcgc caatgtagaa cctggggcat ttaacaatct ctttaacctg  
 cgttccctcc gcctaaaagg caatgcctt aagttggctc ctttgggagt attcacggga  
 ctgtccaacc tcaccaagct tgacattagt gagaataaga ttgtcatttt gctggactac  
 atgttccagg atctgcataa cctgaagtct ctagaagtgg gggacaatga tttggtttat  
 atatcacaca gggccttcag tggactatct agcttggagc agctcacct ggagaagtgc  
 aacttgacag cggtaaccaac agaagccctt tcccatctcc gcagcctcat caccctgcac  
 ctgaagcacc tcaatatcaa caatatgcct gtgtatgcct ttaaaagatt attccacctg  
 aaacaactag agatcgacta ttggccattg ctggatatga tgccagccaa tagcctctat  
 ggtctcaacc tcacatccct ctgatcact aacaccaacc tgtccactgt cctttctctc  
 gcctttaaac accttgataa cctgaccac cttaacctct cctacaatcc catcagcact  
 attgaagcag gcatgttctc tgacctgac cgccacagg agcttcatgt agtcggggcc  
 cagctccgca ccattgaacc tcaactcttc caagggctcc gcttctccg cgtgctcaat  
 gtatctcaga acctgctgga aacattggaa gagaatgtct tctcttcccc tagggctttg  
 gaggtcctga gcattaacaa taaccacta gcgtgcgact gccgacttct ctggctcctg  
 cagcgacagg ccacctgca gtttggaggc cagcagccca tgtgtgccg gccagacacc  
 atacgtgaga ggtcatttaa ggatttccat agcactgctc tttcttttta tttacctgc  
 aaaaaaccca aaatccgtga aaagaagtta cagcacctcc tagtggacga aggacagacg  
 gtccagctgg agtgcaacgc ggatggagac cccagcccg tgatttctg ggtgacacct  
 cgaaggcgtt ttatcaccac caagtccaac ggaagggcca ctgtgttggg tgatggcacc  
 ttagaaaatcc gtttcgcca ggatcaagac agtgggatgt atgtttgcat agctagcaat  
 gctgctggga atgacacct caccgcatct ctactgtga agggattcac ttcagaccgc  
 ttcctttacg caaacaggac cctatgtac atgactgact ccaatgacac cgtttccaac  
 ggcaactaatg ccaatacttt ttcctggac cttaaaacaa tactggatc tacagccatg  
 ggctgtttca cattcctggg agtggtttta ttttgttttc tcttctttt tgtgtggagc  
 cgaggaaaag gcaaacacaa aaacagcatt gaccttgagt atgtgccccg aaaaaaat  
 ggtgctgttg cagaagggga ggtggctgga cccaggaggt tcaacatgaa aatgatataa  
 gggccacca cacacacact actactgtct ctgtgttact gttggtaatg agtaagacgt  
 ctgatatagc gagtccatca caaggtgac aggcagcttc acacagctgc cctgtgtca  
 aagcagggtc catggaagct ggaagacttc tcatggacac tggctgatta gaggcaggca  
 ggcatgtgtc agagcccttc acacagtggg atactaattg tttgcattgc aaatattggc  
 attctgggga tctcagtaat gacctgaac ctttggctca tgcagacgga caaaaattca  
 acattttcta cactgcaaa actaaaagaa aaaaaattta aaaggaacaa cctacagtgt  
 aggatttaca tattaacaaa agacacattt gtctaaaaca tactctacgg taaaatttgt  
 atttattatc atttgtaaa accttgcatc atacaatact gttggttcag caccacaaaa  
 aaaaaaaaaa aaaaaagag agatcaatat attctttttt gaaacatata tgcgttatat  
 gttttaagc aatatgaatg agaggttgtg cttttagtta ctaccagta tagatccaag  
 tgtggtctca ctttctttt atccgcagag aaacctgaga atagatccct ggaataatag  
 gctgagatgt gttgagatgt gtatgtctga tgtaggatgc caagatacaa gagccagtc  
 aaaactgctc aactctgtta acttctgtta ctataaataa aggcattgtc ctagttttga  
 ｔ (配列番号 5)。

10

20

30

40

50

号NP\_\_001101396として報告されている：

【化6】

```
mlhtaipcwq pflglamvll fmgstigcpa rcecsagnks vschrrrlia ipegipietk
ildlsknrlk sinpeefisy plleeidlsd niianvepga fnnlfnlrsl rlkgnrlklv
plgvftglsl ltkldisenk ivilldymfq dlhnlkslev gdndlvvish rafsglfsle
qltlekcnlt avptealshl rslitlhlkh lninnmpvya fkrflhklql eidywplldm
mpanslygln ltslsitntn lstvpflafk hlvytlthnl synpistiea gmfsdlirlq
elhvvgaqlr tiephsfqgl rflrvlnvsq nlletleenv fsspralevl sinnnplacd
crllwllqrq atlqfggqgp mcagpdtire rsfkdfhsta lsfyftckkp kirekklqhl
lvdeggtvql ecnadgdpqp viswvtprrr fittksngra tvlgdgtlei rfaqdqdsqm
yvciassnaag ndtftasltv kgftsdrfly anrtpmymtd sndtvsngtn antfslldkt
ilvstamgcf tflgvvlfcf lllfvwsrgk gkhknsidle yvprknngav aegevagpr
fnmkmi (配列番号6)
```

10

【0237】

天然に存在するヒトLINGO-2ポリペプチド(FLJ31810、ロイシンリッチリピートおよび免疫グロブリン様ドメイン含有nog o受容体相互作用タンパク質2、LERN3、ロイシンリッチリピート神経タンパク質3、ロイシンリッチリピート神経タンパク質6C、LRRN6C、PRO31993またはUNQ9234としても公知である)は、606アミノ酸の約68Kdaのタンパク質である(配列番号2)。LINGO-2は、少なくとも3つの他のヒトパラログ(LINGO-1、LINGO-3およびLINGO-4)を含有するLINGOタンパク質ファミリーのメンバーである。Mira、Nature Neurosci. 7:221-28(2004)を参照のこと。ヒトLINGO-2ポリペプチドは、(N末端キャップ(LRRNT)およびC末端キャップ(LRRCT)を含む)ロイシンリッチリピートのストレッチを含有する。LINGO-2はまた、Igドメイン、膜貫通領域および細胞内ドメインを含有する。加えて、天然に存在するLINGO-2タンパク質は、タンパク質のN末端にシグナル配列を含有する。当業者であれば認識するように、本明細書で報告されるLINGO-2の様々なドメインの長さは概算である。表2には、配列番号2のアミノ酸配列に基づいて、LINGO-2ドメインの近似境界が記載されている。

20

【表 2】

表2-LINGO-2ドメイン

ドメインまたは領域	配列番号2の残基
シグナル配列	1-27
LRRNT	28-57
LRR	58-79
LRR	82-103
LRR	106-127
LRR	130-151
LRR	154-175
LRR	178-199
LRR	202-223
LRR	226-247
LRR	250-271
LRR	274-295
LRR	298-319
LRR	322-343
LRRCT	355-408
Ig	410-500
膜貫通	546-566
細胞内	568-606

10

20

30

## 【0238】

LINGO-2の組織分布は、ラットおよびマウスで研究されている。定量PCR(Q-PCR)によって決定した場合、成体ラットLINGO-2の発現は、中枢神経系に局在している。P6(生後6日目)マウスでは、定量PCR(Q-PCR)によって決定した場合、LINGO-2の発現は、皮質ニューロンおよび後根神経節に局在している(図1および2を参照のこと)。

## 【0239】

## III. LINGO-2アンタゴニストの使用法

本明細書で実証されているように、LINGO-1およびLINGO-2ポリペプチドは約60.7%のアミノ酸配列同一性を共有するが、これらのポリペプチドの拮抗作用は細胞に対して異なる効果を生じる。より具体的には、LINGO-2アンタゴニストは再髓鞘形成を促進しないが、LINGO-1アンタゴニストは再髓鞘形成を促進する。加えて、LINGO-1およびLINGO-2の発現パターンは異なる。特に、LINGO-2発現は脳よりも脊髄で高いが、LINGO-1発現は脊髄よりも脳で高い。

40

## 【0240】

このような疾患を患っている動物における運動ニューロンの生存または運動ニューロンの軸索成長に関連する疾患、障害または傷害(例えば、筋萎縮性側索硬化症)を処置するための方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、この方法は、有効量のLINGO-2アンタゴニストを動物に投与することを含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる。ある特定の実施形態では、LINGO-2アンタゴニストは、可溶性LINGO-2ポリペプチド、LINGO-2抗体またはその抗原結合断片、LINGO

50

Ｏ－２アンタゴニストポリヌクレオチド、ＬＩＮＧＯ－２アプタマーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される。

【０２４１】

（哺乳動物またはインビトロにおける）運動ニューロンの生存または運動ニューロンの軸索成長を促進するための方法であって、該運動ニューロンと、有効量のＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストとを接触させることを含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる方法が本明細書でさらに提供される。運動ニューロンが哺乳動物（mammal）内にある場合、この量は治療有効量であり得る。ある特定の実施形態では、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、可溶性ＬＩＮＧＯ－２ポリペプチド、ＬＩＮＧＯ－２抗体またはその抗原結合断片、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストポリヌクレオチド、ＬＩＮＧＯ－２アプタマーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される。

10

【０２４２】

本明細書に開示される処置方法に使用するべきＬＩＮＧＯ－２アンタゴニスト、例えば、可溶性ＬＩＮＧＯ－２ポリペプチド、ＬＩＮＧＯ－２抗体、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストポリヌクレオチドまたはＬＩＮＧＯ－２アプタマーを調製し、ＬＩＮＧＯ－２が軸索成長またはニューロンの生存を負に調節する能力を停止、軽減、抑制または阻害する治療剤として使用することができる。

【０２４３】

いくつかの実施形態では、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、特定の種類の運動ニューロンの軸索成長を促進することができる。例えば、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、上位運動ニューロンまたは下位運動ニューロンの軸索成長を促進することができる。ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、アルファ運動ニューロンまたはガンマ運動ニューロンの軸索成長を促進することができる。ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、体性運動ニューロン、特殊な内臓運動ニューロン（鰓運動ニューロン）または一般の内臓運動ニューロン（内臓運動ニューロン）の軸索成長を促進することができる。

20

【０２４４】

いくつかの実施形態では、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、特定の種類の運動ニューロンの生存を促進することができる。例えば、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、上位運動ニューロンまたは下位運動ニューロンの生存を促進することができる。ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、アルファ運動ニューロンまたはガンマ運動ニューロンの生存を促進することができる。ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、体性運動ニューロン、特殊な内臓運動ニューロン（鰓運動ニューロン）または一般の内臓運動ニューロン（内臓運動ニューロン）の生存をすることもできる。

30

【０２４５】

いくつかの実施形態では、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、オリゴデンドロサイト分化を促進することができる。

【０２４６】

いくつかの実施形態では、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、ＡＫＴリン酸化を促進することができる。いくつかの実施形態では、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストは、ＤＲＧ細胞におけるＡＫＴリン酸化を促進することができる。

40

【０２４７】

さらなる実施形態は、運動ニューロンの生存を誘導して、運動ニューロンの破壊を伴う疾患、障害または傷害を処置する方法であって、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストを哺乳動物（場合により、該疾患、障害または傷害の部位またはその近く）に、運動ニューロンの軸索伸長の阻害を軽減するのに十分な量で投与することを含む方法を含む。

【０２４８】

例えば、可溶性ＬＩＮＧＯ－２ポリペプチド、ＬＩＮＧＯ－２抗体またはその抗原結合断片、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストポリヌクレオチドまたはＬＩＮＧＯ－２アプタマーを患者に直接投与することによって、ＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストを投与することができる。あるいは、特定のＬＩＮＧＯ－２アンタゴニストを産生する発現ベクターを介して

50

、LINGO-2アンタゴニストを投与することができる。ある特定の実施形態では、(1) LINGO-2アンタゴニストを発現する核酸(例えば、ベクター)で移植可能な宿主細胞を形質転換またはトランスフェクトすること;および(2)該形質転換宿主細胞を哺乳動物に移植することを含む処置方法において、LINGO-2アンタゴニストを投与する。いくつかの実施形態では、宿主細胞を疾患、障害または傷害の部位に移植(implanted)することができる。いくつかの実施形態では、移植可能な宿主細胞を哺乳動物から取り出し、一時的に培養し、LINGO-2アンタゴニストをコードする単離された核酸で形質転換またはトランスフェクトし、それを取り出した同じ哺乳動物に再移植する。細胞をそれが移植される同じ部位から取り出すことができるが、これが必須ではない。エクスピボ遺伝子治療としても公知のこのような実施形態は、一定期間にわたるLINGO-2アンタゴニストの連続供給を提供することができる。

10

#### 【0249】

本明細書で提供される方法によって処置または改善することができる疾患または障害としては、運動ニューロンの生存に関連する疾患、障害または傷害が挙げられる。このような疾患としては、限定されないが、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、原発性側索硬化症(PLS)、進行性筋萎縮症(PMA)、遺伝性痙攣性対麻痺(HSP)、X連鎖球脊髄性筋萎縮症(SBMA; ケニー病)、進行性球麻痺、偽性球麻痺、脊髄性筋萎縮症(SMA)、ポリオ後症候群(PPS)、ハンチントン病、本態性振戦(ET)、運動ニューロン疾患、麻痺、パーキンソン病、および他の運動機能関連疾患が挙げられる。

20

#### 【0250】

いくつかの実施形態では、LINGO-2アンタゴニストの投与は、運動ニューロン機能の低下に関連する特定の症候を低減または予防するのに十分である。例えば、LINGO-2アンタゴニストは、筋萎縮、筋力低下、線維束性攣縮、原線維形成(fibrillation)、低血圧、反射低下、衰弱、緊張亢進、反射亢進、クローヌス、麻痺(例えば、四肢麻痺、対麻痺または単麻痺)、痙攣、バビンスキーテスト、安静時振戦、アテトーシス、舞蹈病、バリスムス、遅発性ジスキネジー、硬症(rigidity)、ジストニア、運動失調、ジスメトリア、拮抗運動反復不全、眼振、運動開始遅延、動作緩慢または他の運動障害を改善、安定化または予防することができる。

#### 【0251】

IV. 可溶性LINGO-2ポリペプチド

30

LINGO-2ポリペプチドは、可溶性LINGO-2ポリペプチドの断片、変異体またはその誘導体を含む。上記表2には、ヒトLINGO-2ポリペプチドの様々なドメインが記載されている。他種のLINGO-2のポリペプチド、例えばマウスLINGO-2(配列番号4)について、類似のドメイン構造を推定することができる。可溶性LINGO-2ポリペプチドは、典型的にはLINGO-2ポリペプチドの膜貫通ドメインを欠き、場合によりLINGO-2ポリペプチドの細胞質ドメインを欠く。例えば、ある特定の可溶性ヒトLINGO-2ポリペプチドは、ヒトLINGO-2の膜貫通ドメインを含む配列番号2のアミノ酸546~566を欠く。加えて、ある特定の可溶性LINGO-2ポリペプチドは、LINGO-2ポリペプチドのLRRドメインおよびIgドメインを含む。

40

#### 【0252】

変異体LINGO-2ポリペプチドはまた、対応する野生型ポリペプチドと配列が異なり得る。特に、LINGO-2の生物学的活性を大きく損なうことなく、ある特定のアミノ酸置換をLINGO-2配列に導入することができる。例示的な実施形態では、変異体LINGO-2ポリペプチドは、1つ以上のアミノ酸置換を含有し、ならびに/または配列番号2のアミノ酸28~408および配列番号2のアミノ酸28~500もしくは同等のLINGO-2ホモログ断片(例えば、配列番号4または配列番号6)からなる群より選択される参照アミノ酸配列と少なくとも70%、80%、85%、90%、95%、98%または99%同一のアミノ酸配列を含む。任意の所定のLINGO-2断片と配列が異なる変異体LINGO-2ポリペプチドは、1つ以上のアミノ酸置換(保存的または非

50

保存的)、1つ以上の欠失および/または1つ以上の挿入を含み得る。ある特定の実施形態では、可溶性LINGO-2ポリペプチドは、例えば、哺乳動物における運動ニューロンの生存または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

#### 【0253】

可溶性LINGO-2ポリペプチドは、配列番号2、配列番号4または配列番号6の少なくとも6、例えば10、15、20、25、30、40、50、60、70、100アミノ酸またはそれ以上の断片を含み得る。加えて、可溶性LINGO-2ポリペプチドは、少なくとも1個、例えば5個、10個、15個または20個の保存的アミノ酸置換を含み得る。配列番号2または配列番号4の参照LINGO-2ポリペプチドと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%または95%同一の可溶性LINGO-2ポリペプチドの対応する断片も企図される。ある特定の実施形態では、可溶性LINGO-2ポリペプチドは、例えば、哺乳動物における運動ニューロンの生存を促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

10

#### 【0254】

「LINGO-2参照アミノ酸配列」または「参照アミノ酸配列」は、いかなるアミノ酸置換も導入されていない特定の配列を意味する。当業者であれば理解するように、置換がない場合、「単離されたポリペプチド」は、参照アミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。

#### 【0255】

さらなるLINGO-2ポリペプチドとしては、以下を含むか、以下から本質的になるか、または以下からなる、ヒトLINGO-2ポリペプチド断片が挙げられるがこれらに限定されない：配列番号2のアミノ酸1~57；配列番号2のアミノ酸1~79；配列番号2のアミノ酸1~103；配列番号2のアミノ酸1~127；配列番号2のアミノ酸1~151；配列番号2のアミノ酸1~175；配列番号2のアミノ酸1~199；配列番号2のアミノ酸1~223；配列番号2のアミノ酸1~247；配列番号2のアミノ酸1~271；配列番号2のアミノ酸1~295；配列番号2のアミノ酸1~319；配列番号2のアミノ酸1~343；配列番号2のアミノ酸1~408；配列番号2のアミノ酸1~500；配列番号2のアミノ酸1~545；配列番号2のアミノ酸アミノ酸28~57；配列番号2のアミノ酸28~79；配列番号2のアミノ酸28~103；配列番号2のアミノ酸28~127；配列番号2のアミノ酸28~151；配列番号2のアミノ酸28~175；配列番号2のアミノ酸28~199；配列番号2のアミノ酸28~223；配列番号2のアミノ酸28~247；配列番号2のアミノ酸28~271；配列番号2のアミノ酸28~295；配列番号2のアミノ酸28~319；配列番号2のアミノ酸28~343；配列番号2のアミノ酸28~408；配列番号2のアミノ酸28~500；配列番号2のアミノ酸28~545；配列番号2のアミノ酸58~79；配列番号2のアミノ酸58~103；配列番号2のアミノ酸58~127；配列番号2のアミノ酸58~151；配列番号2のアミノ酸58~175；配列番号2のアミノ酸58~199；配列番号2のアミノ酸58~223；配列番号2のアミノ酸58~247；配列番号2のアミノ酸58~271；配列番号2のアミノ酸58~295；配列番号2のアミノ酸58~319；配列番号2のアミノ酸58~343；配列番号2のアミノ酸58~408；配列番号2のアミノ酸58~500；配列番号2のアミノ酸58~545；配列番号2のアミノ酸82~103；配列番号2のアミノ酸82~127；配列番号2のアミノ酸82~151；配列番号2のアミノ酸82~175；配列番号2のアミノ酸82~199；配列番号2のアミノ酸82~223；配列番号2のアミノ酸82~247；配列番号2のアミノ酸82~271；配列番号2のアミノ酸82~295；配列番号2のアミノ酸82~319；配列番号2のアミノ酸82~343；配列番号2のアミノ酸82~408；配列番号2のアミノ酸82~500；配列番号2のアミノ酸82~545；配列番号2のアミノ酸106~127；配列番号2のアミノ酸106~151；配列番号2のアミノ酸106~175；配列番号2のアミノ酸106~199；配列番号2のアミノ酸106~223；配列番号2のアミノ酸106~247；配列番号2のアミノ酸106~271；配列番号2の

20

30

40

50

アミノ酸 106 ~ 295 ; 配列番号 2 のアミノ酸 106 ~ 319 ; 配列番号 2 のアミノ酸  
 106 ~ 343 ; 配列番号 2 のアミノ酸 106 ~ 408 ; 配列番号 2 のアミノ酸 106 ~  
 500 ; 配列番号 2 のアミノ酸 106 ~ 545 ; 配列番号 2 のアミノ酸 130 ~ 151 ;  
 配列番号 2 のアミノ酸 130 ~ 175 ; 配列番号 2 のアミノ酸 130 ~ 199 ; 配列番号  
 2 のアミノ酸 130 ~ 223 ; 配列番号 2 のアミノ酸 130 ~ 247 ; 配列番号 2 のアミ  
 ノ酸 130 ~ 271 ; 配列番号 2 のアミノ酸 130 ~ 295 ; 配列番号 2 のアミノ酸 13  
 0 ~ 319 ; 配列番号 2 のアミノ酸 130 ~ 343 ; 配列番号 2 のアミノ酸 130 ~ 40  
 8 ; 配列番号 2 のアミノ酸 130 ~ 500 ; 配列番号 2 のアミノ酸 130 ~ 545 ; 配列  
 番号 2 のアミノ酸 154 ~ 175 ; 配列番号 2 のアミノ酸 154 ~ 199 ; 配列番号 2 の  
 アミノ酸 154 ~ 223 ; 配列番号 2 のアミノ酸 154 ~ 247 ; 配列番号 2 のアミノ酸 10  
 154 ~ 271 ; 配列番号 2 のアミノ酸 154 ~ 295 ; 配列番号 2 のアミノ酸 154 ~  
 319 ; 配列番号 2 のアミノ酸 154 ~ 343 ; 配列番号 2 のアミノ酸 154 ~ 408 ;  
 配列番号 2 のアミノ酸 154 ~ 500 ; 配列番号 2 のアミノ酸 154 ~ 545 ; 配列番号  
 2 のアミノ酸 178 ~ 199 ; 配列番号 2 のアミノ酸 178 ~ 223 ; 配列番号 2 のアミ  
 ノ酸 178 ~ 247 ; 配列番号 2 のアミノ酸 178 ~ 271 ; 配列番号 2 のアミノ酸 17  
 8 ~ 295 ; 配列番号 2 のアミノ酸 178 ~ 319 ; 配列番号 2 のアミノ酸 178 ~ 34  
 3 ; 配列番号 2 のアミノ酸 178 ~ 408 ; 配列番号 2 のアミノ酸 178 ~ 500 ; 配列  
 番号 2 のアミノ酸 178 ~ 545 ; 配列番号 2 のアミノ酸 202 ~ 223 ; 配列番号 2 の  
 アミノ酸 202 ~ 247 ; 配列番号 2 のアミノ酸 202 ~ 271 ; 配列番号 2 のアミノ酸  
 202 ~ 295 ; 配列番号 2 のアミノ酸 202 ~ 319 ; 配列番号 2 のアミノ酸 202 ~ 20  
 343 ; 配列番号 2 のアミノ酸 202 ~ 408 ; 配列番号 2 のアミノ酸 202 ~ 500 ;  
 配列番号 2 のアミノ酸 202 ~ 545 ; 配列番号 2 のアミノ酸 226 ~ 247 ; 配列番号  
 2 のアミノ酸 226 ~ 271 ; 配列番号 2 のアミノ酸 226 ~ 295 ; 配列番号 2 のアミ  
 ノ酸 226 ~ 319 ; 配列番号 2 のアミノ酸 226 ~ 343 ; 配列番号 2 のアミノ酸 22  
 6 ~ 408 ; 配列番号 2 のアミノ酸 226 ~ 500 ; 配列番号 2 のアミノ酸 226 ~ 54  
 5 ; 配列番号 2 のアミノ酸 250 ~ 271 ; 配列番号 2 のアミノ酸 250 ~ 295 ; 配列  
 番号 2 のアミノ酸 250 ~ 319 ; 配列番号 2 のアミノ酸 250 ~ 343 ; 配列番号 2 の  
 アミノ酸 250 ~ 408 ; 配列番号 2 のアミノ酸 250 ~ 500 ; 配列番号 2 のアミノ酸  
 250 ~ 545 ; 配列番号 2 のアミノ酸 274 ~ 295 ; 配列番号 2 のアミノ酸 274 ~  
 319 ; 配列番号 2 のアミノ酸 274 ~ 343 ; 配列番号 2 のアミノ酸 274 ~ 408 ; 30  
 配列番号 2 のアミノ酸 274 ~ 500 ; 配列番号 2 のアミノ酸 274 ~ 545 ; 配列番号  
 2 のアミノ酸 298 ~ 319 ; 配列番号 2 のアミノ酸 298 ~ 343 ; 配列番号 2 のアミ  
 ノ酸 298 ~ 408 ; 配列番号 2 のアミノ酸 298 ~ 500 ; 配列番号 2 のアミノ酸 29  
 8 ~ 545 ; 配列番号 2 のアミノ酸 322 ~ 343 ; 配列番号 2 のアミノ酸 322 ~ 40  
 8 ; 配列番号 2 のアミノ酸 322 ~ 500 ; 配列番号 2 のアミノ酸 322 ~ 545 ; 配列  
 番号 2 のアミノ酸 355 ~ 408 ; 配列番号 2 のアミノ酸 355 ~ 500 ; 配列番号 2 の  
 アミノ酸 355 ~ 545 ; 配列番号 2 のアミノ酸 410 ~ 500 ; 配列番号 2 のアミノ酸  
 410 ~ 545 ; またはこのようなポリペプチドの断片、変異体もしくは誘導体。  
 ある特定の実施形態では、可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドは、例えば、哺乳動物にお  
 ける運動ニューロンの生存を促進し、および / または運動ニューロンの軸索成長を促進す  
 る。 40

#### 【0256】

当業者であれば十分に理解するように、例えば、L I N G O - 2 ドメイン領域の別の予  
 測に基づいて、上記のものなどの L I N G O - 2 断片は、長さがいずれかの末端で例えば  
 1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 アミノ酸だけ異なり得る（より長いかま  
 たはより短い）。本明細書に記載される配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6 またはそれ  
 らの断片と少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 % または 95 % 同一の対応  
 する可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド断片も企図される。

#### 【0257】

可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドは、2 つ以上の可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド

の任意の組み合わせを含み得る。したがって、ホモ二量体またはヘテロ二量体のいずれかである可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチド二量体が企図される。本明細書に記載される 2 つ以上の可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドを直接接続することもできるし、または適切なペプチドリンカーを介して接続することもできる。このようなペプチドリンカーは、本明細書の他の場所に記載される。

【 0 2 5 8 】

加えて、上記断片のいずれかは、N 末端に分泌シグナルペプチド、例えば配列番号 2 のアミノ酸の 1 ~ 2 7 をさらに含み得る。本明細書の別の場所に記載されるものなどの他の分泌シグナルペプチドを使用することもできる。

【 0 2 5 9 】

可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドは、環状であり得る。可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドの環化は、直鎖状ペプチドの配座自由度を減少させ、より構造的に制約された分子をもたらす。多くのペプチド環化方法が当技術分野で公知である。例えば、ペプチドの N 末端および C 末端アミノ酸残基間のアミド結合の形成による「骨格 - 骨格」環化。「骨格 - 骨格」環化方法としては、2 つの - チオアミノ酸残基（例えば、システイン、ホモシステイン）間のジスルフィド架橋の形成が挙げられる。ある特定の可溶性 L I N G O - 2 ペプチドは、ペプチドの N 末端および C 末端上に修飾を含んで環状 L I N G O - 2 ポリペプチドを形成する。このような修飾としては、限定されないが、システイン残基、アセチル化システイン残基、NH<sub>2</sub> ポリペプチドおよびビオチンを有するシステイン残基が挙げられる。他のペプチド環化方法は、L i & R o l l e r , C u r r . T o p . M e d . C h e m . 3 : 3 2 5 - 3 4 1 ( 2 0 0 2 ) (これは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる)に記載されている。

【 0 2 6 0 】

V . 抗体およびその抗原結合断片

L I N G O - 2 アンタゴニストとしてはまた、L I N G O - 2 活性のアンタゴニスト、例えば抗体 C 0 9 である L I N G O - 2 特異的抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体が挙げられる。例えば、運動ニューロンで発現されている L I N G O - 2 に対するある特定の L I N G O - 2 抗体の結合は、運動ニューロンの生存の障害を遮断するか、または運動ニューロンの軸索成長の障害を遮断する。ある特定の実施形態では、L I N G O - 2 アンタゴニスト抗体は、例えば、哺乳動物における運動ニューロンの生存を促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

【 0 2 6 1 】

ある特定の実施形態では、結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体、例えば、抗体 C 0 9 は L I N G O - 2 に結合し、運動ニューロンの生存を促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

【 0 2 6 2 】

ある特定の実施形態では、抗 L I N G O - 2 抗体は、ヒト、ラット、マウスまたはヒト、ラットおよびマウスの任意の組み合わせの L I N G O - 2 に結合する。

A . 抗 L I N G O - 2 抗体ポリペプチド

【 0 2 6 3 】

抗体 C 0 9 と同じ L I N G O - 2 エピトープに特異的に結合することができる単離された結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体も提供される。別の実施形態では、単離された結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、C 0 9 の V H および V L を含む抗体と同じ L I N G O - 2 エピトープに特異的に結合することができる。別の実施形態では、単離された結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、C 0 9 の V H または V L を含む抗体と同じ L I N G O - 2 エピトープに特異的に結合することができる。

【 0 2 6 4 】

別の実施形態では、単離された結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、L I N G O - 2 に特異的に結合し、抗体 C 0 9 が L I N G O - 2 (

10

20

30

40

50

例えば、ヒト、ラット、マウスまたはヒト、ラットおよびマウスの任意の組み合わせの L I N G O - 2 ) に特異的に結合するのを競合的に阻害することができる。別の実施形態では、単離された結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、L I N G O - 2 に特異的に結合し、C 0 9 の V H および V L を含む抗体が L I N G O - 2 (例えば、ヒト、ラット、マウスまたはヒト、ラットおよびマウスの任意の組み合わせの L I N G O - 2 ) に特異的に結合するのを競合的に阻害することができる。別の実施形態では、単離された結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、L I N G O - 2 に特異的に結合し、C 0 9 の V H または V L を含む抗体、例えばヒト、ラット、マウスまたはヒト、ラットおよびマウスの任意の組み合わせの L I N G O - 2 を競合的に阻害することができる。

10

#### 【 0 2 6 5 】

ある特定の実施形態では、結合分子は、参照抗 L I N G O - 2 抗体分子のアミノ酸配列と少なくとも 8 0 %、8 5 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 % または 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する。さらなる実施形態では、結合分子は、参照抗体と少なくとも 9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を共有する。ある特定の実施形態では、参照抗体は C 0 9 である。

#### 【 0 2 6 6 】

別の実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、V H ドメインの C D R の少なくとも 1 つが、配列番号 7、8 または 9 (表 3 を参照のこと) の V H アミノ酸配列由来 C D R 1、C D R 2 または C D R 3 領域と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または同一のアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖可変ドメイン (V H ドメイン) を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなり、ここで、該コードされる V H ドメインを含む抗体またはその抗原結合断片は、L I N G O - 2 に特異的または選択的に結合することができる。さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、運動ニューロンの生存を促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

20

#### 【 表 3 】

表3ー参照 V<sub>H</sub> CDR1、CDR2 および CDR3 配列\*

抗体の 名称	V <sub>H</sub> -CDR1	V <sub>H</sub> -CDR2	V <sub>H</sub> -CDR3
C09	P=LYWMN (配列番号7)	P=SISPSGGWTKYADSV KG (配列番号8)	P=DHWGSGSPDY (配列番号9)
	N=CTTTACTGGATGAAT (配列番号15)	N=TCTATCTCTCCTTC TGGTGGCTGGACTAA GTATGCTGACTCCGTT AAAGGT (配列番号16)	N=GATCATTGGG GTTCAGGGAGCC CCGACTAC (配列番号17)

30

40

\* Kabat システムによって決定 (上記を参照のこと)

N = ヌクレオチド配列、P = ポリペプチド配列

#### 【 0 2 6 7 】

別の実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、V<sub>H</sub> ドメインの C D R の少なくとも 1 つが、それぞれ配列番号 7、8 または 9 のアミノ酸配列を有する C D R 1、2 または 3 と少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または同一のアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖可変ドメイン (V<sub>H</sub> ドメイン) を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなり、

50

ここで、該コードされる  $V_H$  ドメインを含む抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2 に特異的または選択的に結合することができる。さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、運動ニューロンの生存を促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

#### 【0268】

別の実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、 $V_H$  ドメインの CDR の少なくとも 1 つが、1 個、2 個、3 個、4 個または 5 個の保存的アミノ酸置換を除いて、それぞれ配列番号 7、8 または 9 のアミノ酸配列を有する CDR 1、2 または 3 と同一のアミノ酸配列を有する免疫グロブリン重鎖可変ドメイン ( $V_H$  ドメイン) を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなり、ここで、該コードされる  $V_H$  ドメインを含む抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2 に特異的または選択的に結合することができる。さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、運動ニューロンの生存を促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

#### 【0269】

別の実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、配列番号 10 (表 4 を参照のこと) の  $V_H$  アミノ酸配列と少なくとも 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% 同一のアミノ酸配列を有する  $V_H$  ドメインを含むか、これから本質的になるか、またはこれからなり、ここで、該コードされる  $V_H$  ドメインを含む抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2 に特異的または選択的に結合することができる。さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、運動ニューロンの生存を促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

#### 【表 4】

表4—参照  $V_H$  配列

抗体の 名称	$V_H$
C09	<p>P=EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSLYWMNWVRQAPGKGLEWV  SSISPSGGWTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD  HWGSGSPDYWGQGTLVTVSS  (配列番号10)</p>
	<p>N=GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGICTTGTT CAGCCTGGTGGT  TCTTTACGTCTTTCTTGCGCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCTCTTTACTGGA  TGAATTGGGTTCCGCAAGCTCCTGGTAAAGGTTTGAGTGGGTTTCTTCT  ATCTCTCCTTCTGGTGGCTGGACTAAGTATGCTGACTCCGTTAAAGGTCG  CTTCACTATCTCTAGAGACA ACTCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGA  ACAGCTTAAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCAAGAGATCA  TTGGGGTTCAGGGAGCCCCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC  GTCTCAAGC (配列番号18)</p>

N=ヌクレオチド配列、P=ポリペプチド配列

#### 【0270】

別の実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、 $V_L$  ドメインの CDR の少なくとも 1 つが、配列番号 11、12 または 13 (表 5 を参

照のこと)のV<sub>L</sub>アミノ酸配列由来CDR1、CDR2またはCDR3領域と少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または同一のアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン(V<sub>L</sub>ドメイン)を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなり、ここで、該コードされるV<sub>L</sub>ドメインを含む抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2に特異的または選択的に結合することができる。さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、運動ニューロンの生存を促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

【表5】

表5—参照V<sub>L</sub> CDR1、CDR2 および CDR3 配列\*

抗体の 名称	V <sub>L</sub> -CDR1	V <sub>L</sub> -CDR2	V <sub>L</sub> -CDR3
C09	P=TGSSRDVGGYDYVS (配列番号11)	P=EVTKRPS (配列番号12)	P=CSYAGANTYV (配列番号13)
	N=ACTGGATCCAGCCGTG ACGTTGGTGGTTATGATT ATGTCTCC (配列番号19)	N=GAGGTCACCTAAGC GGCCCTCA (配列番号20)	N=TGCTCATATGC AGGCGCCAACAC TTATGTC (配列番号21)

Kabatシステムによって決定(上記を参照のこと)  
N=ヌクレオチド配列、P=ポリペプチド配列

【0271】

別の実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、V<sub>L</sub>ドメインのCDRの少なくとも1つが、それぞれ配列番号11、12または13のアミノ酸配列を有するCDR1、2または3と少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%または同一のアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン(V<sub>L</sub>ドメイン)を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなり、ここで、該コードされるV<sub>L</sub>ドメインを含む抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2に特異的または選択的に結合することができる。さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、運動ニューロンの生存を促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

【0272】

別の実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、V<sub>L</sub>ドメインのCDRの少なくとも1つが、1個、2個、3個、4個または5個の保存的アミノ酸置換を除いて、それぞれ配列番号11、12または13のアミノ酸配列を有するCDR1、2または3と同一のアミノ酸配列を有する免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン(V<sub>L</sub>ドメイン)を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなり、ここで、該コードされるV<sub>L</sub>ドメインを含む抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2に特異的または選択的に結合することができる。さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、運動ニューロンの生存を促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

【0273】

さらなる実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、配列番号14(表6を参照のこと)のV<sub>L</sub>アミノ酸配列と少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%同一のアミノ酸配列を有するV<sub>L</sub>ドメインを含むか、これから本質的になるか、またはこれからなり、ここで、該コードされるV<sub>L</sub>ドメインを含む抗体またはそ

の抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2に特異的または選択的に結合することができる。さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、運動ニューロンの生存を阻害し促進するか、または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

【表6】

表6—参照V<sub>L</sub>配列

抗体の 名称	V <sub>L</sub>
C09	<p>P=QSVLTQPPSASGSPGQSLTISCTGSSRDVGGYDYVSWFQQHPGKAPKLVIS EVTKRPSGV PDRFSGSKSGNTASLTVSGLQPEDEADYYCCSYAGANTYVFGSGTRVTVL (配列番号14)</p>
	<p>N=CAGAGCGTCTTGACTCAGCCTCCCTCCGCGTCCGGGTCTCCTGGACAG TCACTCACCATCTCCTGCACTGGATCCAGCCGTGACGTTGGTGGTTATGA TTATGTCTCCTGGTTCCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAACCTCGTGA TTTCTGAGGTCACTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGATCGGTTCTCTGGC TCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCGTCTCTGGACTCCAACCTGA GGATGAGGCTGATTATTATGCTGCTCATATGCAGGCGCCAACACTTATG TCTTCGGAAGTGGGACCAGAGTCACCGTCCTG (配列番号22)</p>

N=ヌクレオチド配列、P=ポリペプチド配列

【0274】

ある特定のアンタゴニスト抗体は、特定のLINGO-2ポリペプチド断片またはドメイン、例えば、本明細書に記載されるLINGO-2ポリペプチド、断片、変異体または誘導体に特異的または選択的に結合することができる。

【0275】

抗LINGO-2抗体の適切な生物学的に活性な変異体も有用である。このような変異体は、親抗LINGO-2抗体の所望の結合特性を保持しているであろう。抗体変異体を作製するための方法は、当技術分野で一般に利用可能である。

【0276】

LINGO-2に特異的に結合することができ、所望の活性を保持することができるポリペプチドの正確な化学構造は、いくつかの因子に依存する。イオン化可能なアミノ基およびカルボキシル基が分子中に存在するので、特定のポリペプチドは、酸性もしくは塩基性の塩としてまたは中性の形態で得ることができる。適切な環境条件に置かれた場合にそれらの生物学的活性を保持するすべてのこのような調製物は、本明細書で使用される抗LINGO-2抗体の定義に含まれる。さらに、ポリペプチドの一次アミノ酸配列は、糖部分(グリコシル化)を使用して誘導体化によって、または脂質、リン酸塩、アセチル基などの他の補助分子によって増強され得る。これは、糖とのコンジュゲーションによっても増強され得る。このような増強のある特定の態様は、産生宿主の翻訳後プロセッシングシステムによって達成される；他のこのような改変は、インビトロで導入し得る。いずれの場合でも、このような改変は、抗LINGO-2抗体の所望の特性が損なわれない限り、本明細書で使用される抗LINGO-2抗体の定義に含まれる。このような改変は、様々なアッセイにおいて、ポリペプチドの活性を増強または減少させることによって、活性に対して定量的または定性的な影響を及ぼし得ると予想される。さらに、酸化、還元または他

の誘導体化によって鎖中の個々のアミノ酸残基を改変することもできるし、ポリペプチドを切断して活性を保持する断片を得ることもできる。所望の特性（例えば、LINGO-2に対する結合特異性、結合親和性および関連活性、例えば、運動ニューロンの死を阻害する能力、および運動ニューロンの軸索成長を促進する能力）を損なわないこのような変化は、本明細書で使用される目的の抗LINGO-2抗体の定義からポリペプチド配列を除外するものではない。

#### 【0277】

この技術は、ポリペプチド変異体の調製および使用に関して実質的なガイダンスを提供する。抗LINGO-2結合分子の変異体、例えば抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体の調製において、当業者であれば、天然タンパク質のヌクレオチドまたは

10

#### 【0278】

抗体分子のフレームワーク領域のみまたはCDR領域のみに突然変異を導入することが可能である。導入された突然変異は、サイレントまたは中立ミスセンス突然変異であり得る（すなわち、抗原に結合する抗体の能力に対して全くまたはほとんど影響を及ぼさない）。これらの種類の突然変異は、コドン使用を最適化するために、またはハイブリドーマの抗体産生を改善するのに有用であり得る。あるいは、非中立ミスセンス突然変異は、抗体の抗原結合能を変化させ得る。ほとんどのサイレントおよび中立ミスセンス突然変異の位置はフレームワーク領域内にあることが多く、ほとんどの非中立ミスセンス突然変異の位置はCDR内にあることが多いが、これは絶対条件ではない。当業者であれば、抗原結合活性の変化がないかまたは結合活性の変化がある（例えば、抗原結合活性の改善または抗体特異性の変化）などの所望の特性を有する突然変異体分子を設計および試験することができる。突然変異誘発の後に、コードされるタンパク質をルーチンに発現させ、コードされるタンパク質の機能的および/または生物学的な活性（例えば、LINGO-2ポリペプチドの少なくとも1つのエピトープに免疫特異的に結合する能力）を、本明細書に記載される技術を使用して、または当技術分野で公知の技術をルーチンに改変することによって決定することができる。

20

#### 【0279】

ある特定の実施形態では、抗LINGO-2抗体は、少なくとも1つの最適化相補性決定領域（CDR）を含む。「最適化CDR」は、CDRを改変し、最適化CDRを含む抗LINGO-2抗体に付与された持続もしくは改善された結合親和性および/または抗LINGO-2活性に基づいて最適化配列を選択することを意図する。「抗LINGO-2活性」は、例えば、LINGO-2に関連する以下の活性、例えば、運動ニューロンのLINGO-2依存性運動ニューロン細胞死、運動ニューロンの軸索成長のLINGO-2依存性阻害、またはLINGO-2に関連する任意の他の活性の1つ以上を調節する活性を含み得る。抗LINGO-2活性はまた、LINGO-2発現に関連する疾患、限定されないが、ある特定の種類の運動ニューロン関連疾患（*related diseases*）、例えば筋萎縮性側索硬化症（ALS）、パーキンソン病および本態性振戦（ET）の発生率または重症度の低下に起因し得る。改変は、抗LINGO-2抗体がLINGO-2抗原に対する特異性を保持し、改善された結合親和性および/または改善された抗LINGO-2活性を有するように、CDR内のアミノ酸残基を置換することを含み得る。

30

40

B. 抗LINGO-2抗体をコードするポリヌクレオチド

#### 【0280】

本発明の抗LINGO-2抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードする核酸分子も本明細書で提供される。

#### 【0281】

一実施形態では、単離されたポリヌクレオチドは、V<sub>H</sub>ドメインのCDRの少なくとも1つが、配列番号18（表4を参照のこと）から選択されるV<sub>H</sub>コード配列のV<sub>H</sub>CDR1、2または3ポリヌクレオチド配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、9

50

6 %、97 %、98 %、99 %または同一の核酸配列によってコードされる免疫グロブリン重鎖可変ドメイン（ $V_H$ ドメイン）をコードする核酸を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる。ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、運動ニューロンの生存および/または運動ニューロンの軸索成長を促進する抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードする。

【0282】

他の実施形態では、単離されたポリヌクレオチドは、 $V_H$ ドメインのCDRの少なくとも1つの配列が、(a)配列番号7に記載されているアミノ酸配列を含むCDR1配列；(b)配列番号8に記載されているアミノ酸配列を含むCDR2配列；および(c)配列番号9に記載されているアミノ酸配列を含むCDR3配列からなる群より選択される免疫グロブリン $V_H$ ドメインをコードする核酸を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる。ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、運動ニューロンの生存および/または運動ニューロンの軸索成長を促進する抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードする。

10

【0283】

さらなる実施形態では、単離されたポリヌクレオチドは、配列番号10を含む参照 $V_H$ ドメインポリペプチド配列と少なくとも80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %または100 %同一のアミノ酸配列を有する $V_H$ ドメインをコードする核酸を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなり、ここで、該コードされる $V_H$ ドメインを含む抗LINGO-2抗体は、LINGO-2に特異的または選択的に結合する。ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、運動ニューロンの生存および/または運動ニューロンの軸索成長を促進する抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードする。

20

【0284】

一実施形態では、単離されたポリヌクレオチドは、 $V_L$ ドメインのCDRの少なくとも1つが、配列番号22（表6を参照のこと）から選択される $V_L$ コード配列の $V_L$ CDR1、2または3ポリヌクレオチド配列と少なくとも80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %または同一の核酸配列によってコードされる免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン（ $V_L$ ドメイン）をコードする核酸を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる。ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、運動ニューロンの生存および/または運動ニューロンの軸索成長を促進する抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードする。

30

【0285】

他の実施形態では、単離されたポリヌクレオチドは、 $V_L$ ドメインのCDRの少なくとも1つの配列が、(a)配列番号11に記載されているアミノ酸配列を含むCDR1配列；(b)配列番号12に記載されているアミノ酸配列を含むCDR2配列；および(c)配列番号13に記載されているアミノ酸配列を含むCDR3配列からなる群より選択される免疫グロブリン $V_L$ ドメインをコードする核酸を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる。ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、運動ニューロンの生存および/または運動ニューロンの軸索成長を促進する抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードする。

40

【0286】

さらなる実施形態では、単離されたポリヌクレオチドは、配列番号14を含む参照 $V_L$ ドメインポリペプチド配列と少なくとも80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %または100 %同一のアミノ酸配列を有する $V_L$ ドメインをコードする核酸を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなり、ここで、該コードされる $V_L$ ドメインを含む抗LINGO-2抗体は、LINGO-2に特異的または選択的に結合する。ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドは、運動ニューロンの生存および/または運動ニューロンの軸索成長を促進する抗体または抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードする。

50

## 【0287】

上記ポリヌクレオチドはいずれも、例えば、コードされるポリペプチドの分泌を指令するシグナルペプチド、本明細書に記載される抗体定常領域または本明細書に記載される他の異種ポリペプチドをコードするさらなる核酸をさらに含み得る。また、上記ポリヌクレオチドの1つ以上を含む組成物が本明細書で提供される。

## 【0288】

一実施形態では、組成物は、第1のポリヌクレオチドと第2のポリヌクレオチドとを含み、ここで、前記第1のポリヌクレオチドは本明細書に記載される $V_H$ ドメインをコードし、前記第2のポリヌクレオチドは本明細書に記載される $V_L$ ドメインをコードする。具体的には、配列番号18に記載されている $V_H$ ドメインコードポリヌクレオチドと、 $V_L$ ドメインコードポリヌクレオチド、例えば、配列番号22に記載されている $V_L$ ドメインをコードするポリヌクレオチドとを含むか、これらから本質的になるか、またはこれらからなる組成物が提供される。配列番号7、配列番号8および配列番号9をコードする核酸配列を含む $V_H$ ドメインコードポリヌクレオチドと、配列番号11、配列番号12および配列番号13をコードする核酸配列を含む $V_L$ ドメインコードポリヌクレオチドとを含むか、これらから本質的になるか、またはこれらからなる組成物も提供される。

## 【0289】

他の場所で記載されるように、ポリヌクレオチドの断片も提供される。加えて、本明細書に記載される融合ポリペプチド、Fab断片および他の誘導体をコードするポリヌクレオチドも企図される。

## 【0290】

ポリヌクレオチドは、当技術分野で公知の任意の方法によって生産または製造することができる。例えば、抗体のヌクレオチド配列が公知である場合、（例えば、Kutmeierら、Bio Techniques 17:242(1994)に記載されるように）抗体をコードするポリヌクレオチドを化学合成オリゴヌクレオチドからアセンブルすることができ、これは、簡潔に言えば、抗体をコードする配列の部分を含むオーバーラップオリゴヌクレオチドを合成し、これらのオリゴヌクレオチドをアニーリングおよびライゲーションし、次いで、ライゲーションしたオリゴヌクレオチドをPCRによって増幅することを含む。

## 【0291】

あるいは、抗LINGO-2抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドは、適切な供給源由来の核酸から作製することができる。特定の抗体をコードする核酸を含むクローンが入手可能ではないが、抗体分子の配列が公知である場合、抗体をコードする核酸は、化学合成することができるか、または適切な供給源（例えば、抗体cDNAライブラリー、または抗体もしくは他の抗LINGO-2抗体を発現する任意の組織または細胞、例えば抗体を発現する選択されたハイブリドーマ細胞から作製されたcDNAライブラリーもしくはこれから単離された核酸、例えばポリA+RNA）から、配列の3'および5'端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用してPCR増幅によって、または特定の遺伝子配列に対して特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用してクローニングし、例えば抗体もしくは他の抗LINGO-2抗体をコードするcDNAライブラリー由来のcDNAクローンを同定することによって得ることができる。次いで、PCRによって作製した増幅核酸を、当技術分野で周知の任意の方法を使用して複製可能なクローニングベクターにクローニングすることができる。

## 【0292】

抗LINGO-2抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体のヌクレオチド配列および対応するアミノ酸配列が決定されると、ヌクレオチド配列の操作のための当技術分野で周知の方法、例えば組換えDNA技術、部位特異的突然変異誘発、PCRなどを使用してそのヌクレオチド配列を操作して（例えば、Sambrookら、(1990) Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory, Cold

Spring Harbor, N.Y.) および Ausubel ら、eds. (1998) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, NY) (これらは両方とも、その全体が参照により本明細書に組み込まれる) に記載されている技術を参照のこと)、異なるアミノ酸配列を有する抗体を作製する(例えばアミノ酸置換、欠失および/または挿入を創出する)ことができる。

#### 【0293】

抗LINGO-2結合分子、例えば抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドは、非修飾RNAもしくはDNAまたは修飾RNAもしくはDNAであり得る任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドから構成され得る。例えば、抗LINGO-2抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドは、一本鎖および二本鎖DNA、一本鎖および二本鎖領域の混合物であるDNA、一本鎖および二本鎖RNA、および一本鎖および二本鎖領域の混合物であるRNA、一本鎖またはより典型的には二本鎖または一本鎖および二本鎖領域の混合物であり得るDNAおよびRNAを含むハイブリッド分子から構成され得る。加えて、抗LINGO-2結合分子、例えば抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドは、RNAもしくはDNAまたはRNAおよびDNAの両方を含む三本鎖領域から構成され得る。抗LINGO-2結合分子、例えば抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドはまた、1つ以上の修飾塩基、または安定性もしくは他の理由により修飾されたDNAもしくはRNA骨格を含有し得る。「修飾」塩基としては、例えば、トリチル化塩基および異常塩基、例えばイノシンが挙げられる。様々な修飾をDNAおよびRNAに行うことができる;したがって、「ポリヌクレオチド」は、化学的、酵素的、または代謝的に修飾された形態を包含する。

#### 【0294】

1つ以上のアミノ酸置換、付加または欠失がコードされるタンパク質に導入されるように、1つ以上のヌクレオチド置換、付加または欠失を免疫グロブリンのヌクレオチド配列に導入することによって、免疫グロブリン由来のポリペプチド(例えば、免疫グロブリン重鎖部分または軽鎖部分)の非天然変異体をコードする単離されたポリヌクレオチドを形成することができる。部位特異的突然変異誘発およびPCR媒介突然変異誘発などの標準的技術によって、突然変異を導入することができる。1つ以上の非必須アミノ酸残基において、保存的アミノ酸置換を行うことができる。

C. 抗LINGO-2抗体の特徴

#### 【0295】

他の実施形態では、結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2の少なくとも1つのエピトープであって、配列番号2または配列番号4の少なくとも約4~5アミノ酸、配列番号2または配列番号4の少なくとも7、少なくとも9または少なくとも約15~約30アミノ酸を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなるエピトープに特異的または選択的に結合する。記載される配列番号2または配列番号4の所定のエピトープのアミノ酸は連続的または直鎖状であり得るが、これが必須ではない。ある特定の実施形態では、LINGO-2の少なくとも1つのエピトープは、細胞表面上にまたは例えばIgGFc領域に融合された可溶性断片として発現されるLINGO-2の細胞外ドメインによって形成される非直鎖状エピトープを含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる。したがって、ある特定の実施形態では、LINGO-2の少なくとも1つのエピトープは、配列番号2または配列番号4の連続的または非連続的な少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、約15~約30または少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95もしくは100アミノ酸を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる。ここで、非連続的ア

ミノ酸は、タンパク質フォールディングによってエピトープを形成する。

【0296】

他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2の少なくとも1つのエピトープであって、上記配列番号2または配列番号4の連続的または非連続的な1、2、3、4、5、6アミノ酸またはそれ以上に加えて、タンパク質を改変するさらなるポリペプチドを含むか、これから本質的になるか、またはこれらなるエピトープに特異的または選択的に結合する（例えば、LINGO-2抗体が、それが非改変型のタンパク質に結合するよりも高い親和性で改変標的タンパク質に結合するように、炭水化物ポリペプチドを含むことができる）。あるいは、LINGO-2抗体は、非改変型の標的タンパク質には全く結合しない。

10

【0297】

他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、LINGO-2のLRRドメインに結合する。

【0298】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、配列番号2のアミノ酸28~408、配列番号2のアミノ酸58~343、配列番号2のアミノ酸82~343、配列番号2のアミノ酸106~343、配列番号2のアミノ酸130~343、配列番号2のアミノ酸154~343、配列番号2のアミノ酸178~343、配列番号2のアミノ酸202~343、配列番号2のアミノ酸226~343、または配列番号2のアミノ酸250~343におけるエピトープに結合する。

20

【0299】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、配列番号2のアミノ酸202~223、配列番号2のアミノ酸202~247、配列番号2のアミノ酸202~271、配列番号2のアミノ酸202~295、配列番号2のアミノ酸202~319、または配列番号2のアミノ酸202~343におけるエピトープに結合する。

【0300】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、配列番号2のアミノ酸226~247、配列番号2のアミノ酸226~271、配列番号2のアミノ酸226~295、配列番号2のアミノ酸226~319、または配列番号2のアミノ酸226~343におけるエピトープに結合する。

30

【0301】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、配列番号2のアミノ酸250~271、配列番号2のアミノ酸250~295、配列番号2のアミノ酸250~319、または配列番号2のアミノ酸250~343におけるエピトープに結合する。

【0302】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、配列番号2のアミノ酸274~295、配列番号2のアミノ酸274~319、または配列番号2のアミノ酸274~343におけるエピトープに結合する。

40

【0303】

さらなる実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、配列番号2のアミノ酸298~319、または配列番号2のアミノ酸298~343におけるエピトープに結合する。

【0304】

ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、上記LINGO-2または断片もしくは変異体の少なくとも1つのエピトープに特異的に結合する（すなわち、それが無関係なまたはランダムエピトープに結合するよりも容易にこのようなエピトープに結合する）か；上記LINGO-2または断片もしくは変異体の少なくとも1つのエピトープに選択的に結合する（すなわち、それが関連、類似、相同また

50

は相似エピトープに結合するよりも容易にこのようなエピトープに結合する)か;上記LINGO-2または断片もしくは変異体のある特定のエピトープにそれ自体が特異的または選択的に結合する参照抗体の結合を競合的に阻害するか;または、約 $5 \times 10^{-2}$  M未満、約 $10^{-2}$  M、約 $5 \times 10^{-3}$  M、約 $10^{-3}$  M、約 $5 \times 10^{-4}$  M、約 $10^{-4}$  M、約 $5 \times 10^{-5}$  M、約 $10^{-5}$  M、約 $5 \times 10^{-6}$  M、約 $10^{-6}$  M、約 $5 \times 10^{-7}$  M、約 $10^{-7}$  M、約 $5 \times 10^{-8}$  M、約 $10^{-8}$  M、約 $5 \times 10^{-9}$  M、約 $10^{-9}$  M、約 $5 \times 10^{-10}$  M、約 $10^{-10}$  M、約 $5 \times 10^{-11}$  M、約 $10^{-11}$  M、約 $5 \times 10^{-12}$  M、約 $10^{-12}$  M、約 $5 \times 10^{-13}$  M、約 $10^{-13}$  M、約 $5 \times 10^{-14}$  M、約 $10^{-14}$  M、約 $5 \times 10^{-15}$  Mまたは約 $10^{-15}$  Mの解離定数KDを特徴とする親和性で、上記LINGO-2または断片もしくは変異体の少なくとも1つのエピトープに結合する。特定の態様では、抗体またはその断片は、マウスLINGO-2ポリペプチドまたはその断片と比べて、ヒトLINGO-2ポリペプチドまたはその断片に選択的に結合する。

10

### 【0305】

抗体結合解離定数との関連で使用される場合、用語「約」は、抗体親和性を測定するのに利用される方法に特有のある程度の変動を許容する。例えば、使用される器具類の精度レベル、測定される試料の数に基づく標準誤差、および丸め誤差に依存して、用語「約 $10^{-2}$  M」は、例えば $0.05$  M ~  $0.005$  Mを含み得る。

### 【0306】

具体的な実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、 $5 \times 10^{-2}$  秒 $^{-1}$ 以下、 $10^{-2}$  秒 $^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-3}$  秒 $^{-1}$ または $10^{-3}$  秒 $^{-1}$ のオフ速度(k(off))で、LINGO-2ポリペプチドまたはその断片もしくは変異体に結合する。あるいは、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、 $5 \times 10^{-4}$  秒 $^{-1}$ 以下、 $10^{-4}$  秒 $^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-5}$  秒 $^{-1}$ または $10^{-5}$  秒 $^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-6}$  秒 $^{-1}$ 、 $10^{-6}$  秒 $^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-7}$  秒 $^{-1}$ または $10^{-7}$  秒 $^{-1}$ のオフ速度(k(off))で、LINGO-2ポリペプチドまたはその断片もしくは変異体に結合する。

20

### 【0307】

他の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、 $10^3$  M $^{-1}$ 秒 $^{-1}$ 以上、 $5 \times 10^3$  M $^{-1}$ 秒 $^{-1}$ 、 $10^4$  M $^{-1}$ 秒 $^{-1}$ または $5 \times 10^4$  M $^{-1}$ 秒 $^{-1}$ のオン速度(k(on))で、LINGO-2ポリペプチドまたはその断片もしくは変異体に結合する。あるいは、抗体またはその抗原結合断片、変異体もしくは誘導体は、 $10^5$  M $^{-1}$ 秒 $^{-1}$ 以上、 $5 \times 10^5$  M $^{-1}$ 秒 $^{-1}$ 、 $10^6$  M $^{-1}$ 秒 $^{-1}$ または $5 \times 10^6$  M $^{-1}$ 秒 $^{-1}$ または $10^7$  M $^{-1}$ 秒 $^{-1}$ のオン速度(k(on))で、LINGO-2ポリペプチドまたはその断片もしくは変異体に結合する。

30

### 【0308】

ある特定のLINGO-2アンタゴニスト抗体またはその抗原結合断片では、定常領域ドメインの1つ以上の少なくとも一部が欠損しているか、または所望の生化学的特徴、例えばほぼ同一の免疫原性の非改変全抗体と比較したエフェクタ機能の低下、非共有結合的に二量体化する能力、腫瘍部位に局在化する能力の改善、血清半減期の減少または血清半減期の増加を提供するように別様に改変されている。例えば、ある特定の抗体は、免疫グロブリン重鎖に類似のポリペプチド鎖を含むが、1つ以上の重鎖ドメインの少なくとも一部を欠くドメイン欠損抗体である。例えば、ある特定の抗体では、修飾抗体の定常領域の1つのドメイン全体が欠損しており、例えば、CH2ドメインの全部または一部が欠損している。

40

### 【0309】

ある特定のLINGO-2アンタゴニスト抗体またはその抗原結合断片では、当技術分野で公知の技術を使用して、エフェクタ機能を低下するようにFc部分を突然変異することが可能である。例えば、定常領域の修飾を使用して、ジスフィルド結合またはオリゴ糖部分を修飾し、抗原特異性または抗体の柔軟性の改善によって局在性の増強を可能にし得る。修飾の結果として生じる生理学的プロファイル、バイオアベイラビリティ、および他の生

50

化学的効果は、過度の実験を伴わずに、周知の免疫学的技術を使用して容易に測定および定量することができる。

【0310】

ある特定の実施形態では、LINGO-2アンタゴニスト抗体またはその抗原結合断片は、処置される動物、例えばヒトにおいて有害な免疫反応を引き起こさない。一実施形態では、当技術分野で認められている技術を使用して、LINGO-2アンタゴニスト抗体またはその抗原結合断片を修飾して、それらの免疫原性を低下させることができる。例えば、抗体をヒト化、霊長類化、脱免疫化することもできるし、またはキメラ抗体を作製することもできる。これらの種類の抗体は、親抗体の抗原結合特性を保持または実質的に保持するが、ヒトでは免疫原性が低い非ヒト抗体、典型的にはマウスまたは霊長類抗体に由来する。これは、(a)非ヒト可変ドメイン全体をヒト定常領域に移植してキメラ抗体を作製すること；(b)重要なフレームワーク残基の保持の有無にかかわらず、非ヒト相補性決定領域(CDR)の1つ以上の少なくとも一部をヒトフレームワークおよび定常領域に移植すること；または、(c)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ヒト様区分でそれらを「クロークキングする」ことを含む様々な方法によって達成することができる。このような方法は、Morrissonら、Proc. Natl. Acad. Sci. 81:6851-6855(1984)；Morrissonら、Adv. Immunol. 44:65-92(1988)；Verhoevenら、Science 239:1534-1536(1988)；Padlan, Molec. Immun. 28:489-498(1991)；Padlan, Molec. Immun. 31:169-217(1994)、ならびに米国特許第5,585,089号、米国特許第5,693,761号、米国特許第5,693,762号および米国特許第6,190,370号(これらはすべて、その全体が参照により本明細書に組み込まれる)に開示されている。

10

20

【0311】

改変型の抗体またはその抗原結合断片は、当技術分野で公知の技術を使用して全前駆体または親抗体から作製することができる。例示的な技術は、本明細書でより詳細に論じられる。

【0312】

LINGO-2アンタゴニスト抗体またはその抗原結合断片は、当技術分野で公知の技術を使用して作製または製造することができる。ある特定の実施形態では、抗体分子またはその断片は「組換え生産」される(すなわち、組換えDNA技術を使用して生産される)。抗体分子またはその断片を作製するための例示的な技術は、本明細書でより詳細に論じられる。

30

【0313】

LINGO-2アンタゴニスト抗体またはその断片は、ポリクローナル抗体の作製、または例えばハイブリドーマもしくはファージディスプレイによるモノクローナル抗体の調製(preparation)を含む当技術分野で公知の任意の適切な方法によって作製することができる。

【0314】

抗体分子を発現させるために、様々な宿主-発現ベクター系を利用することができる。2つの発現ベクター(重鎖由来のポリペプチドをコードする第1のベクターおよび軽鎖由来のポリペプチドをコードする第2のベクター)で宿主細胞をコトランスフェクトすることができる。2つのベクターは、重鎖および軽鎖ポリペプチドの同等の発現を可能にする同一の選択可能なマーカ含有し得る。あるいは、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方をコードする単一ベクターを使用することができる。このような状況では、有利には、過剰な毒性遊離重鎖を回避するために、軽鎖を重鎖の前に配置する(Proudfoot, Nature 322:52(1986)；Kohler, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:2197(1980))。重鎖由来のポリペプチドおよび軽鎖由来のポリペプチドをコードする単一ベクターで宿主細胞をトランスフェクトすること

40

50

もできる。重鎖および軽鎖のコード配列は、cDNAまたはゲノムDNAを含み得る。

【0315】

1つ以上の発現ベクターを従来の技術によって宿主細胞に導入し、次いで、トランスフェクトした細胞を従来の技術によって培養して抗体を産生させる。したがって、抗体またはその重鎖もしくは軽鎖をコードするポリヌクレオチドであって、異種プロモーターに作動可能に連結されたポリヌクレオチドを含有する宿主細胞が提供される。二重鎖抗体を発現するためのある特定の実施形態では、免疫グロブリン分子全体を発現させるために、重鎖および軽鎖の両方をコードするベクターを宿主細胞において同時発現させることができる。

【0316】

抗体が組換え発現されたら、当技術分野で公知の任意の免疫グロブリン分子精製法によって、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、アフィニティ、特にプロテインA後の特定の抗原に対するアフィニティ、およびサイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、差示的溶解性によって、または任意の他の標準的なタンパク質精製技術によって、それを精製することができる。あるいは、抗体の親和性を増加させるための方法が米国特許出願公開第2002/0123057号A1に開示されている。

【0317】

一実施形態では、結合分子または抗原結合分子は、1つ以上のドメインが部分的または全体的に欠損している合成定常領域を含む（「ドメイン欠損抗体」）。ある特定の実施形態では、適合性修飾抗体は、CH2ドメイン全体が除去されているドメイン欠損構築物または変異体（CH2構築物）を含む。他の実施形態について、可変領域の動作の柔軟性および自由度を提供するために、短い連結ペプチドを欠損ドメインの代わりとすることができる。当業者であれば、抗体の異化率に対するCH2ドメインの調節特性のために、このような構築物がある特定の状況下では望ましい場合があることを認識するであろう。ドメイン欠損構築物は、IgG1ヒト定常ドメインをコードするベクター（例えば、BioGen IDEC Incorporated製）を使用して得ることができる（例えば、国際公開第02/060955号A2および国際公開第02/096948号A2を参照のこと）。CH2ドメインを欠損させ、ドメイン欠損IgG1定常領域を発現する合成ベクターを提供するように、この例示的なベクターを操作した。

【0318】

本明細書に記載される抗体分子（例えば、VH領域および/またはVL領域）の変異体（誘導体を含む）を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる抗体の使用であって、前記抗体またはその断片がLINGO-2ポリペプチドに免疫特異的に結合する使用も本明細書に提供される。

【0319】

VI. ポリペプチドおよび抗体コンジュゲートおよび融合体

異種ポリペプチドに融合されてLINGO-2融合タンパク質を形成するLINGO-2ポリペプチド（例えば、LINGO-2アンタゴニストポリペプチド）も本明細書で提供される。異種ポリペプチド（polypeptides）に融合された抗LINGO-2抗体も提供される（provided）。様々な目的、例えば、血清半減期の増加、バイオアベイラビリティの改善、特定の器官または組織型に対するインビボ標的化、組換え発現効率の改善、宿主細胞分泌の改善、精製容易性およびより高いアビディティを達成するために、LINGO-2融合タンパク質および抗体融合体を使用することができる。達成すべき目的に応じて、異種ポリペプチドは、不活性または生物学的に活性であり得る。また、LINGO-2ポリペプチドもしくは抗体に安定的に融合されるか、またはインビトロもしくはインビボで切断可能であるようにそれを選択することができる。異なる目的を達成するための異種部分は、当技術分野で公知である。

【0320】

LINGO-2アンタゴニスト融合ポリペプチドまたは抗体の発現の代案として、選択された異種ポリペプチドを予め形成し、LINGO-2アンタゴニストポリペプチドまた

10

20

30

40

50

は抗体に化学的にコンジュゲートすることができる。ほとんどの場合、L I N G O - 2 アンタゴニストポリペプチドまたは抗体に融合またはコンジュゲートするにかかわらず、選択された異種ポリペプチドは同様に機能するであろう。したがって、異種アミノ酸配列についての以下の議論では、特に断りのない限り、融合タンパク質の形態で、または化学的なコンジュゲートとして、異種配列をL I N G O - 2 アンタゴニストポリペプチドまたは抗体に結合できると理解するべきである。

#### 【0321】

いくつかの方法は、I g 重鎖定常領域のF c領域（すなわち、C末端部分）に融合されたL I N G O - 2 ポリペプチドを用いる。一実施形態では、可溶性L I N G O - 2 ポリペプチドは、ヒンジおよびF c領域に融合される。L I N G O - 2 - F c融合体の潜在的な利点としては、溶解性、インビボ安定性、および多価性、例えば二量体化が挙げられる。使用されるF c領域は、I g A、I g D、またはI g G F c領域であり得る（ヒンジ - C H 2 - C H 3）。あるいは、I g EまたはI g M F c領域であり得る（ヒンジ - C H 2 - C H 3 - C H 4）。例えば、I g G 1 F c領域またはI g G 4 F c領域などのI g G F c領域も使用することができる。F c融合体をコードするDNAを構築および発現するための材料および方法は当技術分野で公知であり、過度の実験を伴わずに、L I N G O - 2 融合体を得るために適用することができる。いくつかの方法は、C a p o nらの米国特許第5,428,130号および米国特許第5,565,335号に記載されているものなどのL I N G O - 2 融合タンパク質を用いる。

10

#### 【0322】

完全にインタクトな野生型F c領域は、F c融合タンパク質に不要なまたは望まれない場合があるエフェクタ機能を示す。したがって、融合タンパク質中のF c領域から、ある特定の結合部位を削除することができる。例えば、軽鎖との同時発現は不要であるため、重鎖結合タンパク質の結合部位B i p（H e n d e r s h o tら、1987、I m m u n o l . T o d a y 8:111-114）を、この部位が効率的な分泌を妨げないようにI g EのF c領域のC H 2ドメインから削除する。同様に、免疫グロブリンの軽鎖に対する結合に関与するF c領域に存在するシステイン残基を、これらのシステイン残基がF c領域の適切なフォールディングを妨げないように削除することもできるし、または別のアミノ酸で置換することもできる。I g Mに存在するものなどの膜貫通ドメイン配列も削除することができる。

20

30

#### 【0323】

ある特定の実施形態では、I g G<sub>1</sub> F c領域を使用する。あるいは、免疫グロブリンの他のサブクラス（ - 2、 - 3、および - 4）のF c領域を分泌力セットに使用することができる。免疫グロブリン - 1のI g G<sub>1</sub> F c領域は、ヒンジ領域の少なくとも一部と、C<sub>H</sub>2領域と、C<sub>H</sub>3領域とを含む。いくつかの実施形態では、免疫グロブリン - 1のF c領域は、ヒンジ領域の一部とC<sub>H</sub>3領域とを含むがC<sub>H</sub>2領域を含まないC<sub>H</sub>2欠損F cである。C<sub>H</sub>2欠損F cは、G i l l i e sら、H u m . A n t i b o d . H y b r i d o m a s 1:47（1990）によって記載されている。いくつかの実施形態では、I g A、I g D、I g E、またはI g Mの1つのF c領域を使用する。

40

#### 【0324】

L I N G O - 2 - F c融合タンパク質は、いくつかの異なる構造で構築することができる。一構造では、可溶性L I N G O - 2 ポリペプチドのC末端は、F cヒンジポリペプチドのN末端に直接融合される。わずかに異なる構造では、可溶性L I N G O - 2 ポリペプチドのN末端とF cポリペプチドのC末端との間において、短いポリペプチド、例えば、2~10アミノ酸を融合体に組み込む。このようなリンカーは、いくつかの状況において生物学的活性を改善し得る立体構造の柔軟性を提供する。ヒンジ領域の十分な部分がF cポリペプチド中に保持される場合、L I N G O - 2 - F c融合体は二量体化して二価分子を形成する。単量体F c融合体の相同集団は、単一特異性二価二量体をもたらすであろう。それぞれ異なる特異性を有する2つの単量体F c融合体の混合物は、二重特異性二価二量体をもたらすであろう。

50

## 【0325】

L I N G O - 2 ポリペプチドおよび抗 L I N G O - 2 抗体ポリペプチド抗体は、異種ポリペプチドの N 末端または C 末端にさらに組換え融合され得る。例えば、L I N G O - 2 アンタゴニストポリペプチドまたは抗体は、検出アッセイで標識として有用な分子、およびエフェクタ分子、例えば異種ポリペプチド、薬剤、放射性核種、または毒素に組換え融合またはコンジュゲートされ得る。例えば、国際公開第 92 / 08495 号；国際公開第 91 / 14438 号；国際公開第 89 / 12624 号；米国特許第 5,314,995 号；および欧州特許第 396,387 号を参照のこと。

## 【0326】

L I N G O - 2 の機能を阻害する L I N G O - 2 アンタゴニストポリペプチドまたは抗体融合体を含むか、これから本質的になるか、またはこれからなる融合タンパク質も提供される。ある特定の実施形態では、L I N G O - 2 アンタゴニストポリペプチドまたは抗体が融合された異種ポリペプチドは、機能的に有用であるか、または L I N G O - 2 アンタゴニストポリペプチドもしくは抗体を標的とするのに有用である。ある特定の実施形態では、L R R ドメイン、I g ドメインもしくは細胞外ドメイン全体（配列番号 2 のアミノ酸 28 ~ 545 に対応する）を含む可溶性 L I N G O - 2 アンタゴニストポリペプチド、例えば L I N G O - 2 ポリペプチド、または本明細書に記載される任意の他の L I N G O - 2 ポリペプチド断片、変異体もしくは誘導体は、異種ポリペプチドポリペプチドに融合されて、L I N G O - 2 アンタゴニスト融合ポリペプチドを形成する。シグナル配列は、小胞体膜を通るタンパク質輸送を開始するアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドである。免疫融合を構築するのに有用なシグナル配列としては、抗体軽鎖シグナル配列、例えば、抗体 14.18 (Gillies ら、J. Immunol. Meth. 125:191-202 (1989))、抗体重鎖シグナル配列、例えば、MOPC 141 抗体重鎖シグナル配列 (Sakano ら、Nature 286:5774 (1980)) が挙げられる。あるいは、他のシグナル配列を使用することができる。例えば、Watson, Nucl. Acids Res. 12:5145 (1984) を参照のこと。シグナルペプチドは、通常、シグナルペプチダーゼによって小胞体内腔で切断する。この結果、Fc 領域および可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドを含有する免疫融合タンパク質が分泌される。

## 【0327】

いくつかの実施形態では、DNA 配列は、融合タンパク質と L I N G O - 2 ポリペプチドとの間のタンパク質分解切断部位をコードする。切断部位は、コードされる融合タンパク質のタンパク質分解切断を提供し、これにより、融合ドメイン（例えば、Fc ドメイン）を標的タンパク質から分離する。

## 【0328】

L I N G O - 2 アンタゴニストポリペプチドまたは抗体が L I N G O - 2 の生物学的機能を阻害するのを共有結合が妨げないように、L I N G O - 2 アンタゴニストポリペプチドおよび抗体は、すなわち、任意の種類の分子の共有結合によって修飾される誘導体を含む。例えば、限定されないが、L I N G O - 2 アンタゴニストポリペプチドおよび抗体は、例えば、グリコシル化、アセチル化、PEG 化、ホスフィル化、リン酸化、アミド化、公知の保護/ブロック基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質に対する結合などによって修飾され得る。多数の化学修飾のいずれも、限定されないが、特定の化学分解、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成などを含む公知の技術によって行われ得る。加えて、誘導体は、1 つ以上の非古典的なアミノ酸を含有し得る。

## 【0329】

いくつかの実施形態は、1 つ以上のポリマーが L I N G O - 2 ポリペプチドまたは抗体にコンジュゲート（共有結合）された可溶性 L I N G O - 2 ポリペプチドまたは L I N G O - 2 抗体に関する。このようなコンジュゲーションに適切なポリマーの例としては、ポリペプチド（上記）、糖ポリマー、およびポリアルキレングリコール鎖が挙げられる。典

型的には、以下のもの：溶解性、安定性、またはバイオアベイラビリティの1つ以上を改善する目的で、ポリマーを可溶性LINGO-2ポリペプチドまたはLINGO-2抗体にコンジュゲートするが、必ずしもそうではない。

#### 【0330】

LINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体に対するコンジュゲーションに一般に使用されるポリマーのクラスは、ポリアルキレングリコールである。ポリエチレングリコール(PEG)が、最も頻繁に使用される。PEG部分、例えば、1個、2個、3個、4個、または5個のPEGポリマーを各LINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体にコンジュゲートして、LINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体単独と比較して、血清半減期を増加させることができる。PEG部分は非抗原性であり、本質的には生物学的に不活性である。PEG部分は、分岐状または非分岐状であり得る。

10

#### 【0331】

LINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体に付着されたPEG部分の数、および個々のPEG鎖の分子量は変化し得る。一般に、ポリマーの分子量が高いほど、ポリペプチドに付着されたポリマー鎖が少ない。通常、LINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体に付着された総ポリマー質量は、20kDa~40kDaである。したがって、1本のポリマー鎖を付着する場合、その鎖の分子量は、一般に20~40kDaである。2本の鎖を付着する場合、各鎖の分子量は、一般に10~20kDaである。3本の鎖を付着する場合、分子量は、一般に7~14kDaである。

20

#### 【0332】

ポリペプチド上の任意の適切な露出反応基を通して、ポリマー、例えばPEGをLINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体に連結することができる。露出反応基は、例えば、内部リシン残基のN末端アミノ基もしくはエプシロンアミノ基、またはその両方であり得る。活性化ポリマーは、LINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体上の任意の遊離アミノ基において反応および共有結合することができる。LINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体の遊離カルボキシル基、適切に活性されたカルボニル基、ヒドロキシル、グアニジル、イミダゾール、酸化カーボハイドレート部分、およびメルカプト基も(利用可能な場合には)、ポリマー付着用の反応基として使用することができる。

30

#### 【0333】

コンジュゲーション反応では、典型的には、1モルのポリペプチド当たり約1.0~約10モルの活性ポリマーが、ポリペプチド濃度に応じて用いられる。通常、選択された比率は、反応の最大化と、LINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体の所望の薬理学的活性を障害し得る(多くの場合には非特異的な)副作用の最小化との間のバランスを表す。ある特定の実施形態では、LINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体の(例えば、本明細書に記載されるか、または当技術分野で公知のアッセイのいずれかで実証した場合の)生物学的活性の少なくとも50%が保持される。さらなる実施形態では、ほぼ100%が保持される。

40

#### 【0334】

#### VII. LINGO-2ポリヌクレオチドアンタゴニスト

ポリヌクレオチドはまた、LINGO-2機能をアンタゴナイズするのに使用することができる。したがって、LINGO-2ポリヌクレオチドアンタゴニストは、運動ニューロンの生存を促進し、および/または運動ニューロンの軸索成長を促進することができる。具体的な実施形態は、運動ニューロン関連障害を処置する方法であって、LINGO-2をコードするポリヌクレオチドに特異的に結合することができる核酸分子を含む有効量のLINGO-2ポリヌクレオチドアンタゴニストを投与することを含む方法を含む。LINGO-2ポリヌクレオチドアンタゴニストは、LINGO-2の発現を抑制することができる(ノックダウン)。ある特定の実施形態では、LINGO-2ポリヌクレオチドアンタゴニストは、例えば、哺乳動物における運動ニューロンの生存および/または運動

50

ニューロンの軸索成長を促進する。LINGO-2ポリヌクレオチドアンタゴニストとしては、限定されないが、アンチセンス分子、リボザイム、siRNA、shRNAおよびRNAiが挙げられる。典型的には、このような結合分子を動物に別個に投与するが（例えば、O'Connor, J. Neurochem. 56:560 (1991)を参照のこと）、宿主細胞によって取り込まれてインビボで発現されるポリヌクレオチドから、このような結合分子をインビボで発現させることもできる。Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL (1988)も参照のこと。

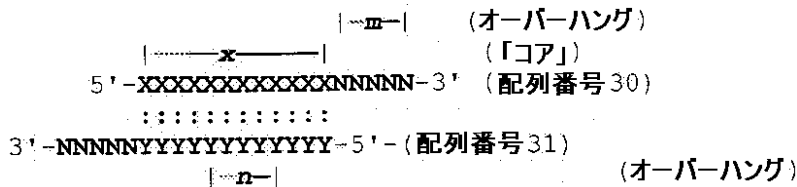
#### 【0335】

RNAiを媒介する分子（限定されないが、siRNAを含む）は、化学合成（Hohjoh, FEBS Lett 521:195-199, 2002）、dsRNAの加水分解（Yangら、Proc Natl Acad Sci USA 99:9942-9947, 2002）、T7 RNAポリメラーゼによるインビトロ転写（Donzeetら、Nucleic Acids Res 30:e46, 2002; Yuら、Proc Natl Acad Sci USA 99:6047-6052, 2002）、およびE. coli RNase IIIなどのヌクレアーゼを使用した二本鎖RNAの加水分解（Yangら、Proc Natl Acad Sci USA 99:9942-9947, 2002）によって、インビトロで生産することができる。

#### 【0336】

siRNA分子はまた、2つのオリゴヌクレオチドを互いにアニーリングすることによって形成することができ、典型的には、二本鎖および一本鎖部分の両方を含む以下の一般構造を有する：

#### 【化7】



#### 【0337】

式中、N、X、およびYはヌクレオチドであり、XはYに水素結合し、「:」は2つの塩基間の水素結合を示し、xは1～約100の値を有する自然数であり、mおよびnは独立して0～約100の値を有する全整数である。いくつかの実施形態では、N、X、およびYは独立して、A、G、C、およびTまたはUである。特に、合成siRNA（たとえば、2つのオリゴヌクレオチドのアニーリングの産物）の場合、天然に存在しない塩基およびヌクレオチドが存在し得る。二本鎖の中央区分は「コア」と称され、測定単位として塩基対（bp）を有する；一本鎖部分は、測定単位としてヌクレオチド（nt）を有するオーバーハングである。示されているオーバーハングは3'オーバーハングであるが、5'オーバーハングを有する分子も企図される。オーバーハングを有しないsiRNA分子（すなわち、m=0およびn=0）、およびコアの片側にはオーバーハングを有するが、他方の側には有しないもの（例えば、m=0およびn=1、またはその逆もまた同様）も企図される。

#### 【0338】

Paddisonら、(Genes & Dev. 16:948-958, 2002)は、RNAiを生じさせる手段としてヘアピン状にフォールディングした低分子RNA分子を使用した。したがって、このような短鎖ヘアピンRNA（shRNA）分子もまた、本明細書で提供される方法において有利に使用される。機能的shRNAのステムおよびループの長さは多様であり、ステムの長さは約25～約30ntのいずれかの範囲であり得、ループの大きさは、サイレンシング活性に影響を及ぼさない約4～約25ntの範囲であり得る。いかなる理論にも束縛されるものではないが、これらのshRNAはDICER

R N a s e の d s R N A 産物に似ており、いずれの事象においても、特定の遺伝子の発現の阻害について同じ能力を有すると考えられている。

【 0 3 3 9 】

いくつかの実施形態では、s h R N A は、レンチウイルスベクター（例えば、p L L 3 . 7 ）から発現される。

【 0 3 4 0 】

アンチセンス技術を使用して、アンチセンスDNAもしくはRNAによって、または三重らせん形成によって、遺伝子発現を制御することができる。アンチセンス技術は、例えば、Okano, J. Neurochem. 56: 560 (1991); Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL (1988) で論じられている。三重らせん形成は、例えば、Leeら、Nucleic Acids Research 6: 3073 (1979); Cooneyら、Science 241: 456 (1988); および Dervanら、Science 251: 1300 (1991) で論じられている。該方法は、ポリヌクレオチドの相補的DNAまたはRNAに対する結合に基づくものである。

【 0 3 4 1 】

例えば、LINGO - 2 をコードするポリヌクレオチドの5'コード部分を使用して、長さが約10~40塩基対のアンチセンスRNAオリゴヌクレオチドを設計することができる。DNAオリゴヌクレオチドを転写に關与する遺伝子領域に対して相補的になるように設計し、それにより、標的タンパク質の転写および産生を阻止する。アンチセンスRNAオリゴヌクレオチドはインビボでmRNAにハイブリダイズし、mRNA分子の標的ポリペプチドへの翻訳を遮断する。

【 0 3 4 2 】

アンチセンス分子の絶対的な相補性は必要ではない。LINGO - 2 をコードするRNAの少なくとも一部に対して相補的な配列は、RNAとハイブリダイズして安定的な二重鎖または三重鎖を形成するのに十分な相補性を有する配列を意味する。ハイブリダイズ能は、相補性の程度およびアンチセンス核酸の長さの両方に依存するであろう。一般に、ハイブリダイズする核酸が大きいほど、それが含有し得る塩基ミスマッチが多くなるが、安定的な二重鎖（または場合により三重鎖）を依然として形成する。当業者であれば、ハイブリダイズした複合体の融点を決定するために、標準的技術を使用することによって許容可能なミスマッチの程度を確認することができる。

【 0 3 4 3 】

メッセンジャーRNAの5'末端、例えば、AUG開始コドンまでを含む5'非翻訳配列に対して相補的なオリゴヌクレオチドが、翻訳の阻害に最も効率的に機能するはずである。しかしながら、mRNAの3'非翻訳配列に対して相補的な配列も、mRNAの翻訳の阻害に有効であることが示されている。一般に、Wagner, R., Nature 372: 333-335 (1994) を参照のこと。したがって、5'または3'のいずれかの非翻訳非コード領域に対して相補的なオリゴヌクレオチドを、LINGO - 2 の翻訳を阻害するアンチセンスアプローチにおいて使用することができる。mRNAの5'非翻訳領域に対して相補的なオリゴヌクレオチドは、AUG開始コドンの相補体を含むはずである。mRNAコード領域に対して相補的なアンチセンスオリゴヌクレオチドは、効率の低い翻訳の阻害因子であるが、使用することができる。アンチセンス核酸は、典型的には少なくとも6ヌクレオチド長、例えば、約6~約50ヌクレオチド長である。具体的な態様では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも10ヌクレオチド、少なくとも17ヌクレオチド、少なくとも25ヌクレオチド、または少なくとも50ヌクレオチドである。

【 0 3 4 4 】

本明細書に開示される治療方法に使用するためのポリヌクレオチドは、DNAもしくはRNA、またはそれらのキメラ混合物もしくは誘導体もしくは改変型であり得、一本鎖または二本鎖であり得る。オリゴヌクレオチドは、例えば、分子、ハイブリダイゼーション

などの安定性を改善するために、塩基性ポリペプチド、糖ポリペプチド、またはリン酸骨格において修飾され得る。オリゴヌクレオチドは、ペプチドなどの他の付随基 (a p p e n d e d g r o u p) (例えば、インビボで宿主細胞受容体を標的とするためのもの)、または細胞膜を通過する輸送を促進する薬剤、(例えば、L e t s i n g e r ら、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U . S . A . 8 6 : 6 5 5 3 - 6 5 5 6 ( 1 9 8 9 ) ; L e m a i t r e ら、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . 8 4 : 6 4 8 - 6 5 2 ( 1 9 8 7 ) ) ; 1 9 8 8 年 1 2 月 1 5 日 公開の国際公開第 8 8 / 0 9 8 1 0 号を参照のこと)、または血液脳関門 (例えば、1 9 8 8 年 4 月 2 5 日 公開の国際公開第 8 9 / 1 0 1 3 4 号を参照のこと)、ハイブリダイゼーション誘導性の切断剤 (例えば、K r o l ら、B i o T e c h n i q u e s 6 : 9 5 8 - 9 7 6 ( 1 9 8 8 ) を参照のこと)、また  
10  
または挿入剤 (例えば、Z o n , P h a r m . R e s . 5 : 5 3 9 - 5 4 9 ( 1 9 8 8 ) を参照のこと) を含み得る。この目的のために、別の分子、例えばペプチド、ハイブリダイゼーション誘導性の架橋剤、輸送剤、ハイブリダイゼーション誘導性の切断剤などに、オリゴヌクレオチドをコンジュゲートすることができる。

#### 【0345】

ポリヌクレオチド組成物は、触媒性 RNA、またはリボザイムをさらに含む (例えば、1 9 9 0 年 1 0 月 4 日 公開の国際公開第 9 0 / 1 1 3 6 4 号 ; S a r v e r ら、S c i e n c e 2 4 7 : 1 2 2 2 - 1 2 2 5 ( 1 9 9 0 ) を参照のこと)。ハンマーヘッド型リボザイムは、標的 mRNA と相補的塩基対を形成する隣接領域によって決定付けられる位置で mRNA を切断する。唯一の要件は、標的 mRNA が以下の 2 塩基の配列 5 ' - U G  
20  
- 3 ' を有することである。ハンマーヘッド型リボザイムの構築および生産は当技術分野で周知であり、H a s e l o f f a n d G e r l a c h , N a t u r e 3 3 4 : 5 8 5 - 5 9 1 ( 1 9 8 8 ) により詳細に記載されている。ある特定の実施形態では、すなわち、効率を高めて非機能的 mRNA 転写産物の細胞内蓄積を最小限に抑えるために、リボザイムは、切断可能な認識部位が標的 mRNA の 5 ' 末端近傍に位置するように操作される。

#### 【0346】

アンチセンスアプローチと同様に、リボザイムは、(例えば、改善された安定性、標的化などについての) 修飾オリゴヌクレオチドから構成され得、インビボで L I N G O - 2 を発現する細胞に送達することができる。リボザイムをコードする DNA 構築物は、DN  
30  
A をコードするアンチセンスの導入について上に記載したのと同じように細胞に導入することができる。1 つの送達方法は、トランスフェクトした細胞が、内因性 L I N G O - 2 のメッセージを破壊し、翻訳を阻害するのに十分な量のリボザイムを産生するように、例えば p o l I I I または p o l I I プロモーターなどの強力な構成的または誘導性プロモーターの制御下でリボザイムを「コードする」DNA 構築物を使用することを含む。アンチセンス分子とは異なり、リボザイムは触媒性であるため、より低い細胞内濃度が効率に必要とされる。

#### 【0347】

V I I I . L I N G O - 2 アプタマーアンタゴニスト

別の実施形態では、L I N G O - 2 アンタゴニストは、アプタマーである。アプタマー  
40  
は、独特の配列を有し、所望の標的 (例えば、ポリペプチド) に対して特異的に結合する特性を有し、所定の標的の特異的リガンドであるヌクレオチドまたはポリペプチドであり得る。ヌクレオチドアプタマーとしては、L I N G O - 2 に結合する二本鎖 DNA および一本鎖 RNA 分子が挙げられる。ある特定の実施形態では、L I N G O - 2 アプタマーアンタゴニストは、例えば、哺乳動物における運動ニューロンの生存および / または運動ニューロンの軸索成長を促進する。

#### 【0348】

核酸アプタマーは、当技術分野で公知の方法を使用して、例えば試験管内進化 (S E L E X) 法によって選択される。S E L E X は、例えば、米国特許第 5 , 4 7 5 , 0 9 6 号、米国特許第 5 , 5 8 0 , 7 3 7 号、米国特許第 5 , 5 6 7 , 5 8 8 号、米国特許第 5 ,  
50

707, 796号、米国特許第5,763,177号、米国特許第6,011,577号および米国特許第6,699,843号（これらは、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）に記載されているように、標的分子に高特異的に結合する核酸分子のインビトロ進化方法である。アプタマーを同定するための別のスクリーニング方法が、米国特許第5,270,163号に記載されている（これも参照により本明細書に組み込まれる）。SELEX法は、様々な二次元および三次元構造を形成する核酸の能力、ならびにモノマーまたはポリマーにかかわらず、他の核酸分子およびポリペプチドを含む、事実上任意の化合物とのリガンドとして作用する（特異的結合対を形成する）、ヌクレオチドモノマー内で利用可能な化学的多様性に基づくものである。任意の大きさまたは組成の分子が、標的として役立ち得る。

10

#### 【0349】

LINGO-2のタンパク質構造を使用して、LINGO-2に作用するアプタマーとしてのSELEX法を使用したスクリーニングによって、LINGO-2媒介過程を阻害するアプタマーの同定が可能になるであろう。

#### 【0350】

ポリペプチドアプタマーは、LINGO-2に結合しそれによりその作用を遮断する能力について選択されたランダムペプチドである。ポリペプチドアプタマーは、両端でタンパク質骨格に付着した短い可変ペプチドドメインを含み得る。この二重の構造的制約が、ペプチドアプタマーの結合親和性を、抗体に匹敵するレベル（ナノモル範囲）まで大きく高める。例えば、Hoppe-Seylerら、(2000) J Mol Med 78(8):426-430を参照のこと。短い可変ペプチドの長さは、典型的には約10~20アミノ酸であり、骨格は、優れた溶解性および緻密特性を有する任意のタンパク質であり得る。骨格タンパク質の非限定的な一例は、細菌タンパク質であるチオレドキシン-Aである。例えば、Cohen BAら、(1998) PNAS 95(24):14272-14277を参照のこと。

20

#### 【0351】

ポリペプチドアプタマーは、タンパク質機能の主要な阻害因子として作用するペプチドまたは低分子ポリペプチドである。ペプチドアプタマーは、標的タンパク質に特異的に結合し、その機能的能力を遮断する（Koltoninら、(1998) Proc. Natl. Acad. Sci. 95:14,266-14,271）。当技術分野で公知の様々な技術によって、標的タンパク質に対して高い親和性および特異性で結合するペプチドアプタマーを単離することができる。ペプチドアプタマーは、酵母ツーハイブリッドスクリーニング（Xu, C.W.ら、(1997) Proc. Natl. Acad. Sci. 94:12,473-12,478）、またはリボソームディスプレイ（Hanesら、(1997) Proc. Natl. Acad. Sci. 94:4937-4942）によって、ランダムペプチドライブラリーから単離することができる。また、それらは、ファージライブラリー（Hoogenboom, H. R.ら、(1998) Immunotechnology 4:1-20）、または化学的に作製されたペプチドライブラリーから単離することもできる。加えて、ポリペプチドアプタマーは、リガンド調節ペプチドアプタマー（LiRPA）の選択を使用して選択することができる。例えば、Binkowski BFら、(2005) Chem & Biol 12(7):847-855（これは、参照により本明細書に組み込まれる）を参照のこと。ペプチドアプタマーを合成する手段が困難であるために、それらの使用はポリヌクレオチドアプタマーよりも複雑であるが、これらは無制限の化学的多様性を有する。ポリヌクレオチドアプタマーは、4つのヌクレオチド塩基のみを利用するために限定的であるが、ペプチドアプタマーはかなり幅広いレパートリーを有する（すなわち、20種のアミノ酸）。

30

40

#### 【0352】

他のポリペプチドについて本明細書のあらゆる場所で記載されているように、ペプチドアプタマーは修飾され得る（例えば、ポリマーにコンジュゲートされ得るか、またはタンパク質に融合され得る）。

50

## 【0353】

## IX. ベクターおよび宿主細胞

宿主発現系は、目的のコード配列を生産し、続いて精製することができるビヒクルを表すが、適切なヌクレオチドコード配列で形質転換またはトランスフェクトされると、インサイチューでLINGO-2アンタゴニストポリペプチドまたは抗体を発現することができる細胞も表す。これらとしては、限定されないが、抗体コード配列を含有する組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNA、もしくはコスミドDNA発現ベクターで形質転換した細菌（例えば、*E. coli*、*B. subtilis*）などの微生物、抗体コード配列を含有する組換え酵母発現ベクターで形質転換した酵母（例えば、*Saccharomyces*、*Pichia*）、抗体コード配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系、組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス（CaMV）、タバコモザイクウイルス（TMV））に感染した、または抗体コード配列を含有する組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Tiプラスミド）で形質転換した植物細胞系、あるいは哺乳動物細胞のゲノム（例えば、メタロチオネインプロモーター）もしくは哺乳動物ウイルス（例えば、アデノウイルス後期プロモーター、ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター）由来のプロモーターを含有する組換え発現構築物を宿す哺乳動物細胞系（例えば、COS、CHO、BLK、293、3T3細胞）が挙げられる。例えば、組換え抗体分子全体を発現するための*Escherichia coli*などの細菌細胞または真核細胞が、組換え抗体分子の発現に使用される。例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）などの哺乳動物細胞を、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要な中間初期遺伝子プロモーター要素などのベクターと併せたものは、有効な抗体発現系である（Foocklingら、*Gene* 45:101（1986）；Cockettら、*Bio/Technology* 8:2（1990））。

10

20

## 【0354】

LINGO-2アンタゴニスト、例えば、可溶性LINGO-2ポリペプチド、LINGO-2抗体、LINGO-2アンタゴニストポリヌクレオチド、またはLINGO-2アダプターをコードする核酸を含むベクターを使用して、アンタゴニストを生産することができる。このような核酸が作動可能に連結されるベクターおよび発現制御配列の選択は、所望の機能特性、例えば、タンパク質発現、および形質転換される宿主細胞に依存する。

30

## 【0355】

作動可能に連結されたコード配列の発現の調節に有用な発現制御要素は、当技術分野で公知である。例としては、限定されないが、誘導性プロモーター、構成的プロモーター、分泌シグナル、および他の調節要素が挙げられる。誘導性プロモーターを使用する場合、例えば、宿主細胞培地における栄養状態の変化または温度の変化によって、それを制御することができる。

## 【0356】

一実施形態では、NEOSPLA（米国特許第6,159,730号）と称されるBiogen IDEC, Inc.の特許発現ベクターを使用することができる。このベクターは、サイトメガロウイルスプロモーター/エンハンサー、マウス グロビン主要プロモーター、SV40複製起点、ウシ成長ホルモンポリアデニル化配列、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼエクソン1およびエクソン2、ジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子、およびリーダー配列を含有する。このベクターは、CHO細胞にトランスフェクトすると高レベルの発現をもたらすことが見出されており、続いてG418含有培地で選択し、メトトレキサート増幅する。当然のことながら、細胞中で発現を引き起こすことができる任意の発現ベクターを使用することができる。適切なベクターの例としては、限定されないが、プラスミドpCDNA3、pHCMV/Zeo、pCR3.1、pEF1/His、pIND/GS、pRc/HCMV2、pSV40/Zeo2、pTRACER-HCMV、pUB6/V5-His、pVAX1、およびpZeoSV2（Invitrogen, Sa

40

50

n Diego, CAから入手可能)、およびプラスミドpCI (Promega, Madison, WIから入手可能)が挙げられる。さらなる細胞発現ベクターが当技術分野で公知であり、市販されている。典型的には、このようなベクターは、所望のDNAセグメントを挿入するための便利な制限部位を含有する。例示的なベクターとしては、pSVLおよびpKSV-10 (Pharmacia)、pBPV-1、pml2d (International Biotechnologies)、pTDT1 (ATCC 31255)、レトロウイルス発現ベクターpMIGおよびpLL3.7、アデノウイルスシャトルベクターpDC315、AAVベクター、pUC8、pUC9、pBR322およびpBR329 (BioRad)、pPLおよびpKK223 (Pharmacia)が挙げられる。他の例示的なベクター系は、例えば、米国特許第6,413,777号に開示されている。

10

#### 【0357】

##### X. 遺伝子治療

運動ニューロンの生存および/または運動ニューロンの軸索成長を促進することが治療上有益な神経系疾患、障害または傷害を処置するための遺伝子治療法を使用して、例えば、ヒト患者などの哺乳動物において、LINGO-2アンタゴニストをインビボで生産することができる。これは、LINGO-2アンタゴニストをコードする適切な核酸であって、適切な発現制御配列に作動可能に連結された核酸を投与することを含む。一般に、これらの配列が、ウイルスベクターに組み込まれる。このような遺伝子治療に適切なウイルスベクターとしては、アデノウイルスベクター、アルファウイルスベクター、エンテロウイルスベクター、ペスチウイルスベクター、レンチウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、ヘルペスウイルスベクター、エプスタインバー (Epstein Barr) ウイルスベクター、パポバウイルスベクター、ポックスウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、アデノ関連ウイルスベクターおよび単純ヘルペスウイルスベクターが挙げられる。ウイルスベクターは、複製不全ウイルスベクターであり得る。そのE1遺伝子またはE3遺伝子に欠損を有するアデノウイルスベクターが、典型的に使用される。アデノウイルスベクターを使用する場合、ベクターは、通常、選択可能なマーカー遺伝子を有しない。

20

#### 【0358】

##### XI. 医薬組成物

LINGO-2アンタゴニストは、ヒトを含む哺乳動物に投与するための医薬組成物に製剤化することができる。医薬組成物は、例えば、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、ヒト血清アルブミンなどの血清タンパク質、リン酸などの緩衝物質、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和植物脂肪酸の一部グリセリド混合物、水、硫酸プロタミンなどの塩、または電解質、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイダルシリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロースベースの物質、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリレート、ワックス、ポリエチレン-ポリオキシプロピレンブロックポリマー、ポリエチレングリコール、および羊毛脂などを含む、薬学的に許容され得る担体を含む。

40

#### 【0359】

組成物は、任意の適切な方法によって、例えば、非経口的、脳室内、経口的、吸入スプレーによって、局所的、経直腸的、経鼻腔的、頬側、経膈的、または埋込型容器を介して投与され得る。本明細書で使用される場合、用語「非経口的」は、皮下、経静脈、筋肉内、関節内、滑膜内、胸骨内、髄腔内、肝内、髄板内、および頭蓋内注射または注入技術を含む。前述のように、本明細書で提供される方法で使用されるLINGO-2アンタゴニストは、神経系で作用して運動ニューロンの生存および/または運動ニューロンの軸索成長を促進する。したがって、ある特定の方法では、LINGO-2アンタゴニストは、それらが血液脳関門を通過するように投与される。この通過は、LINGO-2アンタゴニスト分子自体が本来有する物理化学特性、医薬製剤中の他の構成要素、または血液脳関門

50

を破るための針、カニューレ、または手術器具などの機械的装置の使用に起因し得る。LINGO-2 アンタゴニストが本質的に血液脳関門を通過しない分子（例えば、通過を促進するポリペプチドとの融合体）である場合、適切な投与経路は、例えば髄腔内または頭蓋内である。LINGO-2 アンタゴニストが本質的に血液脳関門を通過する分子である場合、投与経路は、以下に記載される様々な経路の1つ以上によるものであり得る。

#### 【0360】

本明細書で提供される方法で使用される組成物の無菌注入形態は、水性または油性の懸濁液であり得る。これらの懸濁液は、適切な分散剤または湿潤剤、および懸濁剤を使用して、当技術分野で公知の技術にしたがって製剤化され得る。また、無菌注入調製物は、非毒性の非経口的に許容され得る希釈剤または溶媒の無菌注入溶液または懸濁液、例えば、1, 3-ブタンジオール懸濁液であり得る。用いることができる許容され得るビヒクルおよび溶媒には、水、リンガー溶液、および等浸透圧の塩化ナトリウム溶液がある。加えて、無菌の固定油が、溶媒または懸濁培地として従来用いられている。この目的のために、合成モノグリセリドまたはジグリセリドを含む任意の無菌性固定油を用いることができる。オレイン酸およびそのグリセリド誘導体などの脂肪酸は、オリーブオイルまたはキャスターオイルなどの薬学的に許容され得る油と同様に、特にそれらのポリオキシエチル化版での注入剤の調製に有用である。また、これらの油溶液または懸濁液は、長鎖アルコール希釈剤または分散剤、例えばカルボキシメチルセルロース、または乳化剤および懸濁液を含む薬学的に許容され得る剤形の製剤で一般に使用される類似の分散剤も含有し得る。また、Tween、Span、および他の乳化剤などの他の一般に使用される界面活性剤、または薬学的に許容され得る固体、液体もしくは他の剤形の製造に一般に使用されるバイオアベイラビリティエンハンサーを製剤化の目的で使用することもできる。

10

20

#### 【0361】

非経口製剤を単回ボラス投与、注入または負荷ボラス投与した後に維持用量とすることができる。これらの組成物は、特定の一定間隔または変動間隔、例えば、1日1回、または「必要に応じて」投与され得る。

#### 【0362】

ある特定の医薬組成物は、例えば、カプセル、錠剤、水性懸濁液、または溶液を含む、許容され得る剤形で経口投与され得る。ある特定の医薬組成物はまた、鼻エアロゾルまたは吸入によって投与され得る。このような組成物は、生理食塩水溶液として、ベンジルアルコールもしくは他の適切な保存剤、バイオアベイラビリティを増強するための吸収促進剤ならびに/または他の従来の可溶化剤もしくは分散剤を使用して調製され得る。

30

#### 【0363】

担体材料と組み合わせる単一剤形を産生することができるLINGO-2 アンタゴニストの量は、処置される宿主、使用されるアンタゴニストの種類、および特定の投与様式に応じて変化するであろう。組成物は、単回投与、複数回投与、または確立された期間にわたって注入で投与され得る。また、投与量計画は、最適な所望の反応（例えば、治療または予防反応）を提供するように調整することもできる。

#### 【0364】

本明細書で提供される方法は、「治療有効量」または「予防有効量」のLINGO-2 アンタゴニストを使用する。このような治療有効量または予防有効量は、個体の疾患状態、年齢、性別、および体重などの要因にしたがって変化し得る。また、治療有効量または予防有効量は、治療上有益な効果が任意の毒性または有害な影響を上回る量である。

40

#### 【0365】

任意の特定患者に対する具体的な投与量および処置計画は、使用される特定のLINGO-2 アンタゴニスト、患者の年齢、体重、一般的な健康状態、性別、および食事、投与時間、排出率、薬物の組み合わせ、および処置される特定の疾患の重度を含む様々な要因に依存するであろう。医療従事者によるこのような要因の判断は、当技術分野における通常技術の範囲内である。この量はまた、処置されるべき個々の患者、投与経路、製剤の種類、使用される化合物の特徴、疾患の重度、および所望の効果に依存するであろう。使用量

50

は、当技術分野で周知の薬理学的および薬物動態学の原理によって決定することができる。

【0366】

L I N G O - 2 アンタゴニストは、神経系に直接投与することもできるし、大脳心室内もしくは髄腔内投与することもできるし、または全身投与することもできる。投与用組成物は、1日に体重1kg当たり0.001~10mgの投与量のL I N G O - 2 アンタゴニストが投与されるように製剤化することができる。いくつかの実施形態では、投与量は、1日に体重1kg当たり0.01~1.0mgである。いくつかの実施形態では、投与量は、1日に体重1kg当たり0.001~0.5mgである。

【0367】

L I N G O - 2 アンタゴニスト抗体を使用する処置の場合、投与量は、宿主の体重1kg当たり、例えば、約0.0001~100mg、より普通には0.01~5mg（例えば、0.02mg/kg、0.25mg/kg、0.5mg/kg、0.75mg/kg、1mg/kg、2mg/kgなど）の範囲であり得る。例えば、投与量は、体重1kg当たり1mg、または体重1kg当たり10mg、あるいは1~10mg/kgの範囲内、例えば少なくとも1mg/kgであり得る。上記範囲の中間にある用量も有用である。このような投与量を、毎日、1日おき、1週間に1回、または実験分析によって決定された任意の他のスケジュールにしたがって、被験体に投与することができる。例示的な処置は、長期間、例えば少なくとも6カ月をかけて、複数回投与での投与を含む。さらなる例示的な処置計画は、2週間毎に1回、または1カ月に1回、あるいは3~6カ月毎に1回の投与を含む。例示的な投与量スケジュールとしては、連日1~10mg/kgもしくは15mg/kg、1日おきに30mg/kg、または1週間に1回60mg/kgが挙げられる。いくつかの方法では、異なる結合特異性を有する2つ以上のモノクローナル抗体が同時に投与され、この場合、投与される各抗体の投与量は、示した範囲内に含まれる。

【0368】

ある特定の実施形態では、L I N G O - 2 アンタゴニストポリヌクレオチドをコードする核酸分子を用いて被験体を処置することができる。核酸の用量は、患者当たり約10ng~1g、100ng~100mg、1μg~10mg、または30~300μgのDNAの範囲である。感染性ウイルスベクターの用量は、1用量当たり10~100ビリオンまたはそれ以上で変化する。

【0369】

また、補足的な活性化合物を、組成物に組み込むこともできる。例えば、可溶性L I N G O - 2 ポリペプチドまたは融合タンパク質を、1つ以上のさらなる治療剤と共製剤化および/または同時投与することができる。

【0370】

L I N G O - 2 アンタゴニストを選択した標的組織に送達するのに適切な任意の送達方法、例えば、水溶液のボラス注射または制御放出系の埋め込みを使用することができる。制御放出インプラントの使用は、反復注射の必要性を低減する。

【0371】

本明細書の方法に使用されるL I N G O - 2 アンタゴニストは、脳に直接注入することができる。化合物を脳に直接注入するための様々なインプラントが公知であり、神経障害を患っているヒト患者に治療化合物を送達するのに有効である。これらとしては、ポンプ、定位固定的に埋め込まれた一時的間質カテーテル、永久頭蓋内カテーテルインプラント、および手術的に埋め込まれた生体分解性インプラントを使用した脳への長期注入が挙げられる。例えば、Gillら、上記；Scharfенら、"High Activity Iodine-125 Interstitial Implant For Gliomas," Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys. 24(4):583-591(1992)；Gasparら、"Permanent 125I Implants for Recurrent Malignant Gliomas," Int. J. Radiation Oncology Biol. Ph

10

20

30

40

50

ys. 43 (5) : 977 - 982 (1999) ; chapter 66 , pages 577 - 580 , Bellezzaら、" Stereotactic Interstitial Brachytherapy , " in Gildenbergら、Textbook of Stereotactic and Functional Neurosurgery , McGraw - Hill (1998) ; および Bremら、" The Safety of Interstitial Chemotherapy with BCNU - Loaded Polymer Followed by Radiation Therapy in the Treatment of Newly Diagnosed Malignant Gliomas : Phase I Trial , " J . Neuro - Oncology 26 : 111 - 23 (1995) を参照のこと。

10

#### 【0372】

また、組成物は、化合物に対する適切な送達または支持システムとして機能する、生体適合担体材料に分散したLINGO - 2アンタゴニストも含み得る。持続放出担体の適切な例としては、座薬またはカプセルなどの造形品形態の半透性ポリマーマトリックスが挙げられる。埋込型または微小カプセル持続放出マトリックスとしては、ポリラクチド（米国特許第3,773,319号、欧州特許第58,481号）、L - グルタミン酸および - エチル - L - グルタミン酸のコポリマー（Sidmanら、Biopolymers 22 : 547 - 56 (1985)）、ポリ（2 - ヒドロキシエチル - メタクリレート）、エチレン酢酸ビニル（Langerら、J . Biomed . Mater . Res . 15 : 167 - 277 (1981) ; Langer , Chem . Tech . 12 : 98 - 105 (1982)）、またはポリ - D - ( - ) - 3ヒドロキシ酪酸（欧州特許第133,988号）が挙げられる。

20

#### 【0373】

いくつかの実施形態では、LINGO - 2アンタゴニストは、脳の適切な領域に直接注入することによって、患者に投与される。例えば、Gillら、" Direct brain infusion of glial cell line - derived neurotrophic factor in Parkinson disease , " Nature Med . 9 : 589 - 95 (2003) を参照のこと。代替技術が利用可能であり、LINGO - 2アンタゴニストを投与するのに適用することができる。例えば、カテーテルまたはインプラントの定位固定配置は、Riechert - Mundingerユニット、およびZD（Zamorano - Dujovny）多目的ローカライズユニットを使用して達成することができる。2mmスライス厚の120mlのオムニパーク、350mgヨウ素 / mlを注入した造影コンピュータ断層撮影（CT）スキャンは、三次元の多平面処置計画を可能にし得る（STP, Fischer, Freiburg, Germany）。この機器は、明確な標的確認のためにCTおよびMRI標的情報を重ね合わせる磁気共鳴映像法研究に基づいて計画することを可能にする。

30

#### 【0374】

GE CTスキャナ（General Electric Company, Milwaukee, WI）と併用するために改良したLeksell定位固定システム（Downs Surgical, Inc., Decatur, GA）、ならびにBrown - Roberts - Wells（BRW）定位固定システム（Radionics, Burlington, MA）をこの目的に使用することができる。したがって、埋め込みの朝に、BRW定位固定フレームのアニュラベースリングを患者の頭蓋骨に取り付けることができる。連続CT断面を、底板に留めたグラファイトロッドローカライズフレームを用いて、（標的組織）領域を通して、3mm間隔で取得することができる。コンピュータ化処置計画プログラムは、グラファイトロッド画像のCT座標を使用して、VAX11 / 780コンピュータ（Digital Equipment Corporation, Maynard, Mass）上で実行し、CTスペースとBRWスペースとの間をマッピングすることができる。

40

#### 【0375】

50

本明細書に記載される運動ニューロン関連障害の処置方法は、典型的には、ヒトにおける使用前に、所望の治療または予防活性についてインビトロで試験され、次いで、許容され得る動物モデルにおいてインビボで試験される。トランスジェニック動物を含む適切な動物モデルは、当業者に周知である。例えば、LINGO-2アンタゴニストの生存効果を実証するためのインビトロアッセイが本明細書に記載される。運動ニューロンの生存および運動ニューロンの軸索成長に対するLINGO-2アンタゴニストの効果は、実施例に記載されているように、インビトロで試験することができる。最後に、インビボ試験は、LINGO-2アンタゴニストを発現するトランスジェニックマウスをすることによって、または本明細書に記載されるようにLINGO-2アンタゴニストをマウスまたはラットモデルに投与することによって実施することができる。

10

#### 【実施例】

#### 【0376】

実施例1：LINGO-2は、中枢神経系で特異的に発現している

以下の方法による定量PCR (Q-PCR) アッセイによって、ラットおよびマウス組織におけるLINGO-2発現を評価した。ラットRNAはClontechから購入し、マウスRNAはP6マウス組織から調製した。製造業者の説明書を使用してAbsolutely RNA Miniprep Kit (Stratagene) を使用して、mRNAを抽出した。組織特異的な第1鎖cDNAをmRNAから合成し、LINGO-2 mRNAレベルを定量するために、(i) フォワードプライマー5'-ACCTTG TATACCTGACCCACCTTAA-3' (配列番号23)、(ii) リバースプライマー5'-AGAGAACATGCGCTGCTTCAATAGTG-3' (ラット) (配列番号24) または5'-AGAGAACATGCGCAGCTTCAATAGTG-3' (マウス) (配列番号25) および(iii) MGBプローブ (Applied Biosystems) 5'-CCTCTCTCTACAAATCCC-3' (配列番号26) を使用してTaqman RT-PCRに供した (基本的にはMira、Nature Neuroscience 7:221-228 (2004) に記載されているように実施した)。mRNAレベルを定量するために、TaqMan Gene Expression system (Mx3000P) を使用した。

20

#### 【0377】

最初に、組織におけるLINGO-2 mRNAレベルを、同じ組織における-アクチンmRNAレベルに対して標準化することによって、相対的なLINGO-2発現レベルを決定した。プライマーセットRn0067869\_\_m1 (ラット) またはMn00607939 (マウス) (Applied Biosystems) を使用して、-アクチンmRNAレベルを並行して定量した。次いで、各組織における標準化したLINGO-2 mRNAレベルを、ラットのユニバーサルセットおよびマウスの肺組織における標準化した発現レベル (これらは両方とも1の値とした) と比較することによって、相対的なLINGO-2 mRNAレベルを決定した。ラットの相対的なLINGO-2発現レベルを図1に示し、P6マウス組織のものを図2に示す。ラットでは、LINGO-2は、脳で最も強く発現していた。胸腺、胃、肝臓、結腸、心臓、胎盤、腎臓、脾臓、乳房および肺における発現レベルは、バックグラウンドよりも低いかまたは検出不可能であった。P6マウス組織では、LINGO-2は、脳および脊髄で最も強く発現していた。特に、脊髄の発現レベルは、脳の発現レベルよりも高かった。これは、脳における発現が脊髄における発現よりも高いというLINGO-1について観察されたものとは反対である。心臓、腎臓、肝臓、脾臓、腸、肺、皮膚および胃におけるLINGO-2発現は、バックグラウンドよりも低いかまたは検出不可能であった。

30

40

#### 【0378】

実施例2：LINGO-2は、皮質およびDRGニューロンで高発現している

以下の方法による定量PCR (Q-PCR) アッセイによって、ラット神経細胞におけるLINGO-2発現を評価した。ラット神経細胞集団からRNAを取得し、製造業者の説明書を使用してAbsolutely RNA Miniprep kit (Stra

50

t a g e n e ) を使用して、m R N A を抽出した。第 1 鎖 c D N A を R N A から合成し、L I N G O - 2 m R N A レベルを定量するために、実施例 1 に記載されているように配列番号 23 ~ 26 のプライマーを使用して T a q m a n R T - P C R に供した ( 基本的には M i r a 、 N a t u r e N e u r o s c i e n c e 7 : 221 - 228 ( 2004 ) に記載されているように実施した ) 。 m R N A レベルを定量するために、 T a q M a n G e n e E x p r e s s i o n s y s t e m ( M x 3000 P ) を使用した。

#### 【 0379 】

最初に、神経細胞集団における L I N G O - 2 m R N A レベルを、同じ神経細胞集団におけるアクチン m R N A レベルに対して標準化することによって、相対的な L I N G O - 2 発現レベルを決定した。次いで、各組織における標準化した L I N G O - 2 m R N A レベルを、オリゴデンドロサイト前駆細胞 ( O P C ) における標準化した発現レベル ( これを 1 の値とした ) と比較することによって、相対的な L I N G O - 2 m R N A レベルを決定した。相対的な L I N G O - 2 発現レベルを図 3 に示す。L I N G O - 2 は、皮質および後根神経節 ( D R G ) ニューロンで最も強く発現していた。星状細胞における発現は検出可能であったが、皮質および D R G ニューロンと比べて低かった。ミクログリア細胞では、レベルが最も低かった。

10

#### 【 0380 】

実施例 3 : L I N G O - 2 - F c 融合タンパク質の構築および精製

ヒト L I N G O - 2 の細胞外部分 ( 残基 1 ~ 500 ) をヒト I g G 1 のヒンジおよび F c 領域に融合して、構築物を作製した。可溶性 L I N G O - 2 : F c タンパク質の配列を以下に示す :

20

#### 【 化 8 】

MLHTAISCWQ PFLGLAVVLI FMGSTIGCPA RCECSAQNKS VSCHRRRLIA IPEGIPIETK  
ILDLSKNRLK SVNPEEFISY PLLEEIDLSN NIIANVEPGA FNNLFNLRSL RLKGNRLKLV  
PLGVFTGLSN LTKLDISENK IVILLDYMFQ DLHNLKSLEV GDNDLVYISH RAFSGLLSLE  
QLTLEKCNLT AVPTEALSHL RSLISLHLKH LNINNMPVYA FKRLFHLKHL EIDYWPLLDL  
MPANSYGLN LTSLSVTNTN LSTVPFLAFK HLVYLTHLNL SYNPISTIEA GMFSDLIRLQ  
ELHIVGAQLR TIEPHSFQGL RFLRVLNVSQ NLLETLEENV FSSPRALEVL SINNNPLACD  
CRLLWILQRQ PTLQFGGQQP MCAGPDTIRE RSFKDFHSTA LSFYFTCKKP KIREKKLQHL  
LVDEGQTVQL ECSADGDPQP VISWVTPRRR FITTKSNGRA TVLGDGTLEI RFAQDQDSGM  
YVCIASNAAG NDTFTASLTV VDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV  
TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY  
KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV  
EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK  
SLSLSPGK ( 配列番号 27 )

30

#### 【 0381 】

実施例 4 : L I N G O - 2 特異的モノクローナル抗体の生産

$3.5 \times 10^{10}$  個のユニークなクローンを含有するヒトナイーブファージミド F a b ライブラリーをスクリーニングすることによって、L I N G O - 2 に特異的に結合する抗 L I N G O - 2 抗体を作製した ( N a t B i o t e c h n o l . 2005 Mar ; 23 ( 3 ) : 344 - 8 . ) 。前述のように選択を実施し、抗体 C 09 を同定した / C 09 の配列を表 3 ~ 6 に示す。結合実験は、C 09 抗体が L I N G O - 2 に結合するが、L I N G O - 1 に結合しないことを実証している。加えて、C 09 抗体は、L I N G O - 2 の L R R 7 ~ L R R 12 を含有するが、L I N G O - 2 の L R R 1 ~ L R R 6 を欠く L I N G O 構築物に結合する。

40

#### 【 0382 】

50

実施例 5：可溶性 L I N G O - 2 または抗 L I N G O - 2 抗体による L I N G O - 2 の遮断は、ヒト運動ニューロンの生存を促進する

96 ウェルプレートにおいて、ヒト胚性幹細胞 (h E S c) 由来のヒト運動ニューロン (L o n z a) を 0.025 % トリプシン / E D T A でトリプシン処理し、M o t o r B l a s t 培地 (L o n z a) 中、 $5 \times 10^4$  個 / ウェルの密度で 4 チャンバースライド上にリプレートした。5 % C O<sub>2</sub> を含む加湿空気中で、細胞を 37 で一晩インキュベートした。

#### 【0383】

細胞を 0.5 mM 亜ヒ酸ナトリウムで 30 分間処理した。亜ヒ酸ナトリウムは、細胞死を誘導する酸化的傷害を提供する。細胞を 3 回洗浄し、次いで、50  $\mu$ g / mL の可溶性 L I N G O - 2 - F c、10  $\mu$ g / mL の抗 L I N G O - 2 C 09 F a b または対照 h I g G のいずれかを含有する新鮮 M o t o r B l a s t 培地を細胞に追加した。5 % C O<sub>2</sub> を含む加湿空気中で、培養物を 37 で 24 時間インキュベートし、次いで、4 % パラホルムアルデヒドで固定した。

10

#### 【0384】

抗 I I I チューブリン (C o v a n c e) および抗神経フィラメント (M i l l i p o r e) を使用して、細胞に対して免疫細胞化学を実施して、運動ニューロンを染色した (図 4)。

#### 【0385】

図 4 に示されているように、亜ヒ酸ナトリウムによる処理により、運動ニューロンの数が減少した。しかしながら、可溶性 L I N G O - 2 - F c および抗 L I N G O - 2 C 09 F a b の両方が、亜ヒ酸ナトリウム誘導性の運動ニューロン死を軽減した。

20

#### 【0386】

実施例 6：可溶性 L I N G O - 2 による L I N G O - 2 の遮断は、運動ニューロンの軸索成長を促進する

N y c o d e n z 勾配遠心分離を使用して、胎生期 16 日 (E 16) ラット脊髄から運動ニューロンを単離した。E 16 ラット胚由来の脊髄を解剖し、0.025 % トリプシン中、37 で 40 分間インキュベートした。1 容量の N u t r i e n t M i x t u r e F - 12 H a m (D M E M / F 12) および 0.004 % D N a s e に対して 3 容量のダルベッコ改変イーグル培地を含有する培地とトリプシン溶液を交換した。脊髄細胞を 5 分間インキュベートし、次いで、細胞懸濁液が均質になるまで穏やかに粉砕することによって分離した。得られた脊髄懸濁液を 4 % ウシ血清アルブミン (B S A) クッション上に重層し、この溶液を 100  $\times$  g、4 で遠心分離することによって細胞ペレットを回収した。0.004 % D N a s e を含有する D M E M / F 12 培地に細胞ペレットを再懸濁し、8.01 %、7.66 % および 7.05 % の N y c o d e n z 勾配上に重層した。勾配を 500  $\times$  g で遠心分離した。培地および 7.05 % 溶液の界面にある白色の混濁物質が運動ニューロンであると確認し、回収した。

30

#### 【0387】

運動ニューロン成長培地 (2 % B 27 および 0.5 mM グルタミンを補充した N e u r o b a s a l 培地と、0.4  $\mu$ g / mL のヒドロコルチゾン、5  $\mu$ g / mL のインスリン および 10 % ウシ胎児血清 (F B S) を補充した D M E M / F 12 培地 (3 : 1) とが 1 : 1 の比) 中、10  $\mu$ g / mL のポリ-D リシンおよび 10  $\mu$ g / mL のラミニン (l a m i n i) でコーティングした 4 チャンバースライド上に、細胞  $5 \times 10^4$  個 / ウェルの密度で、回収した運動ニューロンをプレートした。得られた培地に、10 ng / mL のニューロトロフィン-3、10 ng / mL の脳由来神経栄養因子、10 ng / mL のグリア細胞株由来神経栄養因子、10 ng / mL の毛様体神経栄養因子および抗生物質を補充した。5 % C O<sub>2</sub> を含む加湿空気中で、細胞を 37 で一晩インキュベートし、次いで、0.5 mM 亜ヒ酸ナトリウムで 30 分間処理した。細胞を 3 回洗浄し、次いで、50  $\mu$ g / mL の可溶性 L I N G O - 2 - F c または対照 h I g G のいずれかを含有する新鮮運動ニューロン成長培地を追加した。5 % C O<sub>2</sub> を含む加湿空気中で、培養物を 37 で 24 時

40

50

間インキュベートし、次いで、4 %パラホルムアルデヒドで固定した。

【0388】

抗神経フィラメント (Millipore) を使用して、細胞に対して免疫細胞化学を実施して、運動ニューロンを染色した (図5)。各ニューロンの最も長い神経突起を軸索とみなし、Openlabソフトウェアを使用して軸索長を測定した。図5に見られるように、亜ヒ酸ナトリウムによって細胞を処理した後、可溶性LINGO-2は、ニューロンの軸索成長をhIgG対照で処理した細胞と比較して約20%促進した。

【0389】

実施例7: LINGO-2発現レベルは、SODG93Aマウスでアップレギュレートしている

10

突然変異体銅/亜鉛スーパーオキシドジスムターゼ (SOD1) DNA (例えば、SODG39A) を有するトランスジェニック動物は、ヒト筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis) (ALS) 患者に似た麻痺性運動ニューロン疾患を発症するので、ALSモデルとして一般に使用されている。Naraiら、Neurol. Int. 1: e16 (2009)。

【0390】

65日齢のSODG93Aマウスまたは年齢適合対照野生型マウスをリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で灌流し、脊髄を解剖した。脊髄を4 %パラホルムアルデヒドで固定し、脊髄の胸部をクリオスタット切片用の最適切削温度 (O.C.T.) 化合物に包埋した。ジゴキシゲニン標識LINGO-2アンチセンスRNAプローブ5' - T A A T A C G A C T C A C T A T A G G G A C A G A A G C C C T T T C C C A T C T - 3 (配列番号28) およびジゴキシゲニン標識センスRNAプローブ5' - T A A T A C G A C T C A C T A T A G G G A C A G A A G C C C T T T C C C A T C T - 3' (配列番号29) で凍結切片をプローブした。

20

【0391】

次いで、製造業者の説明書にしたがってチラミドシグナル増幅 (TSA) + 蛍光抗ジゴキシゲニンコンジュゲート抗体キット (Perkin Elmer) を使用して、切片を染色した。

【0392】

定量分析を実施し、各スライドの前角領域におけるLINGO-2陽性細胞の数を、Openlabソフトウェアによって20倍で計数した。SODG39Aマウスおよび野生型マウスの両方について、3匹の動物を分析した。図6に見られるように、インサイチューハイブリダイゼーションによって測定した場合、LINGO-2発現レベルは、65日齢のSODG39Aマウス由来の脊髄の前角でアップレギュレートしていた。SODG39Aマウスでは、野生型対照マウスと比較して、LINGO-2陽性細胞の数が2倍増加しており、染色強度がより強かった。

30

【0393】

実施例8: LINGO-2アンタゴニストは、ALSにおける運動ニューロンの成長および生存を促進する

ヒトSODG93Aを発現するトランスジェニックマウスおよび年齢適合対照をPBS (ビヒクル対照)、対照抗体または抗LINGO-2抗体 (例えば、C09) で処置する。週1回の腹腔内注射によって、処置を提供する。84~90日齢にマウスを屠殺し、筋肉量および組織学について評価する (例えば、運動ニューロンの生存を評価する)。疾患進行 (例えば、左右の横臥位 (lateral recumbancy) から直立する能力および握力) について、他のマウスをさらなる時間 (例えば、約134日間) モニタリングする。

40

【0394】

実施例9: LINGO-2アンタゴニストは、AKTリン酸化をアップレギュレートする等濃度の抗LINGO-2抗体 (C09) または対照抗体の存在下で、運動ニューロンをインキュベートした。細胞溶解物を回収し、ウエスタン分析によってリン酸化AKTタ

50

ンパク質のレベルをアッセイした。 - アクチンのレベルも対照として測定した。図 7 に示されているように、抗 L I N G O - 2 抗体は、A K T リン酸化を増加させた。

【 0 3 9 5 】

実施例 10 : L I N G O - 2 アンタゴニストは、オリゴデンドロサイト分化を促進する

漸増量の C 0 9 抗体でオリゴデンドロサイト前駆細胞を処理し、ウエスタンブロッティングによってミエリン関連糖タンパク質 ( M A G ) およびミエリン塩基性タンパク質 ( M B P ) タンパク質について試験することによって、抗 L I N G O - 2 抗体の役割をインビトロで調査した。図 8 に示されているように、C 0 9 抗体による処理は、M A G および M B P レベルを用量依存的に増加させた。M P B は、成熟オリゴデンドロサイトのマーカーである。したがって、これらのデータは、L I N G O - 2 アンタゴニストがオリゴデンドロサイト分化を促進することを示している。

10

【 図 1 】

LINGO-2は、CNSで特異的に発現している

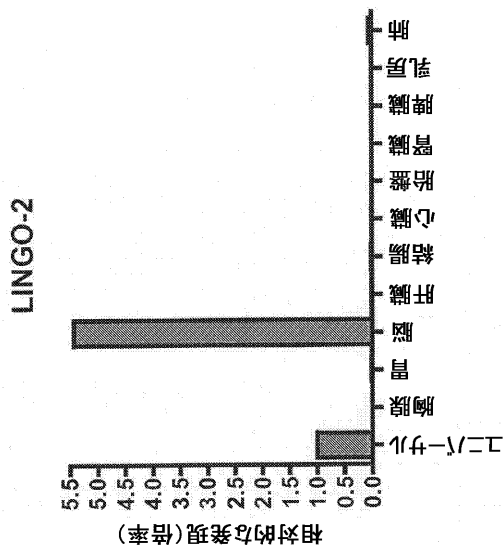


Figure 1

【 図 2 】

LINGO-2は、CNSで特異的に発現している

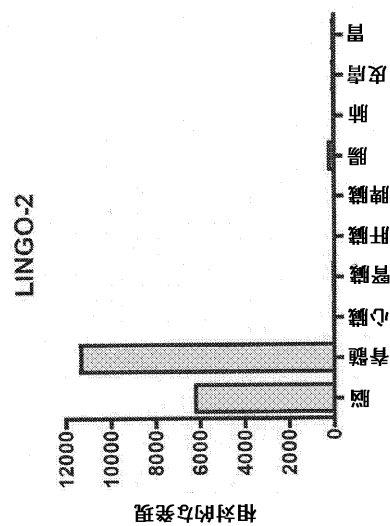


Figure 2

【図 3】

LINGO-2は皮質およびDRGニューロンで高発現している

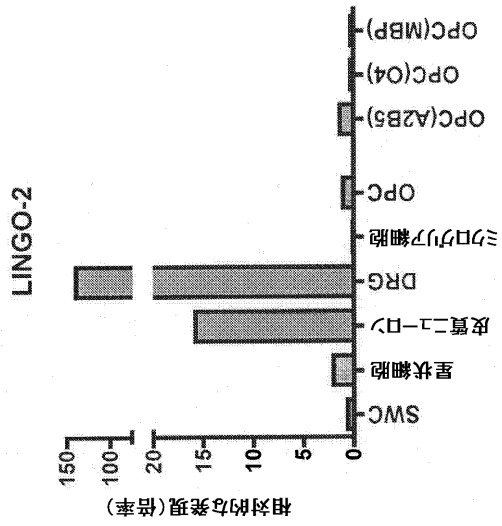


Figure 3

【図 4】

可溶性LINGO-2または抗LINGO-2抗体によるLINGO-2の遮断は、  
ヒト運動ニューロンの生存を促進する

亜ヒ酸ナトリウム(0.5mM 30分間)

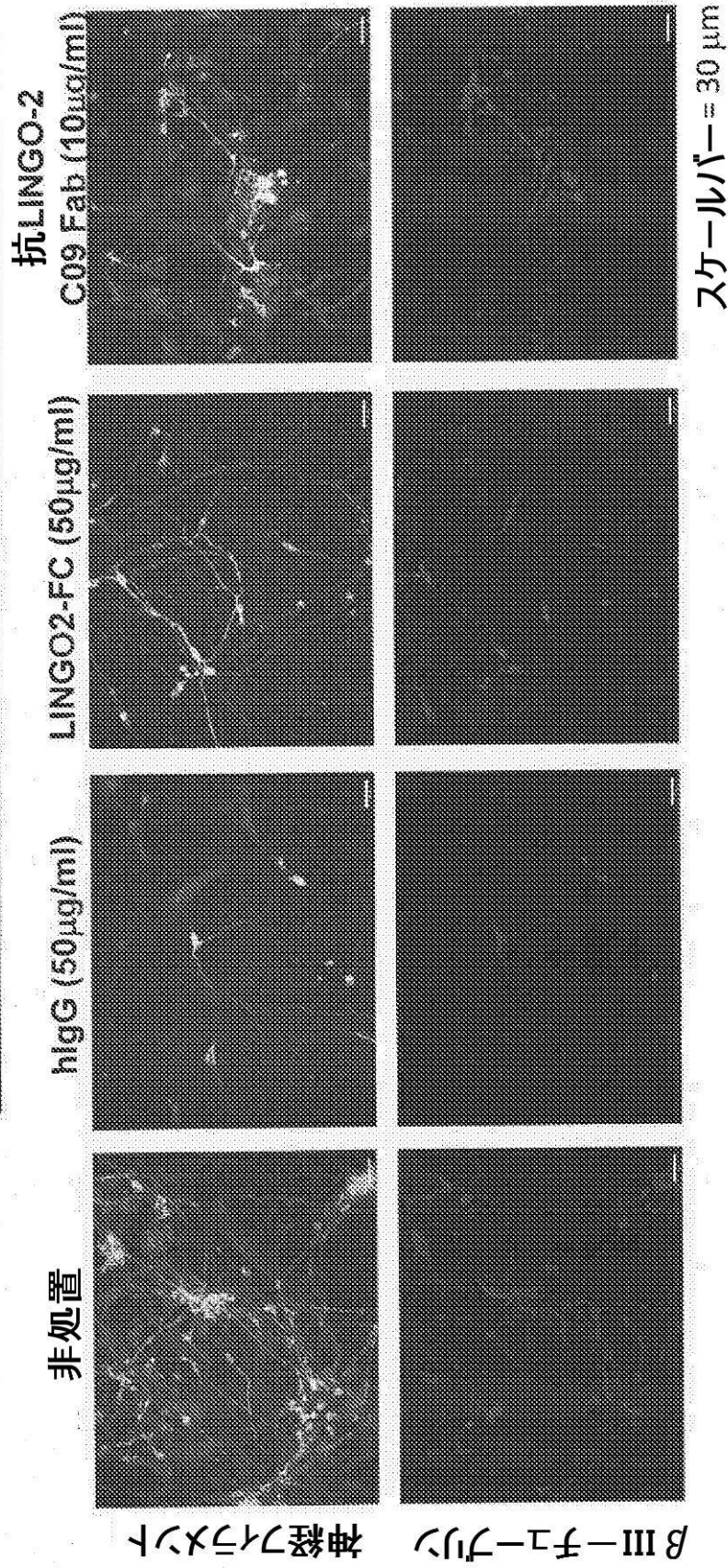


Figure 4

【図 5】

可溶性LINGO-2によるLINGO-2の遮断は、運動ニューロンの軸索成長を促進する

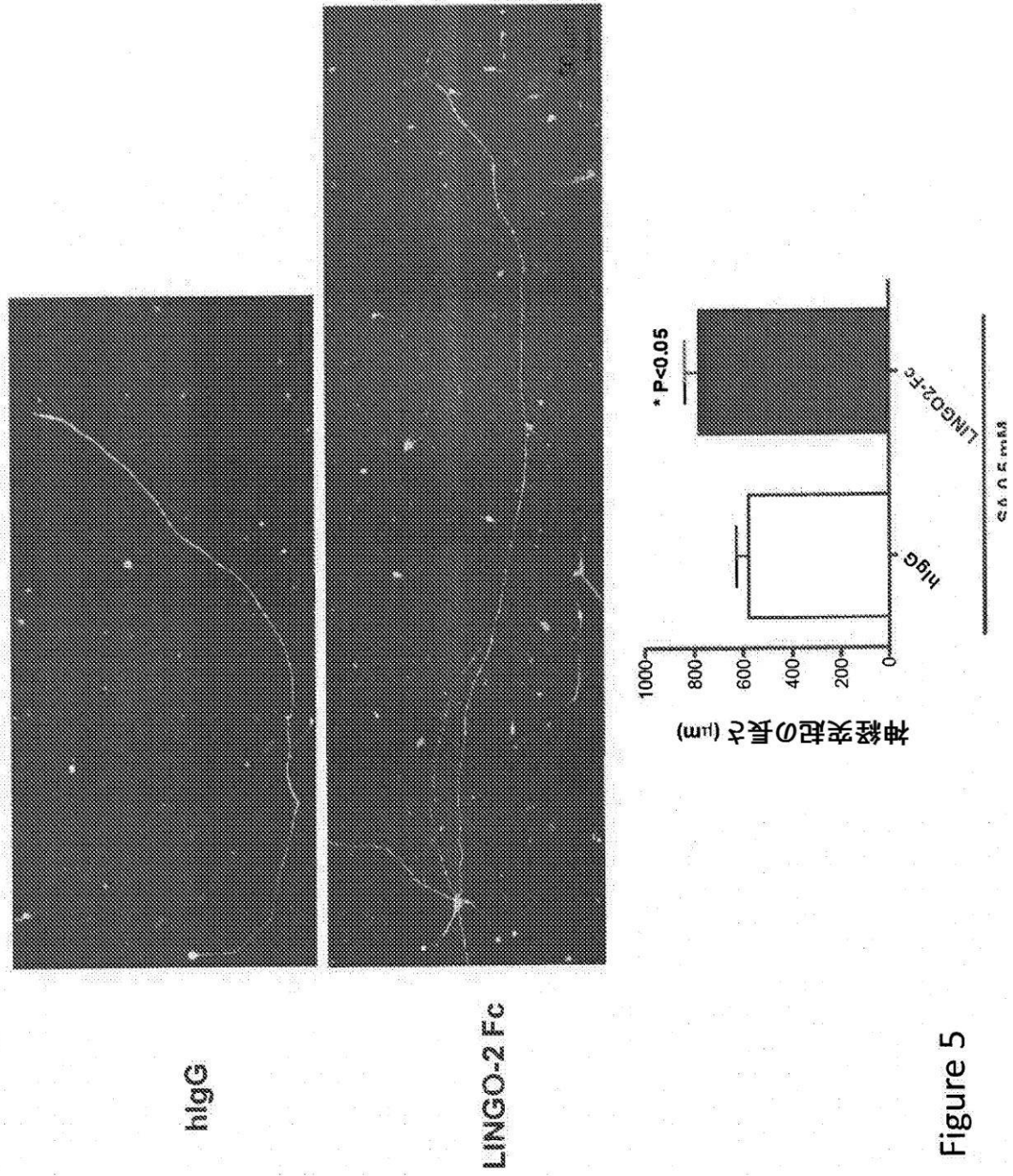


Figure 5

【図 6】

インサイチューハイブリダイゼーションによって決定した場合、LINGO-2発現レベルは、SODG93Aマウスでアップレギュレートされている

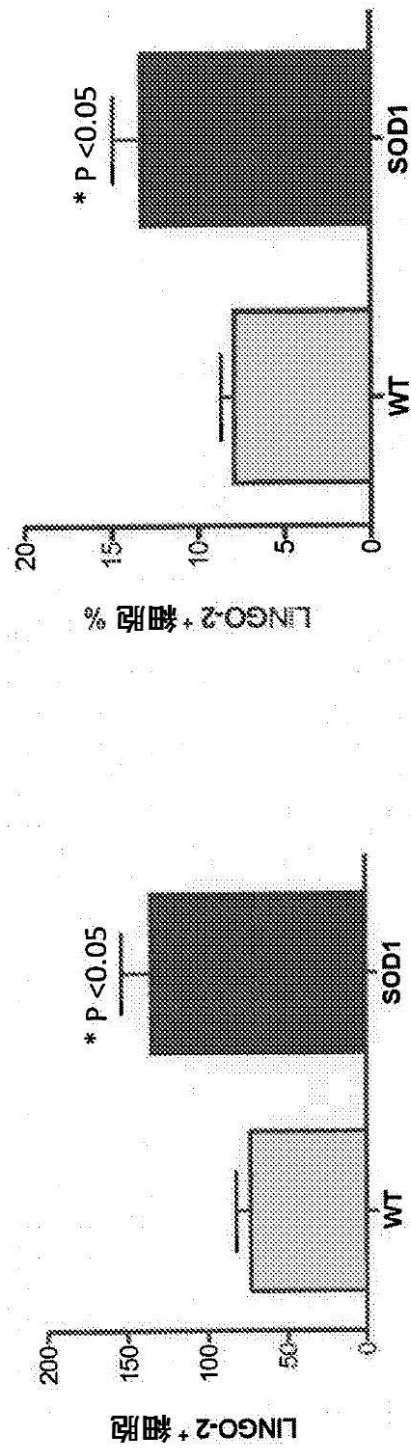


Figure 6

【図 7】  
LINGO-2の遮断は、AKTリン酸化をアップレギュレートすること  
によってニューロンの生存を促進する

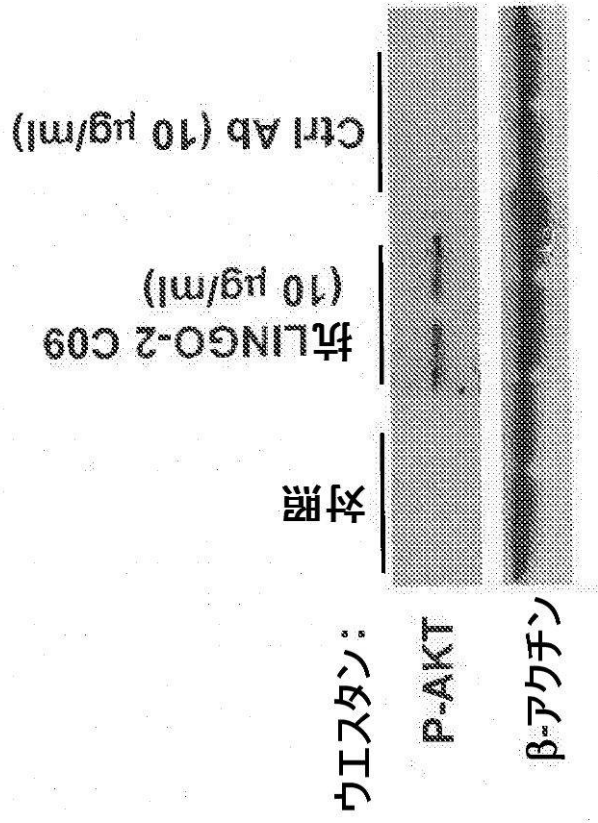


Figure 7

【 図 8 】

LINGO-2の遮断は、オリゴデンドロサイト分化を促進する

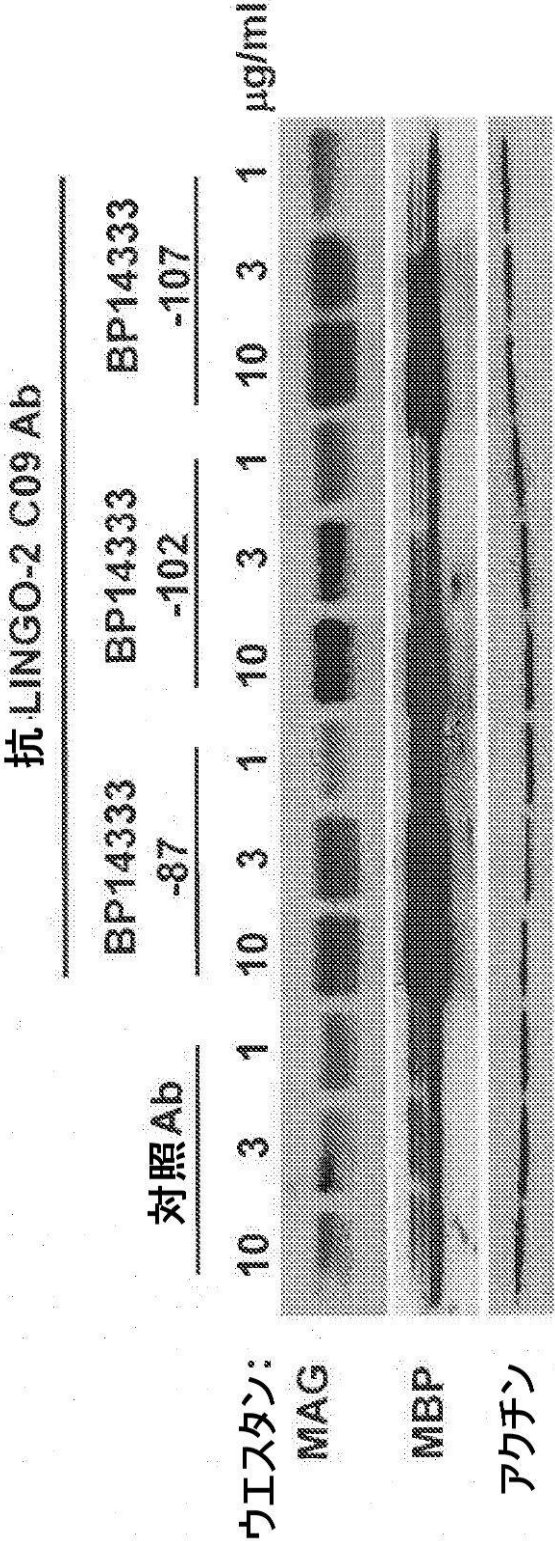


Figure 8

【 配 列 表 】

2015518829000001.app

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2013/040988																								
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - A61K 39/395 (2013.01) USPC - 424/139.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																										
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - A61K 39/395; A61P 25/00, 25/28; C07K 16/00; C12P 21/04; G01N 33/566 (2013.01) USPC - 424/130.1, 139.1; 506/2, 14; 530/387.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched CPC - A61K 2039/505; C07K14/705, 2317/76; C12N 5/0619, 2502/08 (2013.01) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatBase, Google Patents, Google, PubMed																										
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>WO 2011/121257 A1 (MORISSET-LOPEZ et al) 06 October 2011 (06.10.2011) entire document</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>34</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>US 2010/0143362 A1 (WALMSLEY et al) 10 June 2010 (10.06.2010) entire document</td> <td>32, 33, 40, 43</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td></td> <td>28-31, 34, 38, 41, 42, 49</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2009/0246189 A1 (MI et al) 01 October 2009 (01.10.2009) entire document</td> <td>28-31, 38, 49</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2010/0131432 A1 (KENNEDY et al) 27 May 2010 (27.05.2010) entire document</td> <td>41, 42</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KOTLIAROV et al. 'Correlation Analysis between Single-Nucleotide Polymorphism and Expression Arrays in Gliomas Identifies Potentially Relevant Target Genes.' Cancer Res 69: 1596-1603. 03 February 2009. entire document</td> <td>1-6, 28-34, 38, 40-43, 49</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	WO 2011/121257 A1 (MORISSET-LOPEZ et al) 06 October 2011 (06.10.2011) entire document	1-6	Y		34	X	US 2010/0143362 A1 (WALMSLEY et al) 10 June 2010 (10.06.2010) entire document	32, 33, 40, 43	Y		28-31, 34, 38, 41, 42, 49	Y	US 2009/0246189 A1 (MI et al) 01 October 2009 (01.10.2009) entire document	28-31, 38, 49	Y	US 2010/0131432 A1 (KENNEDY et al) 27 May 2010 (27.05.2010) entire document	41, 42	A	KOTLIAROV et al. 'Correlation Analysis between Single-Nucleotide Polymorphism and Expression Arrays in Gliomas Identifies Potentially Relevant Target Genes.' Cancer Res 69: 1596-1603. 03 February 2009. entire document	1-6, 28-34, 38, 40-43, 49
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																								
X	WO 2011/121257 A1 (MORISSET-LOPEZ et al) 06 October 2011 (06.10.2011) entire document	1-6																								
Y		34																								
X	US 2010/0143362 A1 (WALMSLEY et al) 10 June 2010 (10.06.2010) entire document	32, 33, 40, 43																								
Y		28-31, 34, 38, 41, 42, 49																								
Y	US 2009/0246189 A1 (MI et al) 01 October 2009 (01.10.2009) entire document	28-31, 38, 49																								
Y	US 2010/0131432 A1 (KENNEDY et al) 27 May 2010 (27.05.2010) entire document	41, 42																								
A	KOTLIAROV et al. 'Correlation Analysis between Single-Nucleotide Polymorphism and Expression Arrays in Gliomas Identifies Potentially Relevant Target Genes.' Cancer Res 69: 1596-1603. 03 February 2009. entire document	1-6, 28-34, 38, 40-43, 49																								
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>																										
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																										
Date of the actual completion of the international search 17 October 2013		Date of mailing of the international search report <b>01 NOV 2013</b>																								
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774																								

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2013/040988

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3. ☒ Claims Nos.: 7-27, 35-37, 39, 44-48, 50-56  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/42 (2006.01)	A 6 1 K 47/34	4 C 0 8 5
A 6 1 K 47/36 (2006.01)	A 6 1 K 47/42	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 47/36	4 C 0 8 7
A 6 1 K 31/7105 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/713 (2006.01)	A 6 1 K 31/7105	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/713	
A 6 1 P 25/02 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 25/14 (2006.01)	A 6 1 P 25/02	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/14	
A 6 1 P 21/02 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 P 21/02	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 35/76	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
C 0 7 K 14/705 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 14/705	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 7/00 (2006.01)	C 1 2 N 5/00	1 0 1
	C 1 2 N 7/00	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC

(72)発明者 ペピンスキー, アール. ブレイク

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 7 4, アーリントン, ファルマス ロード 3 0  
 Fターム(参考) 4B024 AA01 BA44 BA63 CA01 CA04 CA05 CA06 CA11 CA20 DA02  
 EA02 GA11 HA01 HA17  
 4B064 AG20 AG27 CA02 CA19 CC24 DA01  
 4B065 AA01X AA57X AA87X AA87Y AA95X AB01 AC14 BA01 CA25 CA26  
 CA44  
 4C076 BB16 BB21 BB24 BB40 CC01 EE23 EE30 EE41 EE59  
 4C084 AA02 AA13 BA20 BA41 BA42 MA66 MA70 NA14 ZA02 ZA16  
 ZA22 ZA94 ZC20  
 4C085 AA13 AA14 BB11 EE01  
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA66 MA70 NA14 ZA02 ZA16  
 ZA22 ZA94 ZC20  
 4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 NA14 ZA02 ZA16 ZA22 ZA94 ZC20  
 4H045 AA10 AA11 AA30 BA57 CA40 CA45 DA50 DA76 EA21 FA74