

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2014-12001

(P2014-12001A)

(43) 公開日 平成26年1月23日(2014.1.23)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
C O 7 K 16/26 (2006.01)	C O 7 K 16/26	4 B O 6 4
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	4 B O 6 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C O 8 5
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 H O 4 5
審査請求 有 請求項の数 14 O L (全 163 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2013-155968 (P2013-155968)	(71) 出願人	500049716
(22) 出願日	平成25年7月26日 (2013. 7. 26)		アムジェン・インコーポレーテッド
(62) 分割の表示	特願2008-510083 (P2008-510083) の分割		アメリカ合衆国 シーエー 9 1 3 2 0, サウザンド オークス, ワン アムジェン センター ドライブ
原出願日	平成18年4月28日 (2006. 4. 28)	(71) 出願人	507364540
(31) 優先権主張番号	60/677, 583		ユーシービー ファーマ ソシエテ アノ ニム
(32) 優先日	平成17年5月3日 (2005. 5. 3)		ベルギー国, ビー-1 0 7 0 ブリュッセル, アレ ドゥ ラ ルシュエルシュ 6 0
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100091096
(31) 優先権主張番号	60/776, 847		弁理士 平木 祐輔
(32) 優先日	平成18年2月24日 (2006. 2. 24)	(74) 代理人	100118773
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 藤田 節
(31) 優先権主張番号	60/782, 244		
(32) 優先日	平成18年3月13日 (2006. 3. 13)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 スクレロスチン結合作用物質

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 ヒトスクレロスチンタンパク質を含めたスクレロスチンタンパク質のエピトープ、およびスクレロスチンまたはその断片に結合することができる結合作用物質(抗体など)を提供する。

【解決手段】 特定のアミノ酸配列からなる軽鎖可変ドメインと、他の特定のアミノ酸配列からなる重鎖可変ドメインとを含む抗体であって、 $1 \times 10^{-7} \text{M}$ より少ないまたは $1 \times 10^{-7} \text{M}$ と等しい結合親和性(Kd)でスクレロスチンに結合する抗体、該抗体を産生する方法、ならびに、該抗体を含む医薬組成物。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号376で示されるアミノ酸配列からなる軽鎖可変ドメインと、配列番号378で示されるアミノ酸配列からなる重鎖可変ドメインとを含む抗体であって、 1×10^{-7} Mより少ないまたは 1×10^{-7} Mと等しい結合親和性 (Kd) で配列番号1のスクレロスチンに結合する抗体。

【請求項2】

重鎖及び軽鎖を含む免疫グロブリンである、請求項1に記載の抗体。

【請求項3】

配列番号145又は392の重鎖と、配列番号141の軽鎖とを含む抗体。

10

【請求項4】

配列番号145の重鎖と配列番号141の軽鎖とを含む抗体。

【請求項5】

配列番号392の重鎖と配列番号141の軽鎖とを含む抗体。

【請求項6】

IgG抗体である、請求項1～5のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項7】

モノクローナル抗体である、請求項1～6のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項8】

キメラ抗体又はヒト化抗体である、請求項1～7のいずれか1項に記載の抗体。

20

【請求項9】

請求項1～8のいずれか1項に記載の抗体をコードする単離されたポリヌクレオチド。

【請求項10】

請求項9に記載のポリヌクレオチドの1つ又は複数を含む、クローニングベクター又は発現ベクター。

【請求項11】

ベクターが、配列番号142、146、377及び379からなる群から選択される少なくとも1つの配列を含む、請求項10に記載のクローニングベクター又は発現ベクター。

【請求項12】

請求項10又は請求項11に記載のクローニングベクター又は発現ベクターを含む宿主細胞。

30

【請求項13】

請求項12に記載の宿主細胞を培養すること、及び、抗体を単離することを含む、抗体を産生するための方法。

【請求項14】

薬学的に許容できる賦形剤、希釈剤又は担体のうちの1つ又は複数と共に、請求項1～8のいずれか1項に記載の抗体を含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

本発明は概して、ヒトスクレロスチンタンパク質を含めたスクレロスチンタンパク質のエピトープ、およびスクレロスチンまたはその断片に結合することができる結合作用物質(抗体など)に関する。

【背景技術】

【0002】

骨量に対する変化の2つまたは3つの異なる段階が個体の生涯にわたって起こる(Riggs、West J. Med. 154:63～77頁(1991)を参照されたい)。第1の段階は、男女両性において起こり、ピーク骨量に達するまで進行する。この第1の段階は、軟骨内の成長板の直線的な成長およびある速度の骨膜付着による橈骨の成長を通して達成される。第2の段階は、およそ30歳で海綿骨(椎骨、骨盤などの平らな骨)について、約40歳で皮質骨(例えば、肢に

50

見られる長骨)について始まり、老齢まで継続する。この段階は、ゆっくりとした骨量減少によって特徴づけられ、男女両性において起こる。女性においては、第3の骨量減少段階も起こり、これは閉経後のエストロゲン欠乏に起因する可能性が最も高い。この段階の間だけで、女性は、皮質骨および骨梁内区画からさらなる骨量を失う恐れがある(前掲のRiggs参照)。

【0003】

骨塩量の減少は、多種多様な状態によって引き起こされ得、医学上の重大な問題を生じさせる恐れがある。例えば、骨粗鬆症は、ヒトにおける衰弱性疾患であり、骨格の骨量および塩密度の著しい低下、骨微細構造の分解を含めた骨の構造上の劣化、ならびに罹患した個体における骨脆弱性(すなわち骨強度の低下)および骨折しやすさの対応する増大によって特徴づけられる。通常、ヒトにおける骨粗鬆症に先行して、米国における約2500万人の人々に見られる状態である臨床的な骨減少症(骨密度(bone mineral density)が、若年成人の骨の平均値から-1標準偏差より低い、-2.5標準偏差より高い)が起こる。米国における別の7~800万人の患者は、臨床的な骨粗鬆症(骨塩量が、成熟した若年成人の骨の平均値から-2.5標準偏差より低いと定義される)と診断されている。ヒト集団における骨粗鬆症の頻度は、年齢とともに増大する。白人の間では、骨粗鬆症は女性に圧倒的に多く、米国において女性が骨粗鬆症患者プールの80%を占める。高齢者における骨格の骨の脆弱性および骨折しやすさの増大は、この集団における偶発的な転倒の危険性がより高いことによって悪化する。骨粗鬆症に伴う最も一般的な損傷には、股関節部、手首、および椎骨の骨折がある。股関節骨折は特に、患者にとって極めて厄介であり、費用がかかり、また女性にとっては、高い死亡率および罹患率と関連している。

【0004】

骨粗鬆症は、骨量低下による骨折の危険性の増大としてみなされているが、骨格障害のための現在利用可能な治療に、成人の骨密度を増大できるものはほとんどなく、現在利用可能な治療の大部分は主に、新たな骨形成を刺激するのではなくさらなる骨吸収を阻害することに役立つ。エストロゲンは現在、骨量減少を遅延させるために処方されている。しかし、患者に何らかの長期の利点があるか、またエストロゲンが75歳を超える患者に対して何らかの効果を示すかに関するいくつかの論議が存在する。さらに、エストロゲンを使用すると、乳癌および子宮内膜癌の危険性が増大すると考えられている。カルシトニン、ビタミンKを含むオステオカルシン、またはビタミンDを含むまたは含まない高用量の食事性カルシウムが閉経後の女性のために提案されている。しかし、高用量のカルシウムは、望ましくない胃腸の副作用を有することが多く、血清および尿のカルシウムレベルを連続的にモニタリングしなければならない(例えば、KhoslaおよびRiggs、Mayo Clin. Proc. 70:978~982頁、1995)。

【0005】

骨粗鬆症への現在の他の治療的アプローチには、ビスホスホネート(例えば、Fosamax(商標)、Actonel(商標)、Bonviva(商標)、Zometa(商標)、オルパドロネート、ネリドロネート、スケリッド(skelid)、ボネフォス)、上皮小体ホルモン、カルシウム分解物(calcilytic)、カルシウム模倣物(calcimimetic)(例えば、シナカルセット)、スタチン、タンパク質同化ステロイド、ランタン、およびストロンチウム塩、およびフッ化ナトリウムが含まれる。しかし、このような治療薬は、望ましくない副作用を伴うことが多い(前掲のKhoslaおよびRiggs参照)。

【0006】

骨の過成長および強く緻密な骨によって特徴づけられる骨格の疾患である硬結性骨化症では、SOST遺伝子産物であるスクレロスチンが欠如している(Brunkowら、Am. J. Hum. Genet. 68:577~589頁、2001;Balemansら、Hum. Mol. Genet. 10:537~543頁、2001)。ヒトスクレロスチンのアミノ酸配列は、前掲のBrunkowらによって報告されており、配列番号1として本明細書で開示される。

【先行技術文献】

【非特許文献】

10

20

30

40

50

【0007】

【非特許文献1】Riggs、West J. Med. 154:63～77頁(1991)

【非特許文献2】KhoslaおよびRiggs、Mayo Clin. Proc. 70:978～982頁、1995

【非特許文献3】Brunkowら、Am. J. Hum. Genet. 68:577～589頁、2001

【非特許文献4】Balemansら、Hum. Mol. Genet. 10:537～543頁、2001

【発明の概要】

【0008】

骨形成、骨密度、骨塩量、骨量、骨質、および骨強度のうちの少なくとも1つを増大させるために使用することができ、したがって、骨形成、骨密度、骨塩量、骨量、骨質、および骨強度のうちの少なくとも1つの増大が望ましい多種多様な状態を治療するために使用することができる組成物および方法が本明細書で開示される。また、本発明には、本明細書に記載の他の関連する利点がある。

10

【0009】

本発明は、本明細書で開示される結合作用物質によって認識されるヒトスクレロステチンの領域(エピトープ)、こうしたエピトープを使用する方法、およびそのようなエピトープを作製する方法に関する。

【0010】

本発明はまた、ループ2として識別されるスクレロステチンの領域に特異的なエピトープ、およびこの領域に特異的に結合する結合作用物質に関する。

【0011】

20

本発明はまた、スクレロステチンのシスチンノット領域に特異的なエピトープ、およびこの領域に特異的に結合する抗体などの結合作用物質に関する。

【0012】

本発明は、スクレロステチンに特異的に結合する抗体などの結合作用物質に関する。この結合作用物質は、本明細書で開示される少なくとも1種の抗体がスクレロステチンに結合することを交差阻止し、かつ/または本明細書で開示される少なくとも1種の抗体によりスクレロステチンに結合することが交差阻止されるその能力によって特徴づけることができる。この抗体と他の結合作用物質とは、本明細書で開示される「ヒトスクレロステチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ」でヒトスクレロステチンペプチドに対するその結合パターンによって特徴づけることもできる。

30

【0013】

本発明は、哺乳動物の骨形成、骨密度、骨塩量、骨量、骨質、および骨強度のうちの少なくとも1つを増大させることができる抗体などの結合作用物質に関する。

【0014】

本発明は、細胞に基づく石灰化アッセイでスクレロステチンの抑制作用を遮断することができる抗体などの結合作用物質に関する。

【0015】

本発明はさらに、スクレロステチンのシスチンノットコア領域を表す、少なくとも1つのジスルフィド結合によって連結した2つ、3つ、または4つのポリペプチド断片を含むポリペプチド構築物、およびそれに特異的に結合することができる抗体に関する。

40

【0016】

本発明は、スクレロステチンに特異的に結合することができる抗体などの結合作用物質を哺乳動物で産生するための免疫原として使用するのに適したエピトープを得る方法に関する。ある実施形態では、産生されたこの結合作用物質は、in vivoでのスクレロステチン活性を中和することができる。

【0017】

本発明は、動物に投与するとスクレロステチンに特異的な抗体を誘発するための組成物に関し、この組成物は、配列番号6、配列番号63、配列番号64、配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、または配列番号69のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。

50

【0018】

本発明はまた、動物に投与するとスクレロスチンに特異的な抗体を誘発するための組成物に関するものであり、この組成物は、配列番号2、配列番号3、配列番号4、または配列番号5のアミノ酸配列から本質的になる少なくとも1つのポリペプチドを含む。この組成物は、配列番号2、配列番号3、配列番号4、および配列番号5のアミノ酸配列のうちの少なくとも2つまたは少なくとも3つを含んでもよく、この組成物は、配列番号2、配列番号3、配列番号4、および配列番号5の4つすべてのアミノ酸配列を含んでもよい。

【0019】

本発明はさらに、動物に投与するとスクレロスチンに特異的な抗体を誘発するための組成物に関するものであり、この組成物は、配列番号2、配列番号3、配列番号4、および配列番号5のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含み、配列番号2と4は、配列番号1に関してアミノ酸57位と111位でのジスルフィド結合によって連結しており、配列番号3と5は、(a)配列番号1に関してアミノ酸82位と142位でのジスルフィド結合、および(b)配列番号1に関してアミノ酸86位と144位でのジスルフィド結合のうちの少なくとも1つによって連結している。このポリペプチドは、配列番号1のヒトスクレロスチンの対応するポリペプチド領域の三次構造を保持することができる。

10

【0020】

本発明はまた、配列番号1のアミノ酸1～50位、65～72位、91～100位、118～137位、および150～190位を欠いている、多重に切断された配列番号1のヒトスクレロスチンタンパク質から本質的になるポリペプチドT20.6に関する。このポリペプチドは、ヒトスクレロスチンのトリプシン消化によって得ることができ、このタンパク質は、HPLC分画によって単離することができる。

20

【0021】

本発明はさらに、配列番号1のアミノ酸51～64位、73～90位、101～117位、および138～149位を含み、

- (a)アミノ酸57位と111位の間のジスルフィド結合、
- (b)アミノ酸82位および142位の間のジスルフィド結合、および
- (c)アミノ酸86位および144位の間のジスルフィド結合

のうちの少なくとも1つを含むヒトスクレロスチンの免疫原性部分T20.6に関し、この免疫原性部分は、こうしたジスルフィド結合のうちの少なくとも2つを有してもよく、この免疫原性部分は、3つすべてのジスルフィド結合を有してもよい。

30

【0022】

本発明はさらに、配列番号1のアミノ酸57～64位、73～86位、111～117位、および138～144位を含み、

- (a)アミノ酸57位と111位の間のジスルフィド結合、
- (b)アミノ酸82位および142位の間のジスルフィド結合、および
- (c)アミノ酸86位および144位の間のジスルフィド結合

のうちの少なくとも1つを含むヒトスクレロスチンの免疫原性部分T20.6誘導体に関し、この免疫原性部分は、こうしたジスルフィド結合のうちの少なくとも2つを有してもよく、この免疫原性部分は、3つすべてのジスルフィド結合を有してもよい。

40

【0023】

本発明はさらにまた、配列番号1のアミノ酸1～85位および112～190位を欠いている、C末端およびN末端が切断された配列番号1のヒトスクレロスチンタンパク質から本質的になるポリペプチドに関する。

【0024】

本発明はまた、配列番号1のアミノ酸86～111位を含むヒトスクレロスチンの免疫原性部分に関し、この免疫原性部分は、連続したアミノ酸CGPARLLPNAIGRGKWWRPSGPDFRC(配列番号6)から本質的になっていてよい。

【0025】

本発明はさらに、配列番号98のアミノ酸92～109位を含むラットスクレロスチンの免疫

50

原性部分に関し、この免疫原性部分は、連続したアミノ酸PNAIGRVKWWRPNGPDFR(配列番号96)から本質的になってよい。

【0026】

本発明はさらにまた、配列番号98のアミノ酸99～120位を含むラットスクレロスチンの免疫原性部分に関し、この免疫原性部分は、連続したアミノ酸KWWRPNGPDFRCIPDRYRAQRV(配列番号97)から本質的になってよい。

【0027】

本発明は、ヒトスクレロスチンの免疫原性部分を作製する方法に関し、この方法は、

(a)ヒトスクレロスチンを、完全なトリプシン消化を達成するように処理するステップと、

(b)逆相HPLCカラムから、0.05%トリフルオロ酢酸から0.05%TFA中90%アセトニトリルまでの直線勾配により流速0.2ml/minで溶出することにより決定される、7122.0ダルトンの平均分子量(理論的質量7121.5ダルトン)または約20.6分間の保持時間を有するトリプシン消化物試料を採取するステップと、

(c)免疫原性部分を精製するステップとを含む。

【0028】

本発明は、スクレロスチンに特異的に結合することができる抗体を産生する方法に関し、この方法は、

(a)配列番号6、配列番号63、配列番号64、配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号69、配列番号96、または配列番号97のポリペプチドを含む組成物で動物を免疫すること、

(b)この動物から血清を採取すること、および

(c)この血清からスクレロスチンに特異的に結合することができる抗体を単離することを含む。

【0029】

本発明はまた、スクレロスチンに特異的に結合することができる抗体を産生する方法に関し、この方法は、

(a)ポリペプチドT20.6またはT20.6の誘導体を含む組成物で動物を免疫すること、

(b)動物から血清を採取すること、および

(c)血清からスクレロスチンに特異的に結合することができる抗体を単離することを含む。

【0030】

本発明はさらに、生物試料中の抗スクレロスチン抗体を検出する方法に関し、この方法は、

(a)生物試料を配列番号6、配列番号63、配列番号64、配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号69、配列番号96、または配列番号97から本質的になるポリペプチドと、抗体とポリペプチドの間で複合体を形成するのを可能にする条件下で接触させるステップと、

(b)複合体の有無を検出するステップとを含み、複合体の存在は、生物試料が抗スクレロスチン抗体を含有することを示す。

【0031】

本発明はまた、生物試料中の抗スクレロスチン抗体を検出する方法に関し、この方法は、

(a)生物試料をポリペプチドT20.6またはT20.6の誘導体と、抗体とポリペプチドの間で複合体を形成するのを可能にする条件下で接触させるステップと、

(b)複合体の有無を検出するステップとを含み、複合体の存在は、生物試料が抗スクレロスチン抗体を含有することを示す。

【0032】

本発明はさらに、抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、またはAb-Dのうちの少なくとも1つがスクレ

10

20

30

40

50

ロスチンタンパク質に結合することを交差阻止する抗体などのスクレロスチン結合作用物質に関する。このスクレロスチン結合作用物質は、抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、またはAb-Dのうちの少なくとも1つによりスクレロスチンに結合することを交差阻止されてもよい。単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体などであってよい。

【0033】

本発明はさらに、抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、またはAb-Dのうちの少なくとも1つによりスクレロスチンに結合することを交差阻止される抗体などのスクレロスチン結合作用物質に関する。単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体などであってよい。

10

【0034】

本発明はさらに、抗体1~24(Ab-1からAb-24)のうちの少なくとも1つがスクレロスチンタンパク質に結合することを交差阻止する単離された抗体などのスクレロスチン結合作用物質に関する。このスクレロスチン結合作用物質は、抗体1~24(Ab-1からAb-24)のうちの少なくとも1つによりスクレロスチンに結合することを交差阻止されてもよい。単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体などであってよい。

【0035】

本発明はさらに、抗体1~24(Ab-1からAb-24)のうちの少なくとも1つによりスクレロスチンに結合することを交差阻止される単離された抗体などのスクレロスチン結合作用物質に関する。単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体などであってよい。

20

【0036】

本発明はさらに、「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ」で抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、またはAb-Dのうちの少なくとも1つによって示されるものと類似した、ヒトスクレロスチンペプチドへの結合パターンを示す単離された抗体などの結合作用物質に関する。単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体などであってよい。

【0037】

本発明はさらにまた、哺乳動物対象の低骨形成、低骨密度、低骨塩量、低骨量、低骨質、および低骨強度のうちの少なくとも1つに伴う骨障害を治療するための方法に関し、この方法は、そのような治療を必要とする対象に、骨形成、骨密度、骨塩量、骨量、骨質、および骨強度のうちの少なくとも1つを増大させるのに十分な量の抗スクレロスチン結合作用物質を提供することを含み、この抗スクレロスチン結合作用物質は、抗体またはそのスクレロスチン結合性フラグメントを含む。

30

【0038】

本発明はまた、単離されたスクレロスチンポリペプチドまたはその断片に関し、このポリペプチドは、6つの保存されたシステイン残基を含有しており、その断片は、配列番号2の7~14アミノ酸、配列番号3の8~17アミノ酸、配列番号4の8~18残基、および配列番号5の6~12残基を含み、ポリペプチドまたはその断片は、配列番号2と4の間および配列番号3と5の間のジスルフィド結合によって安定化されている。ポリペプチドまたは断片は、配列番号2の10~14アミノ酸、配列番号3の14~17アミノ酸、配列番号4の13~18アミノ酸、および配列番号5の8~12残基を含んでもよく、ポリペプチドまたは断片は、配列番号2、配列番号3、配列番号4、および配列番号5を含んでもよい。

40

【0039】

本明細書では、ヒトスクレロスチンに特異的に結合する抗体が提供される。この抗体は、本明細書で開示される少なくとも1種の抗体がヒトスクレロスチンに結合することを交差阻止し、かつ/または本明細書で開示される少なくとも1種の抗体によりヒトスクレロスチンに結合することが交差阻止されるその能力によって特徴づけられる。

【0040】

50

哺乳動物の骨形成、骨密度、骨塩量、骨量、骨質、および骨強度のうちの少なくとも1つを増大させることができる単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントも提供される。

【0041】

細胞に基づく石灰化アッセイでスクレロステチンの抑制作用を遮断することができる単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントも提供される。

【0042】

ヒトスクレロステチンに特異的に結合し、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、78、79、80、81、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、237、238、239、240、241、242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、351、352、353、358、359、および360、ならびにその変異体から選択される少なくとも1種のCDR配列を有する抗体などの結合作用物質も提供され、この抗体またはその抗原結合性フラグメントは、スクレロステチンを中和する。

【0043】

ヒトスクレロステチンに特異的に結合し、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、78、79、80、81、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、237、238、239、240、241、242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、351、352、353、358、359、および360、ならびにその変異体から選択される少なくとも1種のCDR配列を有する抗体などの結合作用物質も提供される。

【0044】

ヒトスクレロステチンの領域も提供され、この領域は、そのタンパク質のin vivo活性にとって重要である。

【0045】

要約すると、本発明は、以下の特徴を有する。

[1] 抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つがスクレロステチンに結合することを交差阻止するスクレロステチン結合作用物質。

[2] 抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つによりスクレロステチンに結合することが交差阻止される、[1]に記載のスクレロステチン結合作用物質。

[3] 抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つによりスクレロステチンに結合することが交差阻止されるスクレロステチン結合作用物質。

[4] 前記スクレロステチン結合作用物質の交差阻止する、または交差阻止される能力がBiacoreアッセイで検出される、請求項1または3に記載のスクレロステチン結合作用物質。

[5] 前記スクレロステチン結合作用物質の交差阻止する、または交差阻止される能力がELISAアッセイで検出される、[1]または[3]に記載のスクレロステチン結合作用物質。

[6] 抗体である、[1]または[3]に記載のスクレロステチン結合作用物質。

[7] 哺乳動物の骨形成、骨密度 (bone mineral density)、骨塩量、骨量、骨質、およ

び骨強度のうちの少なくとも1つを増大させることができる、[1]または[3]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[8] 細胞に基づく石灰化アッセイでスクレロスチンの抑制作用を遮断することができる、[1]または[3]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[9] 細胞に基づく石灰化アッセイでスクレロスチンの抑制作用を遮断することができるスクレロスチン結合作用物質。

[10] ループ2エピトープに結合するスクレロスチン結合作用物質。

[11] T20.6エピトープに結合するスクレロスチン結合作用物質。

[12] 「T20.6誘導体1(シスチンノット+アーム4本)」エピトープに結合するスクレロスチン結合作用物質。

10

[13] 抗体である、[7]から[12]のいずれかに記載のスクレロスチン結合作用物質。

[14] 配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、78、79、80、81、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、237、238、239、240、241、242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、351、352、353、358、359、および360から選択されるCDRと少なくとも75%の同一性を有する少なくとも1つのCDR配列を含むスクレロスチン結合作用物質。

20

[15] 前記CDR配列のうちの少なくとも2つを含む、[14]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[16] 前記CDR配列のうちの少なくとも6つを含む、[14]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[17] 前記同一性が85%である、[14]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[18] 前記同一性が95%である、[14]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[19]

- a) 配列番号39、40、および41のCDR配列、
- b) 配列番号42、43、および44のCDR配列、
- c) 配列番号45、46、および47のCDR配列、
- d) 配列番号48、49、および50のCDR配列、
- e) 配列番号51、52、および53のCDR配列、
- f) 配列番号54、55、および56のCDR配列、
- g) 配列番号57、58、および59のCDR配列、
- h) 配列番号60、61、および62のCDR配列、
- i) 配列番号275、276、および277のCDR配列、
- j) 配列番号287、288、および289のCDR配列、
- k) 配列番号278、279、および280のCDR配列、
- l) 配列番号290、291、および292のCDR配列、
- m) 配列番号78、79、および80のCDR配列、
- n) 配列番号245、246、および247のCDR配列、
- o) 配列番号81、99、および100のCDR配列、
- p) 配列番号248、249、および250のCDR配列、
- q) 配列番号101、102、および103のCDR配列、
- r) 配列番号251、252、および253のCDR配列、
- s) 配列番号104、105、および106のCDR配列、
- t) 配列番号254、255、および256のCDR配列、
- u) 配列番号107、108、および109のCDR配列、
- v) 配列番号257、258、および259のCDR配列、
- w) 配列番号110、111、および112のCDR配列、

30

40

50

- x) 配列番号260、261、および262のCDR配列、
 y) 配列番号281、282、および283のCDR配列、
 z) 配列番号293、294、および295のCDR配列、
 aa) 配列番号113、114、および115のCDR配列、
 bb) 配列番号263、264、および265のCDR配列、
 cc) 配列番号284、285、および286のCDR配列、
 dd) 配列番号296、297、および298のCDR配列、
 ee) 配列番号116、237、および238のCDR配列、
 ff) 配列番号266、267、および268のCDR配列、
 gg) 配列番号239、240、および241のCDR配列、
 hh) 配列番号269、270、および271のCDR配列、
 ii) 配列番号272、273、および274のCDR配列、
 jj) 配列番号242、243、および244のCDR配列、
 kk) 配列番号351、352、および353のCDR配列、または
 ll) 配列番号358、359、および360のCDR配列
 を含む、請求項14に記載のスクレロスチン結合作用物質。 10
- [20]
- a) 配列番号54、55、および56のCDR配列ならびに配列番号51、52、および53のCDR配列、
 b) 配列番号60、61、および62のCDR配列ならびに配列番号57、58、および59のCDR配列、
 c) 配列番号48、49、および50のCDR配列ならびに配列番号45、46、および47のCDR配列、
 d) 配列番号42、43、および44のCDR配列ならびに配列番号39、40、および41のCDR配列、
 e) 配列番号275、276、および277のCDR配列ならびに配列番号287、288、および289のCDR
 配列、
 f) 配列番号278、279、および280のCDR配列ならびに配列番号290、291、および292のCDR
 配列、
 g) 配列番号78、79、および80のCDR配列ならびに配列番号245、246、および247のCDR配
 列、
 h) 配列番号81、99、および100のCDR配列ならびに配列番号248、249、および250のCDR配
 列、
 i) 配列番号101、102、および103のCDR配列ならびに配列番号251、252、および253のCDR
 配列、
 j) 配列番号104、105、および106のCDR配列ならびに配列番号254、255、および256のCDR
 配列、
 k) 配列番号107、108、および109のCDR配列ならびに配列番号257、258、および259のCDR
 配列、
 l) 配列番号110、111、および112のCDR配列ならびに配列番号260、261、および262のCDR
 配列、
 m) 配列番号281、282、および283のCDR配列ならびに配列番号293、294、および295のCDR
 配列、
 n) 配列番号113、114、および115のCDR配列ならびに配列番号263、264、および265のCDR
 配列、
 o) 配列番号284、285、および286のCDR配列ならびに配列番号296、297、および298のCDR
 配列、
 p) 配列番号116、237、および238のCDR配列ならびに配列番号266、267、および268のCDR
 配列、
 q) 配列番号239、240、および241のCDR配列ならびに配列番号269、270、および271のCDR
 配列、
 r) 配列番号242、243、および244のCDR配列ならびに配列番号272、273、および274のCDR
 配列、または
 s) 配列番号351、352、および353のCDR配列ならびに配列番号358、359、および360のCDR 50

配列

を含む、[14]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[21] 抗体である、[14]から[20]のいずれかに記載のスクレロスチン結合作用物質。

[22] [1]から[12]および[14]から[20]のいずれかに記載のスクレロスチン結合作用物質を含む医薬組成物。

[23] 前記スクレロスチン結合作用物質が抗体である、[22]に記載の組成物。

[24] 配列番号245、246、247、78、79、80、269、270、271、239、240、および241から選択されるCDRと少なくとも75%の同一性を有する少なくとも1つのCDR配列を含むスクレロスチン結合作用物質。

[25] CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3から選択されるCDRと少なくとも75%の同一性を有する少なくとも1つのCDR配列を含むスクレロスチン結合作用物質であって、CDR-H1が、配列番号245または配列番号269で示される配列を有し、CDR-H2が、配列番号246または配列番号270で示される配列を有し、CDR-H3が、配列番号247または配列番号271で示される配列を有し、CDR-L1が、配列番号78または配列番号239で示される配列を有し、CDR-L2が、配列番号79または配列番号240で示される配列を有し、CDR-L3が、配列番号80または配列番号241で示される配列を有するスクレロスチン結合作用物質。

[26] 3種のCDR、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含み、

(a)CDR-H1が配列番号245であり、CDR-H2が配列番号246であり、CDR-H3が配列番号247であるか、または

(b)CDR-H1が配列番号269であり、CDR-H2が配列番号270であり、CDR-H3が配列番号271である、[25]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[27] 3種のCDR、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含み、

(a)CDRL1が配列番号78であり、CDR-L2が配列番号79であり、CDR-L3が配列番号80であるか、または

(b)CDRL1が配列番号239であり、CDR-L2が配列番号240であり、CDR-L3が配列番号241である、[25]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[28] 6種のCDR、CDRH-1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含み、

(a)CDR-H1が配列番号245であり、CDR-H2が配列番号246であり、CDR-H3が配列番号247であり、CDR-L1が配列番号78であり、CDR-L2が配列番号79であり、CDR-L3が配列番号80であるか、または

(b)CDR-H1が配列番号269であり、CDR-H2が配列番号270であり、CDR-H3が配列番号271であり、CDR-L1が配列番号239であり、CDR-L2が配列番号240であり、CDR-L3が配列番号241である、[25]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[29] 抗体である、[24]から[28]のいずれかに記載のスクレロスチン結合作用物質。

[30] 配列番号333、配列番号378、配列番号327、配列番号329、または配列番号366で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含む重鎖を備え、[29]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[31] 配列番号332、配列番号376、配列番号314、配列番号328、または配列番号364で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含む軽鎖を備え、[29]に記載のスクレロスチン結合作用物質。

[32] 重鎖と軽鎖をどちらも備え、

(a)重鎖が、配列番号333で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含み、軽鎖が、配列番号332で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含むか、または

(b)重鎖が、配列番号378で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含み、軽鎖が、配列番号376で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含むか、または

(c)重鎖が、配列番号327で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含み、軽鎖が、配列番号314で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含むか、または

10

20

30

40

50

(d) 重鎖が、配列番号329で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含み、軽鎖が、配列番号328で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含むか、または

(c) 重鎖が、配列番号366で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含み、軽鎖が、配列番号364で示される配列と少なくとも85%の同一性を有するポリペプチドを含む、[29]に記載のスクロスチン結合作用物質。

[33] 軽鎖および/または重鎖の定常領域を備える、[24]から[32]のいずれかに記載のスクロスチン結合作用物質。

[34] IgG4またはIgG2定常領域を備える、[33]に記載のスクロスチン結合作用物質。

[35] それぞれ配列番号245、246、および247と少なくとも75%同一であるCDRのH1、H2、およびH3を含み、配列番号137で示される配列またはその変異体を有するポリペプチドを含む重鎖と、それぞれ配列番号78、79、および80と少なくとも75%同一であるCDRのL1、L2、およびL3を含み、配列番号133で示される配列またはその変異体を有するポリペプチドを含む軽鎖とを有するスクロスチン結合作用物質。 10

[36] それぞれ配列番号245、246、および247と少なくとも75%同一であるCDRのH1、H2、およびH3を含み、配列番号145または392で示される配列またはその変異体を有するポリペプチドを含む重鎖と、それぞれ配列番号78、79、および80と少なくとも75%同一であるCDRのL1、L2、およびL3を含み、配列番号141で示される配列またはその変異体を有するポリペプチドを含む軽鎖とを有するスクロスチン結合作用物質。

[37] それぞれ配列番号269、270、および271と少なくとも75%同一であるCDRのH1、H2、およびH3を含み、配列番号335で示される配列またはその変異体を有するポリペプチドを含む重鎖と、それぞれ配列番号239、240、および241と少なくとも75%同一であるCDRのL1、L2、およびL3を含み、配列番号334で示される配列またはその変異体を有するポリペプチドを含む軽鎖とを有するスクロスチン結合作用物質。 20

[38] それぞれ配列番号269、270、および271と少なくとも75%同一であるCDRのH1、H2、およびH3を含み、配列番号331で示される配列またはその変異体を有するポリペプチドを含む重鎖と、それぞれ配列番号239、240、および241と少なくとも75%同一であるCDRのL1、L2、およびL3を含み、配列番号330で示される配列またはその変異体を有するポリペプチドを含む軽鎖とを有するスクロスチン結合作用物質。

[39] それぞれ配列番号269、270、および271と少なくとも75%同一であるCDRのH1、H2、およびH3を含み、配列番号345または396で示される配列またはその変異体を有するポリペプチドを含む重鎖と、それぞれ配列番号239、240、および241と少なくとも75%同一であるCDRのL1、L2、およびL3を含み、配列番号341で示される配列またはその変異体を有するポリペプチドを含む軽鎖とを有するスクロスチン結合作用物質。 30

[40] 配列番号137で示される配列を有するポリペプチドを含む重鎖と、配列番号133で示される配列を有するポリペプチドを含む軽鎖とを有するスクロスチン結合作用物質。

[41] 配列番号145または392で示される配列を有するポリペプチドを含む重鎖と、配列番号141で示される配列を有するポリペプチドを含む軽鎖とを有するスクロスチン結合作用物質。

[42] 配列番号335で示される配列を有するポリペプチドを含む重鎖と、配列番号334で示される配列を有するポリペプチドを含む軽鎖とを有するスクロスチン結合作用物質。 40

[43] 配列番号331で示される配列を有するポリペプチドを含む重鎖と、配列番号330で示される配列を有するポリペプチドを含む軽鎖とを有するスクロスチン結合作用物質。

[44] 配列番号345または396で示される配列を有するポリペプチドを含む重鎖と、配列番号341で示される配列を有するポリペプチドを含む軽鎖とを有するスクロスチン結合作用物質。

[45] 1種または複数のエフェクター分子またはリポーター分子が結合している、[24]から[44]のいずれかに記載のスクロスチン結合作用物質。

[46] [24]から[44]のいずれかに記載のスクロスチン結合作用物質をコードしている単離されたポリヌクレオチド配列。 50

[47] [46]に記載の1種または複数のポリヌクレオチド配列を含むクローニングベクターまたは発現ベクター。

[48] 配列番号134、136、138、140、142、144、146、148、308、310、312、342、344、346、348、349、365、367、373、375、および379で示される少なくとも1つの配列を含む、[47]に記載のベクター。

[49] [47]または[48]に記載の1種または複数のクローニングベクターまたは発現ベクターを含む宿主細胞。

[50] [24]から[44]のいずれかに記載のスクレロスチン結合作用物質を産生するための方法であって、[49]に記載の宿主細胞を培養すること、およびスクレロスチン結合作用物質を単離することを含む方法。

[51] [24]から[45]のいずれかに記載のスクレロスチン結合作用物質を、薬学的に許容できる賦形剤、希釈剤、または担体のうちの1つまたは複数と組み合わせてを含む医薬組成物。

[52] 他の有効成分をさらに含む、[51]に記載の医薬組成物。

[53] スクレロスチンによって媒介される、またはスクレロスチンレベルの上昇に伴う病的障害の治療または予防において使用するための、[24]から[45]のいずれかに記載のスクレロスチン結合作用物質または[51]または[52]に記載の医薬組成物。

[54] 哺乳動物対象の骨関連障害を治療するための方法であって、そのような治療を必要とする対象に[22]に記載の医薬組成物を提供することを含む方法。

[55] 哺乳動物対象の骨関連障害を治療するための方法であって、そのような治療を必要とする対象に[23]に記載の医薬組成物を提供することを含む方法。

[56] 哺乳動物対象の骨関連障害を治療するための方法であって、そのような治療を必要とする対象に[51]に記載の医薬組成物を提供することを含む方法。

[57] 骨関連障害が、軟骨無形成症、鎖骨頭蓋異骨症、内軟骨腫症、線維性骨異形成症、ゴーシェ病、低リン血症性くる病、マルファン症候群、多発性遺伝性外骨症、神経線維腫症、骨形成不全症、大理石骨病、骨斑紋症、硬化性病変、偽関節、化膿性骨髓炎、歯周病、抗てんかん薬誘発性骨量減少、原発性および二次性副甲状腺機能亢進症、家族性副甲状腺機能亢進症候群、無重力誘発性骨量減少、男性骨粗鬆症、閉経後骨量減少、骨関節炎、腎性骨異栄養症、骨浸潤性障害、口腔骨量減少、顎骨壊死、若年性パジェット病、メロレオストーシス、代謝性骨疾患、肥満細胞症、鎌状赤血球貧血/鎌状赤血球症、臓器移植関連骨量減少、腎移植関連骨量減少、全身性エリテマトーデス、強直性脊椎炎、てんかん、若年性関節炎、サラセミア、ムコ多糖症、ファブリー病、ターナー症候群、ダウン症候群、クライنفelter症候群、ハンセン病、ペルテス病、思春期特発性側弯症、乳児期発症多臓器性炎症性疾患、ウィンチェスター症候群、メンケス病、ウィルソン病、虚血性骨疾患(レッグ・カルベ・ペルテス病、局所性移動性骨粗鬆症など)、貧血状態、ステロイドによって引き起こされる状態、グルココルチコイド誘発性骨量減少、ヘパリン誘発性骨量減少、骨髄障害、壊血病、栄養不良、カルシウム欠乏、骨粗鬆症、骨減少症、アルコール症、慢性肝疾患、閉経後状態、慢性炎症性状態、関節リウマチ、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、炎症性大腸炎、クローン病、希発月経、無月経、妊娠、真性糖尿病、甲状腺機能亢進症、甲状腺障害、副甲状腺障害、クッシング病、先端巨大症、性腺機能低下症、運動不足または非活動 (immobilization or disuse)、反射性交感神経性ジストロフィー、局所性骨粗鬆症、骨軟化症、関節置換に伴う骨量減少、HIVに伴う骨量減少、成長ホルモンの減少に伴う骨量減少、嚢胞性線維症に伴う骨量減少、化学療法に伴う骨量減少、腫瘍誘発性骨量減少、癌関連骨量減少、ホルモン遮断による骨量減少、多発性骨髄腫、薬物誘発性骨量減少、神経性食欲不振症、疾患に伴う顔面骨量減少、疾患に伴う頭蓋骨量減少、疾患に伴う顎骨量減少、疾患に伴う頭骨量減少、加齢に伴う骨量減少、加齢に伴う顔面骨量減少、加齢に伴う頭蓋骨量減少、加齢に伴う顎骨量減少、および加齢に伴う頭骨量減少、および宇宙旅行に伴う骨量減少のうちの少なくとも1つである、[54]に記載の方法。

[58] 骨関連障害が、軟骨無形成症、鎖骨頭蓋異骨症、内軟骨腫症、線維性骨異形成症、ゴーシェ病、低リン血症性くる病、マルファン症候群、多発性遺伝性外骨症、神経線維

10

20

30

40

50

腫症、骨形成不全症、大理石骨病、骨斑紋症、硬化性病変、偽関節、化膿性骨髓炎、歯周病、抗てんかん薬誘発性骨量減少、原発性および二次性副甲状腺機能亢進症、家族性副甲状腺機能亢進症候群、無重力誘発性骨量減少、男性骨粗鬆症、閉経後骨量減少、骨関節炎、腎性骨異常栄養症、骨浸潤性障害、口腔骨量減少、顎骨壊死、若年性パジェット病、メロレオストーシス、代謝性骨疾患、肥満細胞症、鎌状赤血球貧血/鎌状赤血球症、臓器移植関連骨量減少、腎移植関連骨量減少、全身性エリテマトーデス、強直性脊椎炎、てんかん、若年性関節炎、サラセミア、ムコ多糖症、ファブリー病、ターナー症候群、ダウン症候群、クラインフェルター症候群、ハンセン病、ペルテス病、思春期特発性側弯症、乳児期発症多臓器性炎症性疾患、ウィンチェスター症候群、メンケス病、ウィルソン病、虚血性骨疾患(レッグ・カルベ・ペルテス病、局所性移動性骨粗鬆症など)、貧血状態、ステロイドによって引き起こされる状態、グルココルチコイド誘発性骨量減少、ヘパリン誘発性骨量減少、骨髄障害、壊血病、栄養不良、カルシウム欠乏、骨粗鬆症、骨減少症、アルコール症、慢性肝疾患、閉経後状態、慢性炎症性状態、関節リウマチ、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、炎症性大腸炎、クローン病、希発月経、無月経、妊娠、真性糖尿病、甲状腺機能亢進症、甲状腺障害、副甲状腺障害、クッシング病、先端巨大症、性腺機能低下症、運動不足または非活動 (immobilization or disuse)、反射性交感神経性ジストロフィー、局所性骨粗鬆症、骨軟化症、関節置換に伴う骨量減少、HIVに伴う骨量減少、成長ホルモンの減少に伴う骨量減少、嚢胞性線維症に伴う骨量減少、化学療法に伴う骨量減少、腫瘍誘発性骨量減少、癌関連骨量減少、ホルモン遮断による骨量減少、多発性骨髄腫、薬物誘発性骨量減少、神経性食欲不振症、疾患に伴う顔面骨量減少、疾患に伴う頭蓋骨量減少、疾患に伴う顎骨量減少、疾患に伴う頭骨量減少、加齢に伴う骨量減少、加齢に伴う顔面骨量減少、加齢に伴う頭蓋骨量減少、加齢に伴う顎骨量減少、加齢に伴う頭骨量減少、および宇宙旅行に伴う骨量減少のうちの少なくとも1つである、[55]に記載の方法。

[59] 骨関連障害が、軟骨無形成症、鎖骨頭蓋異骨症、内軟骨腫症、線維性骨異形成症、ゴーシェ病、低リン血症性くる病、マルファン症候群、多発性遺伝性外骨症、神経線維腫症、骨形成不全症、大理石骨病、骨斑紋症、硬化性病変、偽関節、化膿性骨髓炎、歯周病、抗てんかん薬誘発性骨量減少、原発性および二次性副甲状腺機能亢進症、家族性副甲状腺機能亢進症候群、無重力誘発性骨量減少、男性骨粗鬆症、閉経後骨量減少、骨関節炎、腎性骨異常栄養症、骨浸潤性障害、口腔骨量減少、顎骨壊死、若年性パジェット病、メロレオストーシス、代謝性骨疾患、肥満細胞症、鎌状赤血球貧血/鎌状赤血球症、臓器移植関連骨量減少、腎移植関連骨量減少、全身性エリテマトーデス、強直性脊椎炎、てんかん、若年性関節炎、サラセミア、ムコ多糖症、ファブリー病、ターナー症候群、ダウン症候群、クラインフェルター症候群、ハンセン病、ペルテス病、思春期特発性側弯症、乳児期発症多臓器性炎症性疾患、ウィンチェスター症候群、メンケス病、ウィルソン病、虚血性骨疾患(レッグ・カルベ・ペルテス病、局所性移動性骨粗鬆症など)、貧血状態、ステロイドによって引き起こされる状態、グルココルチコイド誘発性骨量減少、ヘパリン誘発性骨量減少、骨髄障害、壊血病、栄養不良、カルシウム欠乏、骨粗鬆症、骨減少症、アルコール症、慢性肝疾患、閉経後状態、慢性炎症性状態、関節リウマチ、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、炎症性大腸炎、クローン病、希発月経、無月経、妊娠、真性糖尿病、甲状腺機能亢進症、甲状腺障害、副甲状腺障害、クッシング病、先端巨大症、性腺機能低下症、運動不足または非活動 (immobilization or disuse)、反射性交感神経性ジストロフィー、局所性骨粗鬆症、骨軟化症、関節置換に伴う骨量減少、HIVに伴う骨量減少、成長ホルモンの減少に伴う骨量減少、嚢胞性線維症に伴う骨量減少、化学療法に伴う骨量減少、腫瘍誘発性骨量減少、癌関連骨量減少、ホルモン遮断による骨量減少、多発性骨髄腫、薬物誘発性骨量減少、神経性食欲不振症、疾患に伴う顔面骨量減少、疾患に伴う頭蓋骨量減少、疾患に伴う顎骨量減少、疾患に伴う頭骨量減少、加齢に伴う骨量減少、加齢に伴う顔面骨量減少、加齢に伴う頭蓋骨量減少、加齢に伴う顎骨量減少、加齢に伴う頭骨量減少、および宇宙旅行に伴う骨量減少のうちの少なくとも1つである、[56]に記載の方法。

[60] 哺乳動物の骨形成、骨塩量、骨量、骨密度 (bone mineral density)、骨質、および骨強度のうちの少なくとも1つを増大させる方法であって、哺乳動物に[22]に記載の医

10

20

30

40

50

薬組成物を投与することを含む方法。

[61] 哺乳動物の骨形成、骨塩量、骨量、骨密度 (bone mineral density)、骨質、および骨強度のうちの少なくとも1つを増大させる方法であって、哺乳動物に[23]に記載の医薬組成物を投与することを含む方法。

[62] 哺乳動物の骨形成、骨塩量、骨量、骨密度 (bone mineral density)、骨質、および骨強度のうちの少なくとも1つを増大させる方法であって、哺乳動物に[51]に記載の医薬組成物を投与することを含む方法。

[63] 整形外科処置、歯科処置、インプラント手術、関節置換、骨移植、骨美容整形、および骨折治癒、癒着不能治癒、遷延癒合、顔の形成などの骨修復のうちの1つまたは複数を受けた哺乳動物の転帰を改善する方法であって、前記処置、置換、移植、手術、または修復の前に、間に、および/または後に前記哺乳動物に[22]に記載の医薬組成物を投与することを含む。

10

[64] 整形外科処置、歯科処置、インプラント手術、関節置換、骨移植、骨美容整形、および骨折治癒、癒着不能治癒、遷延癒合、顔の形成などの骨修復のうちの1つまたは複数を受けた哺乳動物の転帰を改善する方法であって、前記処置、置換、移植、手術、または修復の前に、間に、および/または後に前記哺乳動物に[23]に記載の医薬組成物を投与することを含む。

[65] 整形外科処置、歯科処置、インプラント手術、関節置換、骨移植、骨美容整形、および骨折治癒、癒着不能治癒、遷延癒合、顔の形成などの骨修復のうちの1つまたは複数を受けた哺乳動物の転帰を改善する方法であって、前記処置、置換、移植、手術、または修復の前に、間に、および/または後に前記哺乳動物に[51]に記載の医薬組成物を投与することを含む。

20

[66] Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、またはAb-24である抗体。

[67] [1]、[3]、[9]から[12]および[14]から[20]のいずれかに記載のスクレロスチン結合作用物質を含む診断用キット。

[68] [6]に記載の抗体を含む診断用キット。

[69] [21]に記載の抗体を含む診断用キット。

[70] [29]に記載の抗体を含む診断用キット。

30

[71] 配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、78、79、80、81、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、237、238、239、240、241、242、243、244、245、246、247、248、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、259、260、261、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、277、278、279、280、281、282、283、284、285、286、287、288、289、290、291、292、293、294、295、296、297、298、351、352、353、358、359、および360のうちの少なくとも1つを含むポリペプチド。

[72] Fc、PEG、アルブミン、およびトランスフェリンのうちの少なくとも1つとコンジュゲートした、[71]に記載のポリペプチド。

40

【0046】

本発明のこうした態様および他の態様は、以下の詳細な説明および添付の図面を参照すれば明らかとなろう。本明細書で開示される参考文献はすべて、それぞれが別々に組み込まれるようにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0047】

【図1】抗ヒトスクレロスチンおよび抗マウススクレロスチン抗体Ab-Aの軽鎖(図1A)(配列番号23)および重鎖(図1B)(配列番号27)の成熟型(シグナルペプチドが切除されている)アミノ酸配列を示す図である。

【図2】抗ヒトスクレロスチンおよび抗マウススクレロスチン抗体Ab-Bの軽鎖(図2A)(配

50

列番号31)および重鎖(図2B)(配列番号35)の成熟型(シグナルペプチドが切除されている)アミノ酸配列を示す図である。

【図3】抗ヒトスクレロスチンおよび抗マウススクレロスチン抗体Ab-Cの軽鎖(図3A)(配列番号15)および重鎖(図3B)(配列番号19)の成熟型(シグナルペプチドが切除されている)アミノ酸配列を示す図である。

【図4】抗ヒトスクレロスチンおよび抗マウススクレロスチン抗体Ab-Dの軽鎖(図4A)(配列番号7)および重鎖(図4B)(配列番号11)の成熟型(シグナルペプチドが切除されている)アミノ酸配列を示す図である。

【図5】媒体、PTH(1-34)、Ab-A、またはAb-Bで処置した3週間後に、2カ所の骨格部位(腰椎および脛骨骨幹端)で測定したマウスの骨密度を示す図である。

【図6】媒体、PTH(1-34)またはAb-Cで処置した2週間後に、2カ所の骨格部位(腰椎および脛骨骨幹端)で測定したマウスの骨密度を示す図である。

【図7】媒体またはAb-Dで処置した3週間後に、2カ所の骨格部位(腰椎および脛骨骨幹端)で測定したマウスの骨密度を示す図である。

【図8】ヒトスクレロスチン(配列番号1)の成熟型(シグナルペプチドが切除されている)のアミノ酸配列を示す図である。ヒトスクレロスチンの成熟型をコードするヒトスクレロスチンコード領域のヌクレオチド配列も示されている。8残基のシステインがC1からC8まで付番されている。3本のジスルフィド結合(C1-C5; C3-C7; C4-C8)によってシスチンノットが形成される。C2およびC6もジスルフィド結合を形成するが、このジスルフィドはシスチンノットの一部ではない。

【図9】ヒトスクレロスチンの基本構造の概要を示す図である。N末端アーム(第1のQからC1まで)およびC末端アーム(C8から末端のYまで)がある。これらのアームの間に、シスチンノット構造(3本のジスルフィド: C1-C5; C3-C7; C4-C8によって形成される)、ならびにループ1、ループ2、およびループ3と命名された3本のループがある。ループ1およびループ3の遠位領域がC2-C6ジスルフィドによって連結されている。潜在的トリプシン切断部位が示されている(アルギニン=Rおよびリジン=K)。潜在的AspN切断部位のいくつかが示されている(アスパラギン酸(D)残基のみが示されている)。

【図10】トリプシンまたはAspNのいずれかで消化した後におけるヒトスクレロスチンのHPLCペプチドマップを示す図である。トリプシン消化で生成したヒトスクレロスチンペプチドが示されており(T19.2、T20、T20.6、およびT21-22)、AspN消化で生成したヒトスクレロスチンペプチドも示されている(AspN14.6、AspN18.6、およびAspN22.7-23.5)。

【図11】トリプシン消化で生成した、単離されたヒトスクレロスチンのジスルフィド連結されたペプチドの配列および質量情報を示す図である。Seq. pos.=配列位置。Obs.=観測値。観測された質量はESI-LC-MS分析で測定した。

【図12】AspN消化で生成した、単離されたヒトスクレロスチンのジスルフィド連結されたペプチドの配列および質量情報を示す図である。AspN22.7-23.5ペプチドは4本のジスルフィド結合を含有している。Seq. pos.=配列位置。Obs.=観測値。観測された質量はESI-LC-MS分析で測定した。

【図13】トリプシン消化で生成した4本のヒトスクレロスチンペプチド(T19.2、T20、T20.6、およびT21-22)の線形概要図である。

【図14】AspN消化で生成した5本のヒトスクレロスチンペプチド(AspN14.6、AspN18.6、およびAspN22.7-23.5)の線形概要図である。AspN14.6 HPLCピークは、いかなるジスルフィド結合によっても連結されていない3本のペプチドで構成されている。

【図15】Biacoreに基づく「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ」から得られた共鳴単位(Ru)シグナルを示す図である。完全な成熟型ヒトスクレロスチン(Biacoreチップ上に固定化されている)へのMab結合に対する、様々なヒトスクレロスチンペプチド(溶液中)への相対Mab結合を評価した。示されているデータはAb-Aのものである。使用されたヒトスクレロスチンペプチドは、T19.2、T20、T20.6、T21-22、AspN14.6、AspN18.6、およびAspN22.7-23.5である。

【図16】Biacoreに基づく「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ

10

20

30

40

50

」から得られた共鳴単位(Ru)シグナルを示す図である。完全な成熟型ヒトスクレロスチン(Biacoreチップ上に固定化されている)へのMab結合に対する、様々なヒトスクレロスチンペプチド(溶液中)への相対Mab結合を評価した。示されているデータはAb-Bのものである。使用されたヒトスクレロスチンペプチドは、T19.2、T20、T20.6、T21-22、AspN14.6、AspN18.6、およびAspN22.7-23.5である。

【図17】Biacoreに基づく「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ」から得られた共鳴単位(Ru)シグナルを示す図である。完全な成熟型ヒトスクレロスチン(Biacoreチップ上に固定化されている)へのMab結合に対する、様々なヒトスクレロスチンペプチド(溶液中)への相対Mab結合を評価した。示されているデータはAb-Cのものである。使用されたヒトスクレロスチンペプチドは、T19.2、T20、T20.6、T21-22、AspN14.6、AspN18.6、およびAspN22.7-23.5である。

10

【図18】Biacoreに基づく「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ」から得られた共鳴単位(Ru)シグナルを示す図である。完全な成熟型ヒトスクレロスチン(Biacoreチップ上に固定化されている)へのMab結合に対する、様々なヒトスクレロスチンペプチド(溶液中)への相対Mab結合を評価した。示されているデータはAb-Dのものである。使用されたヒトスクレロスチンペプチドは、T19.2、T20、T20.6、T21-22、AspN14.6、AspN18.6、およびAspN22.7-23.5である。

【図19】ヒトスクレロスチンの2カ所のMab結合エピトープを示す図である。図19Aは、Ab-AおよびAb-Bがヒトスクレロスチン(配列番号6)に結合するためのループ2エピトープの配列を示す。図19Bは、Ab-CおよびAb-Dがヒトスクレロスチン(配列番号2~5)に結合するためのT20.6エピトープの配列、ジスルフィド結合、および概要を示す。

20

【図20】トリプシンで消化した後におけるヒトスクレロスチンのHPLCペプチドマップを示す図である。図20Aは、ヒトスクレロスチンAb-D複合体の消化を示す。図20Bは、ヒトスクレロスチン単独での消化を示す。T19.2、T20、T20.6、およびT21-22ペプチドピークが示されている。

【図21】Ab-Dがヒトスクレロスチンに結合するための「T20.6誘導体1(シスチンノット+アーム4本)」エピトープの配列、ジスルフィド結合、および概要を示す。(配列番号70~73)。

【図22】抗スクレロスチン中和Mabを同定するのに使用されたMC3T3-E1-BF骨芽細胞株化細胞石灰化アッセイの結果を示す図である。マウススクレロスチン(Sc1)は1 µg/mlで用いた。モノクローナル抗体は10および5 µg/mlで用いた。石灰化(様々な型の不溶性リン酸カルシウム)の程度は、カルシウムを測定することによって定量した。

30

【図23】抗スクレロスチン中和Mabを同定するのに使用されたMC3T3-E1-BF骨芽細胞株化細胞石灰化アッセイの結果を示す図である。ヒトスクレロスチン(Sc1)は1 µg/mlで用いた。モノクローナル抗体は8および4 µg/mlで用いた。石灰化(様々な型の不溶性リン酸カルシウム)の程度は、カルシウムを測定することによって定量した。

【図24】抗スクレロスチン中和Mabを同定するのに使用されたMC3T3-E1-BF骨芽細胞株化細胞石灰化アッセイの結果を示す図である。ヒトスクレロスチン(Sc1)は1 µg/mlで用いた。モノクローナル抗体は10 µg/mlで用いた。石灰化(様々な型の不溶性リン酸カルシウム)の程度は、カルシウムを測定することによって定量した。

40

【図25】炎症で誘導された骨量減少SCIDマウスモデルの結果を示す図である。全骨密度(図25A)、脊椎骨密度(図25B)、および大腿骨骨密度(図25C)として測定した際、Ab-A処置は、大腸炎に伴う炎症関連の骨量減少からマウスを防御した。

【発明を実施するための形態】

【0048】

本発明は、全長スクレロスチンにも結合する抗体によって認識されるエピトープを含有するヒトスクレロスチンタンパク質の領域、およびこうしたエピトープを作製および使用する方法に関する。本発明はまた、スクレロスチンまたはスクレロスチンの一部分に特異的に結合する結合作用物質(抗体など)、およびこのような結合作用物質を使用するための方法を提供する。この結合作用物質は、1種または複数のリガンドに対するヒトスクレロ

50

スチンの結合を遮断するまたは損なうのに有用である。

【0049】

組換えヒトスクレロスチン/SOSTがR&D Systems(米国ミネソタ州ミネアポリス、2006年カタログ番号1406-ST-025)から市販されている。さらに、組換えマウススクレロスチン/SOSTがR&D Systems(米国ミネソタ州ミネアポリス、2006年カタログ番号1589-ST-025)から市販されている。研究グレードのスクレロスチン結合性モノクローナル抗体がR&D Systems(米国ミネソタ州ミネアポリス、マウスモノクローナル:2006年カタログ番号MAB1406、ラットモノクローナル:2006年カタログ番号MAB1589)から市販されている。米国特許第6,395,511号および同第6,803,453号、および米国特許出願公開第20040009535号および同第20050106683号は概して、抗スクレロスチン抗体に言及している。

10

【0050】

本明細書では、ヒトスクレロスチンという用語は、配列番号1およびその対立遺伝子変異体のタンパク質を含むものとする。スクレロスチンは、スクレロスチンをコードしている遺伝子がトランスフェクトされた293T宿主細胞から、塩勾配を用いたヘパリンHPカラムを使用して宿主細胞培養液の濾過された上清を溶出することにより、精製することができる。調製および陽イオン交換クロマトグラフィーを使用したさらなる精製を実施例1および2に記載する。

【0051】

本発明の結合作用物質は、本明細書で定義される抗体であることが好ましい。「抗体」という用語は、無傷の抗体またはその結合性フラグメントを指す。抗体は、完全抗体分子(全長重鎖および/または軽鎖を有する、ポリクローナル、モノクローナル、キメラ、ヒト化、またはヒトの相当物を含む)を含んでもよく、またはその抗原結合性フラグメントを含んでもよい。抗体フラグメントには、F(ab')₂、Fab、Fab'、Fv、Fc、およびFdフラグメントが含まれ、これを、単ドメイン抗体、一本鎖抗体、マキシ抗体(maxibody)、ミニ抗体(minibody)、細胞内抗体、二価抗体(diabody)、三価抗体(triabody)、四価抗体(tetrabody)、v-NAR、およびbis-scFvに組み込むこともできる(例えば、HollingerおよびHudson、2005、Nature Biotechnology, 23, 9, 1126~1136頁を参照されたい)。また、フィブロネクチンポリペプチド一価抗体(monobody)を含めた抗体ポリペプチドは、米国特許第6,703,199号で開示されている。一本鎖ポリペプチドである別の抗体ポリペプチドは、米国特許出願公開第2005/0238646号で開示されている。

20

30

【0052】

抗体に由来する抗原結合性フラグメントは、例えば、抗体のタンパク質分解性加水分解、例えば、従来の方法による全抗体のペプシンまたはパパイン消化によって得ることができる。一例として、抗体フラグメントは、ペプシンによる抗体の酵素的切断によって作製され、F(ab')₂と称される5Sフラグメントを提供することができる。このフラグメントは、チオール還元剤を使用してさらに切断して、3.5SのFab'一価フラグメントを作製することができる。場合によっては、切断反応は、ジスルフィド結合の切断によって生じるスルフヒドリル基の保護基を使用して実施することができる。別の方法として、パパインを使用した酵素的切断により、2種の一価FabフラグメントおよびFcフラグメントが直接的に生じる。こうした方法は、例えば、Goldenbergの米国特許第4,331,647号;Nisonoffら、Arch. Biochem. Biophys. 89:230、1960;Porter、Biochem. J. 73:119、1959;Edelmanら、Methods in Enzymology 1:422 (Academic Press 1967);およびAndrews, S.M.およびTitus, J.A. Current Protocols in Immunology (Coligan J.E.ら(編)), John Wiley & Sons、New York (2003)、2.8.1~2.8.10および2.10A.1~2.10A.5頁に記載されている。フラグメントが、無傷の抗体によって認識される抗原に結合する限り、重鎖を分離して一価の軽鎖重鎖フラグメント(Fd)を形成するなど抗体を切断するための他の方法、フラグメントのさらなる切断、または他の酵素的、化学的、もしくは遺伝的技法を使用してもよい。

40

【0053】

抗体フラグメントはまた、合成または遺伝子改変された任意のタンパク質であってもよい。例えば、抗体フラグメントには、軽鎖可変領域からなる単離されたフラグメント、重

50

鎖および軽鎖の可変領域からなる「Fv」フラグメント、軽鎖および重鎖可変領域がペプチドリンカーによって結合している組換え一本鎖ポリペプチド分子(scFvタンパク質)が含まれる。

【0054】

抗体フラグメントの別の型は、抗体の1種または複数の相補性決定領域(CDR)を含むペプチドである。CDR(「最小認識単位」または「超可変領域」とも称される)は、対象のCDRをコードしているポリヌクレオチドを構築することによって得ることができる。このようなポリヌクレオチドは、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応を使用して、抗体産生細胞のmRNAを鋳型として用い可変領域を合成することによって調製される(例えば、Larrickら、Method s: A Companion to Methods in Enzymology 2:106、1991;Courtenay-Luck、「Genetic Ma
10
nipulation of Monoclonal Antibodies」、Monoclonal Antibodies: Production, Engine
ering and Clinical Application、Ritterら(編)、166頁(Cambridge University Press 1
995);およびWardら、「Genetic Manipulation and Expression of Antibodies」、Monocl
onal Antibodies: Principles and Applications、Birchら(編)、137頁(Wiley-Liss, Inc
、1995)を参照されたい)。

【0055】

したがって、一実施形態では、結合作用物質は、本明細書に記載の少なくとも1種のCDRを含む。結合作用物質は、本明細書に記載の少なくとも2、3、4、5、または6種のCDRを含んでもよい。結合作用物質は、本明細書に記載の抗体の少なくとも1種の可変領域ドメインをさらに含んでもよい。可変領域ドメインは、任意のサイズまたはアミノ酸組成であってよく、通常、ヒトスクレロスチンへの結合を司る少なくとも1種のCDR配列、例えば、本明細書に具体的に記載されているCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、および/または軽鎖CDRを含み、このCDRは、1種または複数のフレームワーク配列に隣接しているかまたはそれとインフ
20
レームにある。おおまかに言えば、可変(V)領域ドメインは、イムノグロブリン重(V_H)鎖および/または軽(V_L)鎖可変ドメインの任意の適切な配列であってよい。したがって、例えば、V領域ドメインは、単量体であってよく、以下に記載の通り、少なくとも $1 \times 10^{-7} M$ に等しい、またはそれ以下の親和性でヒトスクレロスチンに独立に結合することができる V_H または V_L ドメインであってもよい。あるいは、V領域ドメインは、二量体であってよく、 V_H-V_H 、 V_H-V_L 、または V_L-V_L 二量体を含むしてもよい。V領域二量体は、非共有結合して
30
いてよい少なくとも1種の V_H 鎖および少なくとも1種の V_L 鎖を含む(以下、 F_v と称される)。必要に応じて、これらの鎖は、直接的に、例えば、2つの可変ドメインの間のジスルフィド結合を介して、またはリンカー、例えばペプチドリンカーを介して共有結合して、一本鎖Fv(scFv)を形成してもよい。

【0056】

可変領域ドメインは、自然に存在する任意の可変ドメインまたは改変されたその相当物であってよい。改変された相当物とは、組換えDNA工学的技法を使用して作製された可変領域ドメインを意味する。このような改変された相当物には、例えば、特異的な抗体のアミノ酸配列への挿入、その欠失、または変化によって特異的な抗体可変領域から作製されたものが含まれる。特定の例には、少なくとも1種のCDR、ならびに場合によっては第1の抗体からの1種または複数のフレームワークアミノ酸および第2の抗体からの可変領域ド
40
メインの残りを含有する改変された可変領域ドメインが含まれる。

【0057】

可変領域ドメインは、C末端アミノ酸で少なくとも1種の他の抗体ドメインまたはそのフラグメントに共有結合していてもよい。したがって、例えば、可変領域ドメインに存在する V_H ドメインをイムノグロブリン $CH1$ ドメインまたはそのフラグメントに連結してよい。同様に、 V_L ドメインを C_K ドメインまたはそのフラグメントに連結してもよい。このようにして、例えば、この抗体は、それぞれ $CH1$ および C_K ドメインにそのC末端で共有結合している会合した V_H および V_L ドメインを抗原結合性ドメインが含有するFabフラグメントであ
50
ってよい。 $CH1$ ドメインは、例えば、Fab'フラグメントに存在するヒンジ領域またはヒンジ領域ドメインの一部を提供するか、または抗体 $CH2$ および $CH3$ ドメインなどのさらなるド

メインを提供するようにさらなるアミノ酸で延長してもよい。

【0058】

本明細書に記載の通り、結合作用物質は、こうしたCDRのうちの少なくとも1つを含む。例えば、1種または複数のCDRを、既知の抗体フレームワーク領域(IgG1、IgG2など)に組み込むか、またはその半減期を延長するために適切な媒体とコンジュゲートしてもよい。適当な媒体には、それだけには限定されないが、Fc、ポリエチレングリコール(PEG)、アルブミン、トランスフェリンなどが含まれる。こうした媒体および他の適当な媒体は、当技術分野で知られている。コンジュゲートしたこのようなCDRペプチドは、単量体、二量体、四量体、または他の型であってよい。一実施形態では、1種または複数の水溶性ポリマーが1つまたは複数の特異的位置、例えば、結合作用物質のアミノ末端に結合している。

10

【0059】

ある好ましい実施形態では、結合作用物質は、それだけには限定されないが、ポリエチレングリコール、ポリオキシエチレングリコール、またはポリプロピレングリコールを含めた1種または複数の水溶性ポリマー結合部を含む。例えば、米国特許第4,640,835号、同第4,496,689号、同第4,301,144号、同第4,670,417号、同第4,791,192号、および同第4,179,337号を参照されたい。ある実施形態では、誘導体結合作用物質は、モノメトキシ-ポリエチレングリコール、デキストラン、セルロースまたは他の糖鎖に基づくポリマー、ポリ-(N-ビニルピロリドン)-ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール(例えば、グリセリン)、およびポリビニルアルコール、ならびにこのようなポリマーの混合物のうちの1つまたは複数を含む。ある実施形態では、1種または複数の水溶性ポリマーは、1つまたは複数の側鎖にランダムに結合している。ある実施形態では、PEGは、抗体などの結合作用物質の治療能力を改善するように作用することができる。このようないくつかの方法は、例えば、任意の目的で参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6,133,426号で検討されている。

20

【0060】

本発明の結合作用物質は、結合作用物質が結合特異性を保持する限り、少なくとも1種のアミノ酸置換を有してよいことが理解されよう。したがって、結合作用物質構造に対する改変は、本発明の範囲内に包含される。これらは、結合作用物質のスクレロスチン結合可能性を損なわない、保存的または非保存的であってよいアミノ酸置換を含んでよい。保存的アミノ酸置換は、通常、生物系における合成によってではなく化学的ペプチド合成によって組み込まれた、自然に存在しないアミノ酸残基を包含してよい。これらには、ペプチド模倣体および他の反転型または逆方向型のアミノ酸部分が含まれる。保存的アミノ酸置換は、その位置でのアミノ酸残基の極性または電荷に対する影響がほとんどまたは全くないような、標準の残基による自然のアミノ酸残基の置換を含んでもよい。

30

【0061】

非保存的置換は、アミノ酸またはアミノ酸模倣体のあるクラスのメンバーを、異なる物理的性質(例えば、サイズ、極性、疎水性、電荷)を有する別のクラスのメンバーと交換することを含んでよい。このような置換される残基を、非ヒト抗体と相同であるヒト抗体の領域に、またはその分子の非相同領域に導入してよい。

40

【0062】

さらに、当業者であれば、所望の各アミノ酸残基に単一アミノ酸置換を含む試験変異体を作製することもできる。次いで、この変異体は、当業者に知られている活性アッセイを使用してスクリーニングすることができる。このような変異体は、適当な変異体についての情報を収集するのに使用できるはずである。例えば、特定のアミノ酸残基への変化により活性が損なわれ、望ましくなく低下し、または不適当となることが発見された場合、このような変化を有する変異体は回避してもよい。換言すれば、当業者であれば、このような常用の実験から収集された情報に基づき、単独のまたは他の突然変異と組み合わせたさらなる置換を回避すべきであるアミノ酸を容易に判定することができる。

【0063】

50

当業者であれば、周知の技法を使用して本明細書に記載されるポリペプチドの適当な変異体を判定できよう。ある実施形態では、当業者であれば、活性にとって重要ではないと考えられる領域を標的とすることにより活性を損なわずに変化し得る分子の適当な範囲を同定することもできる。ある実施形態では、類似のポリペプチドの間で保存されている分子の残基および一部分を同定することができる。ある実施形態では、生物活性にとってまたは構造にとって重要であり得る範囲でさえ、生物活性を損なわずに、またはポリペプチド構造に悪影響を及ぼさずに保存的アミノ酸置換に供してもよい。

【0064】

さらに、当業者であれば、活性または構造にとって重要である類似のポリペプチドにおける残基を同定する構造機能研究を検討することができる。このような比較を考慮して、類似のタンパク質における活性または構造にとって重要であるアミノ酸残基に相当する、タンパク質におけるアミノ酸残基の重要性を予測することができる。当業者であれば、このような予測された重要なアミノ酸残基からの、化学的に類似したアミノ酸置換を選ぶこともできる。

【0065】

当業者であれば、三次元構造およびアミノ酸配列を類似のポリペプチドにおけるその構造に関して分析することもできる。当業者であれば、このような情報を考慮して、抗体のアミノ酸残基のアライメントをその三次元構造に関して予測することもできる。ある実施形態では、当業者であれば、タンパク質の表面上にあると予測されるアミノ酸残基は、他の分子との重要な相互作用に関連し得るので、このような残基に対する根本的な変化を起こさないことを選ぶこともできる。

【0066】

いくつかの科学出版物で二次構造の予測に取り組んでいる。Moult J., *Curr. Op. in Biotech.*, 7(4):422~427頁(1996); Chouら, *Biochemistry*, 13(2):222~245頁(1974); Chouら, *Biochemistry*, 113(2):211~222頁(1974); Chouら, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 47:45~148頁(1978); Chouら, *Ann. Rev. Biochem.*, 47:251~276頁; および Chouら, *Biophys. J.*, 26:367~384頁(1979)を参照されたい。さらに、コンピュータプログラムが、二次構造を予測することを支援するのに現在利用可能である。二次構造を予測する一方法は、ホモロジーモデリングに基づく。例えば、30%を超える配列同一性または40%を超える類似性を有する2つのポリペプチドまたはタンパク質は、類似の構造トポロジーを有することが多い。タンパク質構造データベース(PDB)の最近の成長は、ポリペプチドまたはタンパク質の構造内の折り畳みの潜在的な数を含めた二次構造の予測可能性の増大をもたらしている。Holmら, *Nucl. Acid. Res.*, 27(1):244~247頁(1999)を参照されたい。所与のポリペプチドまたはタンパク質に折り畳みが限定された数存在し、決定的な数の構造が解明されると、構造予測が劇的により正確になることが示唆されている(Brennerら, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 7(3):369-376 (1997))。

【0067】

二次構造を予測する追加の方法には、「スレッディング」(Jones, D., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 7(3):377~87頁(1997); Sipplら, *Structure*, 4(1):15~19頁(1996))、「プロファイル解析」(Bowieら, *Science*, 253:164~170頁(1991); Gribskovら, *Meth. Enzym.*, 183:146~159頁(1990); Gribskovら, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 84(13):4355~4358頁(1987))、および「進化的連関(evolutionary linkage)」(Holm, 前掲(1999)およびBrenner, 前掲(1997)を参照されたい)が含まれる。

【0068】

ある実施形態では、結合作用物質の変異体には、親ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して糖鎖付加部位の数および/または型が変更されている糖鎖付加変異体が含まれる。ある実施形態では、この変異体は、天然タンパク質よりも多いまたは少ない数のN結合型糖鎖付加部位を含む。N結合型糖鎖付加部位は、配列: Asn-X-SerまたはAsn-X-Thr(配列中、Xで示されるアミノ酸残基は、プロリンを除く任意のアミノ酸残基であってよい)によって特徴づけられる。この配列を作製するためのアミノ酸残基の置換により、N結合型糖鎖の

付加のための新たな潜在的部位が得られる。あるいは、この配列を除去する置換により、既存のN結合型糖鎖が取り除かれる。1つまたは複数のN結合型糖鎖付加部位(通常、自然に存在するもの)が除去され、また1つまたは複数の新たなN結合型部位が作製される、N結合型糖鎖の再配列も提供される。好ましい追加の抗体変異体には、親アミノ酸配列と比較して、1つまたは複数のシステイン残基が欠失しているか、またはこの残基で別のアミノ酸(例えば、セリン)が置換されているシステイン変異体が含まれる。システイン変異体は、不溶性の封入体の単離後など、抗体を、生物活性を有する高次構造に再び折り畳まなければならない場合に有用であり得る。システイン変異体は通常、天然タンパク質よりもシステイン残基が少なく、通常、不對システインに起因する相互作用を最小限に抑える偶数を有する。

10

【0069】

所望のアミノ酸置換(保存的であれ、非保存的であれ)は、このような置換が望ましいときに当業者によって決定することができる。ある実施形態では、アミノ酸置換を使用して、スクレロスチンに対する抗体の重要な残基を同定するか、または本明細書に記載のスクレロスチンに対する抗体の親和性を増大または低下させることができる。

【0070】

ある実施形態によれば、好ましいアミノ酸置換は (1)タンパク質分解の受けやすさを低減する、(2)酸化の受けやすさを低減する、(3)形成するタンパク質複合体に対する結合親和性を変更する、(4)複数の結合親和性を変更する、および/または(4)他の生理化学的または機能的性質をこのようなポリペプチドに対して付与するか、またはこの性質を改変するものである。ある実施形態によれば、単一または多重アミノ酸置換(ある実施形態では、保存的アミノ酸置換)は、自然に存在する配列中で(ある実施形態では、分子間接触を形成する1種(複数)のドメインの外側にあるポリペプチドの一部分において)行ってよい。ある実施形態では、保存的アミノ酸置換は通常、親配列の構造的特徴を実質的に変化させることはできない(例えば、置換アミノ酸は、親配列に存在するらせんを切断するか、または親配列を特徴づける他の型の二次構造を破壊する傾向にあるべきでない)。当技術分野で認められているポリペプチド二次構造および三次構造の例は、参照により本明細書に組み込まれる、Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton編, W. H. Freeman and Company, New York (1984)); Introduction to Protein Structure (C. BrandenおよびJ. Tooze編, Garland Publishing, New York, N.Y. (1991));およびThorntonら Nature 354:105 (1991)に記載されている。

20

30

【0071】

ある実施形態では、本発明の結合作用物質は、ポリマー、脂質、または他の部分と化学的に結合してよい。

【0072】

結合作用物質は、生体適合性フレームワーク構造に組み込まれた、本明細書に記載のCDRのうちの少なくとも1つを含んでよい。一例を挙げれば、生体適合性フレームワーク構造は、局所表面領域にある、抗原に結合するアミノ酸の1つまたは複数の配列(例えば、CDR、可変領域など)を表示することができる、高次構造的に安定である構造支持体またはフレームワークまたは骨組を形成するのに十分なポリペプチドまたはその一部分を含む。このような構造は、自然に存在するポリペプチドまたはポリペプチド「折り畳み」(構造モチーフ)とすることができ、または自然に存在するポリペプチドまたは折り畳みに関するアミノ酸の付加、欠失、または置換などの1つまたは複数の改変を有し得る。こうした骨組は、ヒト、他の哺乳動物、他の脊椎動物、無脊椎動物、植物、細菌、またはウイルスなど、任意の種の(または複数種の)ポリペプチドに由来し得る。

40

【0073】

通常、生体適合性フレームワーク構造は、イムノグロブリンドメイン以外のタンパク質骨組または骨格に基づく。例えば、フィブロネクチン、アンキリン、リボカリン、ネオカルチノスタチン、シトクロムb、CP1ジンクフィンガー、PST1、コイルドコイル、LACI-D1、Zドメイン、およびテンダミスタット(tendramistat)ドメインに基づくものを使用して

50

もよい(例えば、NygrenおよびUhlen、1997、Current Opinion in Structural Biology, 7, 463~469頁を参照されたい)。

【0074】

好ましい実施形態では、本発明の結合作用物質には、本明細書に記載のヒト化抗体が含まれることがわかるだろう。本明細書に記載のものなど、ヒト化抗体は、当業者に知られている技法を使用して作製することができる(Zhang, W.ら、Molecular Immunology, 42(12):1445~1451頁、2005; Hwang Wら、Methods, 36(1):35~42頁、2005; Dall'Acqua WFら、Methods 36(1):43~60頁、2005; およびClark, M., Immunology Today, 21(8):397~402頁、2000)。

【0075】

さらに、当業者であれば、適当な結合作用物質には、本明細書で具体的に開示される、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3のうちの1つまたは複数など、こうした抗体の一部分が含まれることがわかるだろう。CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3の領域のうちの少なくとも1つは、結合作用物質が、置換されていないCDRの結合特異性を保持する限り、少なくとも1つのアミノ酸置換を有してよい。結合作用物質の非CDR部分は、非タンパク質分子であってよく、結合作用物質は、本明細書で開示される抗体がスクレロスチンに結合することを交差阻止し、かつ/またはスクレロスチンを中和する。結合作用物質の非CDR部分は、非タンパク質分子であってよく、結合作用物質は、「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ」で抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つによって示されるものと類似するヒトスクレロスチンペプチドへの結合パターンを示し、かつ/またはスクレロスチンを中和する。結合作用物質の非CDR部分は、アミノ酸で構成されていてよく、結合作用物質は、組換え結合タンパク質または合成ペプチドであり、組換え結合タンパク質は、本明細書で開示される抗体がスクレロスチンに結合することを交差阻止し、かつ/またはスクレロスチンを中和する。結合作用物質の非CDR部分は、アミノ酸で構成されていてよく、結合作用物質は、組換え結合タンパク質であり、組換え結合タンパク質は、ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ(以下に記載されている)で抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つによって示されるものと類似するヒトスクレロスチンペプチドへの結合パターンを示し、かつ/またはスクレロスチンを中和する。

【0076】

抗体は、上記の通りCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3のうちの1つまたは複数を含む場合、こうした配列をコードしているDNAを含有する宿主細胞からの発現によって得ることができる。各CDR配列をコードしているDNAは、必要に応じて、オリゴヌクレオチド合成技法、部位特異的変異誘発、およびポリメラーゼ連鎖反応(PCR)技法を使用して、CDRのアミノ酸配列に基づいて決定し、任意の所望の抗体可変領域フレームワークおよび定常領域のDNA配列と一緒に合成してもよい。可変領域フレームワークおよび定常領域をコードしているDNAは、当業者にGenBank(登録商標)などの遺伝子配列データベースから広く利用可能である。上記CDRはそれぞれ通常、カバット付番方式によれば、可変領域フレームワークの重鎖の31~35位(CDR-H1)、50~65位(CDR-H2)、および95~102位(CDR-H3)ならびに軽鎖の24~34位(CDR-L1)、50~56位(CDR-L2)、および89~97位(CDR-L3)に位置する(Kabatら、1987 Sequences of Proteins of Immunological Interest、米国保健社会福祉省、NIH、米国)。

【0077】

本発明の抗体またはその断片をコードしているDNAは、合成する場合は、いくつかの既知の発現ベクターを使用して、核酸の切り出し、ライゲーション、形質転換、およびトランスフェクションのための種々の周知の操作のいずれかに従って増殖および発現させるこ

10

20

30

40

50

とができる。したがって、ある実施形態では、抗体フラグメントの発現は、好ましくは、大腸菌(*Escherichia coli*)などの原核生物宿主中で行われる(例えば、Pluckthunら、1989 *Methods Enzymol.* 178:497~515頁を参照されたい)。他のある実施形態では、抗体またはその断片の発現は、好ましくは、酵母(例えば、出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、分裂酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、およびピキアパストリス(*Pichia pastoris*))、動物細胞(哺乳動物細胞を含む)、または植物細胞を含めた真核生物の宿主細胞中で行われる。適当な動物細胞の例には、それだけには限定されないが、骨髓腫(マウスNSO系統など)、COS、CHO、またはハイブリドーマ細胞が含まれる。植物細胞の例には、タバコ、トウモロコシ、ダイズ、およびイネ細胞が含まれる。

【0078】

抗体可変領域および/または定常領域をコードしているDNAを含有する1種または複数の複製可能な発現ベクターを調製し、使用して、抗体産生が起こると思われる、適切な細胞系、例えば、マウスNSO系統などの非産生性骨髓腫細胞系、または大腸菌などの細菌を形質転換することもできる。効率的な転写および翻訳を得るために、各ベクター中のDNA配列には、可変ドメイン配列に作動可能に連結した適切な調節配列、特にプロモーターおよびリーダー配列が含まれるべきである。このように抗体を産生するための特定の方法は通常、周知であり、常法に従って使用される。例えば、基本的な分子生物学的操作は、Maniatisらによって記載されている(*Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1989; Maniatisら、3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, (2001)も参照されたい)。DNAシーケンシングは、Sanger
ら(*PNAS* 74:5463, (1977))およびAmersham International plcシーケンシングハンドブックに記載の通り実施することができ、部位特異的変異誘発は、当技術分野で知られている方法に従って実施することができる(Kramerら、*Nucleic Acids Res.* 12:9441, (1984); Kunkel、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488~92頁(1985); Kunkelら、*Methods in Enzymol.* 154:367~82頁(1987); Anglian Biotechnology Ltdハンドブック)。さらに、数多くの刊行物に、DNAの操作、発現ベクターの作製、および形質転換、および適切な細胞の培養による抗体の調製に適した技法を記載している(Mountain AおよびAdair, J R、*Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* (Tombs, M P編, 10, Chapter 1, 1992, Intercept, Andover, UK) ; 「*Current Protocols in Molecular Biology*」, 1999, F.M. Ausubel (編), Wiley Interscience, New York)。

【0079】

上記CDRのうちの1つまたは複数を含む本発明による抗体の親和性を改善することは、望ましい場合、CDRを維持すること(Yangら、*J. Mol. Biol.*, 254, 392~403頁、1995)、鎖シャフリング(chain shuffling)(Marksら、*Bio/Technology*, 10, 779~783頁、1992)、大腸菌の変異系統の使用(Lowら、*J. Mol. Biol.*, 250, 350~368頁、1996)、DNAシャフリング(Pattenら、*Curr. Opin. Biotechnol.*, 8, 724~733頁、1997)、ファージディスプレイ(Thompsonら、*J. Mol. Biol.*, 256, 7~88頁、1996)、およびセクシャルPCR(sexual PCR)(Cramerら、*Nature*, 391, 288~291頁、1998)を含めたいくつかのアフィニティマチュレーションプロトコールによって得ることができる。アフィニティマチュレーションのこうした方法はすべて、Vaughanら(*Nature Biotechnology*, 16, 535~539頁、1998)によって検討されている。

【0080】

本発明による他の抗体は、本明細書に記載され当技術分野で知られている従来の免疫化および細胞融合操作によって得ることができる。本発明のモノクローナル抗体は、種々の既知の技法を使用して作製してもよい。通常、特異的な抗原に結合するモノクローナル抗体は、当業者に知られている方法によって得ることができる(例えば、Kohlerら、*Nature* 256:495頁、1975; Coliganら(編)、*Current Protocols in Immunology*, 1:2.5.12.6.7 (John Wiley & Sons 1991); 米国特許第RE32,011号、同第4,902,614号、同第4,543,439号、および同第4,411,993号; *Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses*, Plenum Press, Kennett, McKearn, and Bechtol (編) (1980); および

Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow and Lane (編), Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988); Picksleyら、「Production of monoclonal antibodies against proteins expressed in *E. coli*」, DNA Cloning 2: Expression Systems, 2nd Edition, Gloverら(編), 93頁(Oxford University Press 1995)を参照されたい)。抗体フラグメントは、タンパク質分解性消化、または場合によっては、タンパク質分解性消化(例えば、パパンまたはペプシンを使用)、続いてジスルフィド結合の軽度の減少およびアルキル化など、任意の適当な標準的技法を使用して、その抗体から得てもよい。あるいは、このようなフラグメントは、本明細書に記載の組換え遺伝子工学技法によって作製してもよい。

【0081】

モノクローナル抗体は、当技術分野で知られており本明細書に記載されている方法に従って、動物、例えば、ラット、ハムスター、ウサギ、または好ましくは、例えば、当技術分野で知られているトランスジェニックまたはノックアウトを含めたマウスに、配列番号1のヒトスクレロスチンまたはその断片を含む免疫原を注射することによって得ることができる。特異的な抗体産物の存在は、最初の注射後および/または追加免疫の注射の後に、血清試料を得、当技術分野で知られており本明細書に記載されているいくつかの免疫検出方法のうちのいずれか1つを使用して、ヒトスクレロスチンまたはペプチドに結合する抗体の存在を検出することによってモニタリングしてよい。所望の抗体を産生する動物から、リンパ球、最も一般的には脾臓またはリンパ節由来の細胞を取り出してBリンパ球を得る。次いで、Bリンパ球を、薬物で感作された骨髓腫細胞融合パートナー、好ましくは、免疫された動物と同系であり、場合によっては、他の望ましい特性(例えば、内在性Ig遺伝子産物を発現できないこと、例えば、P3X63-Ag8.653(ATCC番号CRL1580); NS0、SP20)を有するパートナーと融合して、不死の真核細胞系統であるハイブリドーマを産生する。リンパ様(例えば、脾臓)細胞および骨髓腫細胞は、ポリエチレングリコールまたは非イオン性界面活性剤などの膜融合促進物質と数分間混合し、次いで、融合していない骨髓腫細胞ではなくハイブリドーマ細胞の増殖を支援する選択培地に低密度で播種して培養してもよい。好ましい選抜培地はHAT(ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジン)である。十分な時間、通常約1~2週間が経過してから細胞のコロニーを観察する。単一コロニーを単離し、当技術分野で知られており本明細書に記載されている種々のイムノアッセイのうちのいずれか1つを使用して、細胞によって産生された抗体をヒトスクレロスチンに対する結合活性について試験してよい。ハイブリドーマをクローニングし(例えば、限界希釈クローニングによって、または軟寒天ブランク単離によって)、スクレロスチンに特異的な抗体を産生する陽性クローンを選択し、培養する。ハイブリドーマ培養物由来のモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ培養物の上清から単離してよい。マウスモノクローナル抗体を産生するための代替方法は、ハイブリドーマ細胞を同系のマウス、例えば、モノクローナル抗体を含有する腹水の形成を促進するように処置された(例えば、プリスタンで初回刺激を受けた)マウスの腹腔に注射することである。モノクローナル抗体は、種々の確立した技法によって単離し、精製することができる。このような単離技法には、Protein-Aセファロースを用いたアフィニティークロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、およびイオン交換クロマトグラフィーが含まれる(例えば、Coligan 2.7.1~2.7.12頁および2.9.1~2.9.3頁; Bainesら、「Purification of Immunoglobulin G (IgG)」, Methods in Molecular Biology, Vol. 10, 79~104頁(The Humana Press, Inc. 1992)を参照されたい)。モノクローナル抗体は、抗体の特定の性質(例えば、重鎖または軽鎖アイソタイプ、結合特異性など)に基づいて選択された適切なリガンドを使用したアフィニティークロマトグラフィーによって精製してよい。固体支持体に固定化された適当なリガンドの例には、プロテインA、Gタンパク質、抗定常領域(軽鎖または重鎖)抗体、抗イディオタイプ抗体、およびTGF- β 結合タンパク質、またはそのフラグメントもしくは変異体が含まれる。

【0082】

本発明の抗体は、ヒトモノクローナル抗体であってもよい。ヒトモノクローナル抗体は、当業者であれば精通しているいくつかの技法によって作製してもよい。このような方法

には、それだけには限定されないが、ヒト末梢血細胞(例えば、Bリンパ球を含有する)のエプスタイン・バーウイルス(EBV)による形質転換、ヒトB細胞のin vitroでの免疫化、挿入されたヒト免疫グロブリン遺伝子を運ぶ免疫トランスジェニックマウス由来の脾臓細胞の融合、ヒト免疫グロブリンV領域ファージライブラリーからの単離、または当技術分野で知られており本明細書での開示に基づく他の操作が含まれる。例えば、ヒトモノクローナル抗体は、抗原のチャレンジに応答して特異的なヒト抗体を産生するように改変されたトランスジェニックマウスから得ることができる。トランスジェニックマウスからヒト抗体を得るための方法は、例えば、Greenら、Nature Genet. 7:13頁、1994; Lonbergら、Nature 368:856頁、1994; Taylorら、Int. Immun. 6:579頁、1994; 米国特許第5,877,397号; Bruggemannら、1997 Curr. Opin. Biotechnol. 8:455~58頁; Jakobovitsら、1995 Ann. N. Y. Acad. Sci. 764:525~35頁に記載されている。この技法では、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子座のエLEMENTは、内在性重鎖および軽鎖遺伝子座の標的破壊を含む胚幹細胞系統に由来するマウスの系統に導入される(Bruggemannら、Curr. Opin. Biotechnol. 8:455~58頁(1997)も参照されたい)。例えば、ヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、ミニ遺伝子構築物、または酵母人工染色体上の導入遺伝子座であってよく、これは、マウスリンパ組織におけるB細胞特異的なDNA再配列および超変異を起こす。ヒトモノクローナル抗体は、次いでスクレロスチンに特異的なヒト抗体を産生し得るトランスジェニックマウスを免疫することによって得ることができる。免疫されたトランスジェニックマウスのリンパ球を使用して、本明細書に記載の方法に従ってヒト抗体を分泌するハイブリドーマを産生することができる。ヒト抗体を含有するポリクローナル血清は、免疫された動物の血液から得ることもできる。

【0083】

本発明のヒト抗体を産生するための別の方法には、EBV形質転換によりヒト末梢血細胞を不死化することが含まれる。例えば、米国特許第4,464,456号を参照されたい。スクレロスチンに特異的に結合するモノクローナル抗体を産生するこのような不死化B細胞系統(またはリンパ芽球腫細胞系)は、本明細書で示される免疫検出法、例えばELISAによって同定し、次いで、標準的なクローニング技法によって単離することができる。抗スクレロスチン抗体を産生するリンパ芽球腫細胞系の安定性は、当技術分野で知られている方法に従って、形質転換細胞系をマウス骨髄腫と融合してマウスヒト雑種細胞系統を産生することによって改善され得る(例えば、Glaskyら、Hybridoma 8:377~89頁(1989)を参照されたい)。ヒトモノクローナル抗体を作製するさらにまた別の方法は、ヒト脾臓B細胞をヒトスクレロスチンで初回刺激し、続いて初回刺激を受けたB細胞をヘテロ雑種融合パートナーと融合することを含むin vitroでの免疫化である。例えば、Boernerら、1991 J. Immunol. 147:86~95頁を参照されたい。

【0084】

ある実施形態では、抗ヒトスクレロスチン抗体を産生しているB細胞を選択し、当技術分野で知られており(W092/02551; 米国特許第5,627,052号; Babcookら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7843~48頁(1996))本明細書に記載されている分子生物学的技法に従って、軽鎖および重鎖可変部をB細胞からクローニングする。免疫された動物由来のB細胞は、スクレロスチンに特異的に結合する抗体を産生している細胞を選択することにより脾臓、リンパ節、または末梢血試料からによって単離してよい。B細胞は、ヒトから、例えば、末梢血試料から単離してもよい。所望の特異性を有する抗体を産生している単一B細胞を検出するための方法は、当技術分野でよく知られており、例えば、ブランク形成、蛍光活性化細胞分取、in vitroでの刺激、続く特異的な抗体の検出などによるものである。特異的な抗体産生B細胞を選択するための方法には、例えば、ヒトスクレロスチンを含有する軟寒天におけるB細胞の単細胞懸濁液を調製することが含まれる。B細胞によって産生された特異的な抗体が抗原に結合した結果、免疫沈降物として見ることもできる複合体が形成される。所望の抗体を産生するB細胞を選択した後、当技術分野で知られており本明細書に記載されている方法に従って特異的な抗体遺伝子をDNAまたはmRNAを単離し、増幅することによってクローニングすることもできる。

【0085】

本発明の抗体を得るための追加の方法は、ファージディスプレイによるものである。例えば、Winterら、1994 Annu. Rev. Immunol. 12:433～55頁；Burtonら、1994 Adv. Immunol. 57:191～280頁を参照されたい。ヒトまたはマウスイムノグロブリン可変領域遺伝子コンビナトリアルライブラリーは、TGF- β 結合タンパク質またはその変異体もしくは断片に特異的に結合するIgフラグメント(Fab、Fv、sFv、またはその多量体)を選択するようにスクリーニングすることができるファージベクター中で作製することができる。例えば、米国特許第5,223,409号；Huseら、1989 Science 246:1275-81頁；Sastryら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:5728～32頁(1989)；Alting-Meesら、Strategies in Molecular Biology 3:1～9頁(1990)；Kangら、1991 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4363～66頁；Hoogenboomら、1992 J. Molec. Biol. 227:381～388頁；Schlebuschら、1997 Hybridoma 16:47～52頁およびそこに引用されている参考文献を参照されたい。例えば、Ig可変領域フラグメントをコードしている複数のポリヌクレオチド配列を含有するライブラリーを、M13などの繊維状バクテリオファージまたはその変異体のゲノム中に、ファージコートタンパク質をコードしている配列とインフレームで挿入してもよい。融合タンパク質は、コートタンパク質と軽鎖可変領域ドメインおよび/または重鎖可変領域ドメインとの融合物であってよい。ある実施形態によれば、イムノグロブリンFabフラグメントをファージ粒子上に提示することもできる(例えば、米国特許第5,698,426号を参照されたい)。

【0086】

重鎖および軽鎖イムノグロブリンcDNA発現ライブラリーは、例えば、 λ ImmunoZap(商標)(H)および λ ImmunoZap(商標)(L)ベクター(Stratagene、La Jolla、カリフォルニア州)を使用して λ ファージ中で調製することもできる。簡潔に述べると、mRNAをB細胞集団から単離し、 λ ImmunoZap(H)および λ ImmunoZap(L)ベクター中で重鎖および軽鎖イムノグロブリンcDNA発現ライブラリーを作製するために使用する。こうしたベクターを個々にスクリーニングするかまたは共発現させて、Fabフラグメントまたは抗体を形成してもよい(前掲のHuseら参照；前掲のSastryらも参照)。続いて、陽性ブランクを、モノクローナル抗体フラグメントの大腸菌からの高レベル発現を可能にする非溶菌性プラスミドに変換してもよい。

【0087】

一実施形態では、ハイブリドーマにおいて、対象のモノクローナル抗体を発現する遺伝子の可変領域はヌクレオチドプライマーを使用して増幅される。こうしたプライマーは、当業者によって合成してもよく、または市販の供給源から購入してもよい(例えば、中でも V_{Ha} 、 V_{Hb} 、 V_{Hc} 、 V_{Hd} 、 C_{H1} 、 V_L 、および C_L 領域用のプライマーを含め、マウスおよびヒト可変領域用のプライマーを販売するStratagene(La Jolla、カリフォルニア州)参照されたい)。こうしたプライマーを使用して重鎖または軽鎖可変領域を増幅することができ、次いで、これらの領域をそれぞれImmunoZAP(商標)HまたはImmunoZAP(商標)L(Stratagene)などのベクター中に挿入することができる。次いで、こうしたベクターは、大腸菌、酵母、または哺乳動物に基づく系に導入して発現させることができる。 V_H ドメインと V_L ドメインの融合物を含有する大量の単鎖タンパク質は、こうした方法を使用して産生することができる(Birdら、Science 242:423-426、1988を参照されたい)。

【0088】

本発明による抗体を産生する細胞を上記の免疫化および他の技法のいずれかを使用して得た場合、本明細書に記載の標準的な手順に従って、その細胞からDNAまたはmRNAを単離し増幅することによって特異的な抗体遺伝子をクローニングしてよい。それにより産生された抗体をシーケンシングしてよく、同定されたCDRおよびCDRをコードしているDNAを前記の通り操作して本発明による他の抗体を作製してよい。

【0089】

結合作用物質は、スクレロスチンに特異的に結合することが好ましい。すべての結合作用物質および結合アッセイと同様に、当業者であれば、結合作用物質が治療上有効であり適当であるために検出可能な程度に結合すべきでない様々な部分については、列挙するこ

とは網羅的であり、非实际的であろうことを認識する。したがって、本明細書で開示される結合作用物質に関して、「特異的に結合する」という用語は、結合作用物質が、無関係の対照タンパク質に結合するよりも大きな親和性でスクレロスチン、好ましくはヒトスクレロスチンに結合できることを指す。対照タンパク質は、ニワトリ卵白リゾチームであることが好ましい。結合作用物質は、スクレロスチンに、対照タンパク質の親和性の少なくとも50、100、250、500、1000、または10,000倍を超える親和性で結合することが好ましい。結合作用物質は、ヒトスクレロスチンに対して 1×10^{-7} M以下、 1×10^{-8} M以下、 1×10^{-9} M以下、 1×10^{-10} M以下、 1×10^{-11} M以下、または 1×10^{-12} M以下の結合親和性を有してよい。

【0090】

親和性は、親和性ELISAアッセイによって決定できる。ある実施形態では、親和性は、BIAcoreアッセイによって決定できる。ある実施形態では、親和性は、速度論的方法によって決定できる。ある実施形態では、親和性は、平衡/溶液法によって決定できる。このような方法は、本明細書でさらに詳細に記載されているか、当技術分野で公知である。

【0091】

本発明のスクレロスチン結合作用物質は、本明細書に記載の細胞に基づくアッセイおよび/または本明細書に記載のin vivoアッセイでスクレロスチン機能を調節し、かつ/または本明細書に記載のエピトープのうちの1つまたは複数に結合し、かつ/または本願明細書に記載の抗体のうちの1つが結合することを交差阻止し、かつ/または本願明細書に記載の抗体のうちの1つによりスクレロスチンに結合することが交差阻止されることが好ましい。したがって、このような結合作用物質は、本明細書に記載のアッセイを使用して同定することができる。

【0092】

ある実施形態では、結合作用物質は、本明細書で示すエピトープのうちのもう1つに結合し、および/または本明細書に記載の細胞に基づくアッセイおよび/またはin vivoアッセイで中和し、かつ/または本願明細書に記載の抗体を交差阻止し、かつ/または本願明細書に記載の抗体のうちの1つによりスクレロスチンに結合することが交差阻止される抗体を最初に同定することによって作製される。次いで、こうした抗体からのCDR領域を使用し、適切な生体適合性フレームワーク中に挿入して、スクレロスチン結合作用物質を作製する。結合作用物質のCDR以外の部分は、アミノ酸で構成されていてもよく、または非タンパク質分子であってもよい。本明細書に記載のアッセイは、結合作用物質の特性決定を可能にする。本発明の結合作用物質は、本明細書で定義される抗体であることが好ましい。

【0093】

抗体などの一部のタンパク質は、種々の翻訳後修飾を受け得ることは、当業者であれば理解されよう。こうした修飾の種類および程度は、タンパク質を発現させるために使用される宿主細胞系統ならびに培養条件に依存することが多い。このような修飾には、糖鎖形成の変異、メチオニン酸化、ジケトピペリジン形成、アスパラギン酸異性化、およびアスパラギンアミド分解が含まれ得る。よくある修飾は、カルボキシペプチダーゼの作用によるカルボキシ末端の塩基性残基(リジンまたはアルギニンなど)の喪失である(Harris, RJ、Journal of Chromatography 705:129~134頁、1995に記載されている)。

【0094】

Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、およびAb-1と称される抗体を以下に記載する。「HC」は重鎖を指し、「LC」は軽鎖を指す。以下のいくつかの抗体について、CDRは網掛けとし、定常(C)領域は太字のイタリックで示す。

【0095】

Ab-D

抗体D(本明細書ではAb-DおよびMab-Dとも称される)は、スクレロスチンとの高親和性結合を示すマウス抗体である。Ab-DのBIAcore結合パターンは図18に示す。

【0096】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-D軽鎖のアミノ酸配列は以下の通りである：

【化1】

1 DVQMIQSPSS LSASLGDIVT MTCQASQGTSLNLNWFQQKP GKAPKLLIYG
51 SSNLEDGVPS RFSGSRYGTD FTLTISSLED EDLATYFCLO HSYLPYTFGG
101 GTKLEIKRAD AAPTYSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVKWKI
151 DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
201 STSPIVKSFN RNEC (配列番号 7)

【0097】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-D LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

10

【化2】

1 GATGTCCAGA TGATTCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTTTGGGAGA
51 CATAGTCACC ATGACTTGCC AGGCAAGTCA GGGCACTAGC ATTAATTTAA
101 ACTGGTTTCA GCAAAAACCA GGGAAGGCTC CTAAGCTCCT GATCTATGGT
151 TCAAGCAACT TGGGAAGATGG GTCCCATCA AGGTTCAAGTG GCAGTAGATA
201 TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG CCTGGAGGAT GAAGATCTGG
251 CAACTTATTT CTGTCTACAA CATAGTTATC TCCCGTACAC GTTCGGAGGG
301 GGGACCAAGC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA CTGTATCCAT
351 CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC TCAGTCGTGT
401 GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA GTGGAAGATT
451 GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA CTGATCAGGA
501 CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG TTGACCAAGG
551 ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC TCACAAGACA
601 TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT GTTAG (配列番号
8)

20

【0098】

シグナルペプチドを含めたAb-D LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化3】

1 MNTRAPAEFL GFLLLWFLGA RCDVQMIQSP SLSASLGDI VTMTQASQG
51 TSINLNWFQQ KPGKAPKLLI YGSSNLEDGV PSRFSGSRYG TDFTLTISSL
101 EDEDLATYFC LQHSYLPYTF GGGTKLEIKR ADAAPTYSIF PPSSEQLTSG
151 GASVVCFLNN FYPKDINVKW KIDGSERQNG VLNSWTDQDS KDSTYSMSST
201 LTLTKDEYER HNSYTCEATH KTSTSPIVKS FNRNEC (配列番号 9)

30

【0099】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-D LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 4】

1 ATGAACACGA GGGCCCCTGC TGAGTTCCTT GGGTTCCTGT TGCTCTGGTT
 51 TTTAGGTGCC AGATGTGATG TCCAGATGAT TCAGTCTCCA TCCTCCCTGT
 101 CTGCATCTTT GGGAGACATA GTCACCATGA CTTGCCAGGC AAGTCAGGGC
 151 ACTAGCATT AATTAACTG GTTTCAGCAA AAACCAGGGA AGGCTCCTAA
 201 GCTCCTGATC TATGGTTCAA GCAACTTGG AAGATGGGGTC CCATCAAGGT
 251 TCAGTGGCAG TAGATATGGG ACAGATTTC CTCTCACCAT CAGCAGCCTG
 301 GAGGATGAAG ATCTGGCAAC TTATTTCTGT CTACAACATA GTTATCTCCC
 351 GTACACGTTG GGAGGGGGGA CCAAGCTGGA AATAAAACGG GCTGATGCTG
 401 CACCAACTGT ATCCATCTTC CCACCATCCA GTGAGCAGTT AACATCTGGA
 451 GGTGCCTCAG TCGTGTGCTT CTTGAACAAC TTCTACCCCA AAGACATCAA
 501 TGTCAAGTGG AAGATTGATG GCAGTGAACG ACAAATGGC GTCCTGAACA
 551 GTTGGACTGA TCAGGACAGC AAAGACAGCA CCTACAGCAT GAGCAGCACC
 601 CTCACGTTGA CCAAGGACGA GTATGAACGA CATAACAGCT ATACCTGTGA
 651 GGCCACTCAC AAGACATCAA CTTACCCCAT TGTC AAGAGC TTCAACAGGA
 701 ATGAGTGTTA G (配列番号 10)

10

【0100】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-D HC重鎖のアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 5】

1 EVQLQQSGPE LVTPGASVKI SCKASGYTFT **DHYMSWVKQS** HGKSLEWIGD
 51 **INPYSGETTY** **NOKEKGTATL** TVDKSSSIAY MEIRGLTSED SAVYYCARD
 101 **YDASEFAYWG** QGTLVTVSAA **KTPPSVYPL** **APGSAAQTNS** **MVTLGCLVKG**
 151 **YFPEPVTVTW** **NSGSLSSGVH** **TFPAVLQSDL** **YTLSSSVTV** **PSSWPSETVT**
 201 **CNVAHPASST** **KVDKKIVPRD** **CGCKPCICTV** **PEVSSVFIFP** **PKPKDVLIT**
 251 **LTPKVTCVVV** **DISKDDPEVQ** **FSWFVDDVEV** **HTAQTPREE** **QFNSTFRSVS**
 301 **ELPIMHQDWL** **NGKEFKCRVN** **SPAFFAPIEK** **TISKTKGRP** **KAPQVYTIPPP**
 351 **KEQMAKDKVS** **LTCMITDFFP** **EDITVEWQWN** **GQPAENYKNT** **QPIMDTDGSY**
 401 **FIYSKLVNQK** **SNWEAGNTFT** **CSVLHEGLHN** **HHTEKSLSHS** **PGK** (配列番号 11)

20

【0101】

30

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-D HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 6】

1 GAGGTCCAGC TGCAACAGTC TGGACCTGAA CTGGTGACGC CTGGGGCTTC
51 AGTGAAGATA TCTTGTAAGG CTTCTGGATA CACATTCCT GACCACTACA
101 TGAGCTGGGT GAAGCAGAGT CATGGAAAAA GCCTTGAGTG GATTGGAGAT
151 ATTAATCCCT ATTCTGGTGA AACTACCTAC AACCAGAAGT TCAAGGGCAC
201 GGCCACATTG ACTGTAGACA AGTCTTCCAG TATAGCCTAC ATGGAGATCC
251 GCGGCCTGAC ATCTGAGGAC TCTGCAGTCT ATTACTGTGC AAGAGATGAT
301 TACGACGCCT CTCCGTTTGC TTAAGTGGGC CAAGGGACTC TGGTCACTGT
351 CTCTGCAGCC AAAACGACAC CCCCATCTGT CTATCCACTG GCCCCTGGAT
401 CTGCTGCCCA AACTAACTCC ATGGTGACCC TGGGATGCCT GGTCAAGGGC
451 TATTTCCCTG AGCCAGTGAC AGTGACCTGG AACTCTGGAT CCCTGTCCAG
501 CGGTGTGCAC ACCTTCCCAG CTGTCCTGCA GTCTGACCTC TACACTCTGA
551 GCAGCTCAGT GACTGTCCCC TCCAGCACCT GGCCCAGCGA GACCGTCACC
601 TGCAACGTTG CCCACCCGGC CAGCAGCACC AAGGTGGACA AGAAAATTGT
651 GCCCAGGGAT TGTGGTTGTA AGCCTTGCAT ATGTACAGTC CCAGAAGTAT
701 CATCTGTCTT CATCTTCCCC CCAAAGCCCA AGGATGTGCT CACCATTACT
751 CTGACTCCTA AGGTCACGTG TGTTGTGGTA GACATCAGCA AGGATGATCC
801 CGAGGTCCAG TTCAGCTGGT TTGTAGATGA TGTGGAGGTG CACACAGCTC
851 AGACGCAACC CCGGGAGGAG CAGTTCAACA GCACTTTCCG CTCAGTCAGT
901 GAACTTCCCA TCATGCACCA GGACTGGCTC AATGGCAAGG AGTTCAAATG
951 CAGGGTCAAC AGTCCAGCTT TCCCTGCCCC CATCGAGAAA ACCATCTCCA
1001 AAACCAAAGG CAGACCGAAG GCTCCACAGG TGTACACCAT TCCACCTCCC
1051 AAGGAGCAGA TGGCCAAGGA TAAAGTCAGT CTGACCTGCA TGATAACAGA
1101 CTTCTTCCCT GAAGACATTA CTGTGGAGTG GCAGTGGAAT GGGCAGCCAG
1151 CGGAGAACTA CAAGAACACT CAGCCCATCA TGGACACAGA TGGCTCTTAC
1201 TTCATCTACA GCAAGCTCAA TGTGCAGAAG AGCAACTGGG AGGCAGGAAA
1251 TACTTTCACC TGCTCTGTGT TACATGAGGG CCTGCACAAC CACCATACTG
1301 AGAAGAGCCT CTCCCACTCT CCTGGTAAAT GA (配列番号 12)

10

20

【 0 1 0 2】

シグナルペプチドを含めたAb-D HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 7】

1 MRCRWIFLFL LSGTAGVLSE VQLQQSGPEL VTPGASVKIS CKASGYTFTD
51 HYMSWVKQSH GKSLEWIGDI NPYSGETTYN QKFKGTATLT VDKSSSIAYM
101 EIRGLTSEDS AVYYCARDY DASPFAYWGQ GTLVTVSAK TTPPSVYPLA
151 PGSAAQTNSM VTLGCLVKGY FPEPVTVTWN SGSLSSGVHT FPAVLQSDLY
201 TLSSSVTVPS STWPSETVTC NVAHPASSTK VDKKIVPRDC GCKPCICTVP
251 EVSSVFIFPP KPKDVLITIL TPKVTCVVVD ISKDDPEVQF SWFVDDVEVH
301 TAQTQPREEQ FNSTFRSVSE LPIMHQDWLN GKEFKCRVNS PAFPAPIEKT
351 ISKTKGRPKA PQVYTIPPPK EQMAKDKVSL TCMITDFPE DITVEWQWNG
401 QPAENYKNTQ PIMDTDGSYF IYSKLVNPKS NWEAGNTFTC SVLHEGLHNH
451 HTEKSLSHSP GK (配列番号 13)

40

【 0 1 0 3】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-D HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 8】

1 ATGAGATGCA GGTGGATCTT TCTCTTCTC CTGTCAGGAA CTGCAGGTGT
 51 CCTCTCTGAG GTCCAGCTGC AACAGTCTGG ACCTGAACTG GTGACGCCTG
 101 GGGCTTCAGT GAAGATATCT TGTAAGGCTT CTGGATACAC ATTCACTGAC
 151 CACTACATGA GCTGGGTGAA GCAGAGTCAT GGAAAAAGCC TTGAGTGGAT
 201 TGGAGATATT AATCCCTATT CTGGTGAAAC TACCTACAAC CAGAAGTTCA
 251 AGGGCACGGC CACATTGACT GTAGACAAGT CTTCCAGTAT AGCCTACATG
 301 GAGATCCGCG GCCTGACATC TGAGGACTCT GCAGTCTATT ACTGTGCAAG
 351 AGATGATTAC GACGCCTCTC CGTTTGCTTA CTGGGGCCAA GGGACTCTGG
 401 TCACTGTCTC TGCAGCCAAA ACGACACCCC CATCTGTCTA TCCACTGGCC
 451 CCTGGATCTG CTGCCCAAAC TAACTCCATG GTGACCCTGG GATGCCTGGT
 501 CAAGGGCTAT TTCCCTGAGC CAGTGACAGT GACCTGGAAC TCTGGATCCC
 551 TGTCCAGCGG TGTGCACACC TTCCAGCTG TCCTGCAGTC TGACCTCTAC
 601 ACTCTGAGCA GCTCAGTGAC TGTCCCCTCC AGCACCTGGC CCAGCGAGAC
 651 CGTCACCTGC AACGTTGCC ACCCGGCCAG CAGCACCAAG GTGGACAAGA
 701 AAATTGTGCC CAGGGATTGT GGTTGTAAGC CTTGCATATG TACAGTCCCA
 751 GAAGTATCAT CTGTCTTCAT CTTCCCCCA AAGCCCAAGG ATGTGCTCAC
 801 CATTACTCTG ACTCCTAAGG TCACGTGTGT TGTGGTAGAC ATCAGCAAGG
 851 ATGATCCCGA GGTCCAGTTC AGCTGGTTTG TAGATGATGT GGAGGTGCAC
 901 ACAGCTCAGA CGCAACCCCG GGAGGAGCAG TTCAACAGCA CTTTCCGCTC
 951 AGTCAGTGAA CTTCCCATCA TGCACCAGGA CTGGCTCAAT GGCAAGGAGT
 1001 TCAAATGCAG GGTC AACAGT CCAGCTTTCC CTGCCCCCAT CGAGAAAACC
 1051 ATCTCCAAAA CCAAAGGCAG ACCGAAGGCT CCACAGGTGT ACACCATTC
 1101 ACCTCCCAAG GAGCAGATGG CCAAGGATAA AGTCAGTCTG ACCTGCATGA
 1151 TAACAGACTT CTTCCCTGAA GACATTACTG TGGAGTGGCA GTGGAATGGG
 1201 CAGCCAGCGG AGAACTACAA GAACACTCAG CCCATCATGG ACACAGATGG
 1251 CTCTTACTTC ATCTACAGCA AGCTCAATGT GCAGAAGAGC AACTGGGAGG
 1301 CAGGAAATAC TTTCACCTGC TCTGTGTTAC ATGAGGGCCT GCACAACCAC
 1351 CATACTGAGA AGAGCCTCTC CCACTCTCCT GGTAATGA (配列番号 14)

10

20

【 0 1 0 4 】

30

Ab-Dの重鎖の可変領域にあるCDR(相補性決定領域)配列は以下の通りである：

CDR-H1: DHYMS (配列番号39)

CDR-H2: DINPYSGETTYNQKFKG (配列番号40)

CDR-H3: DDYDASPFAY (配列番号41)

【 0 1 0 5 】

Ab-Dの軽鎖可変領域CDR配列は以下の通りである：

CDR-L1: QASQGTSINLN (配列番号42)

CDR-L2: GSSNLED (配列番号43)

CDR-L3: LQHSYLPYT (配列番号44)

【 0 1 0 6 】

40

Ab-C

抗体C(本明細書ではAb-CおよびMab-Cとも称される)は、スクレロスチンとの高親和性結合を示すマウス抗体である。Ab-CのBIAcore結合パターンは図17に示す。T成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-C軽鎖のアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 9】

1 DIVLTQSPAS LTVSLGLRAT ISCKASQSVD YDGDSYMNWY QQKPGQPPKL
51 LIYAASNLES GIPARFSGNG SGTDFTLNIH PVEEEDAVTY YCQOSNEDPW
101 TFGGGTKLEI KRADAAPT~~VS~~ IFPPSSEQLT SGGASVVCFL NNFYPKDINV
151 KWKIDGSERQ NGVLNSWTDQ DSKDSTYSMS STLTLTKDEY ERHNSYTCEA
201 THKTSTSPIV KSFNRNEC (配列番号 15)

【0107】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-C LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 10】

1 GACATTGTGC TGACCCAATC TCCAGCTTCT TTGACTGTGT CTCTAGGCCT
51 GAGGGCCACC ATCTCCTGCA AGGCCAGCCA AAGTGTTGAT TATGATGGTG
101 ATAGTTATAT GAACTGGTAC CAGCAGAAAC CAGGACAGCC ACCCAA~~ACTC~~
151 CTCATCTATG CTGCATCCAA TCTAGAATCT GGGATCCCAG CCAGGTTTAG
201 TGGCAATGGG TCTGGGACAG ACTTCACCCT CAACATCCAT CCTGTGGAGG
251 AGGAGGATGC TGTAACCTAT TACTGTCAAC AAAGTAATGA GGATCCGTGG
301 ACGTTCGGTG GAGGCACCAA GCTGGAAATC AAACGGGCTG ATGCTGCACC
351 AACTGTATCC ATCTTCCCAC CATCCAGTGA GCAGTTAACA TCTGGAGGTG
401 CCTCAGTCGT GTGCTTCTTG ACAA~~CTTCT~~ ACCCAAAGA CATCAATGTC
451 AAGTGGAAGA TTGATGGCAG TGAACGACAA AATGGCGTCC TGAACAGTTG
501 GACTGATCAG GACAGCAAAG ACAGCACCTA CAGCATGAGC AGCACCTCA
551 CGTTGACCAA GGACGAGTAT GAACGACATA ACAGCTATAC CTGTGAGGCC
601 ACTCACAAGA CATCAACTTC ACCCATTGTC AAGAGCTTCA ACAGGAATGA
651 GTGTTAG (配列番号 16)

【0108】

シグナルペプチドを含めたAb-C LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 11】

1 METDTILLWV LLLWVPGSTG DIVLTQSPAS LTVSLGLRAT ISCKASQSVD
51 YDGDSYMNWY QQKPGQPPKL LIYAASNLES GIPARFSGNG SGTDFTLNIH
101 PVEEEDAVTY YCQOSNEDPW TFGGGTKLEI KRADAAPT~~VS~~ IFPPSSEQLT
151 SGGASVVCFL NNFYPKDINV KWKIDGSERQ NGVLNSWTDQ DSKDSTYSMS
201 STLTLTKDEY ERHNSYTCEA THKTSTSPIV KSFNRNEC (配列番号 17)

【0109】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-C LCの核酸配列は以下の通りである：

10

20

30

【化 1 2】

1 ATGGAGACAG ACACAATCCT GCTATGGGTG CTGCTGCTCT GGGTTCCAGG
 51 CTCCACTGGT GACATTGTGC TGACCCAATC TCCAGCTTCT TTGACTGTGT
 101 CTCTAGGCCT GAGGGCCACC ATCTCCTGCA AGGCCAGCCA AAGTGTTGAT
 151 TATGATGGTG ATAGTTATAT GAACTGGTAC CAGCAGAAAC CAGGACAGCC
 201 ACCCAAACCT CTCATCTATG CTGCATCCAA TCTAGAATCT GGGATCCCAG
 251 CCAGGTTTAG TGGCAATGGG TCTGGGACAG ACTTCACCCT CAACATCCAT
 301 CCTGTGGAGG AGGAGGATGC TGTAACCTAT TACTGTCAAC AAAGTAATGA
 351 GGATCCGTGG ACGTTCGGTG GAGGCACCAA GCTGGAAATC AAACGGGCTG
 401 ATGCTGCACC AACTGTATCC ATCTTCCCAC CATCCAGTGA GCAGTTAACA
 451 TCTGGAGGTG CCTCAGTCGT GTGCTTCTTG AACAACTTCT ACCCCAAAGA
 501 CATCAATGTC AAGTGGAAGA TTGATGGCAG TGAACGACAA AATGGCGTCC
 551 TGAACAGTTG GACTGATCAG GACAGCAAAG ACAGCACCTA CAGCATGAGC
 601 AGCACCTCA CGTTGACCAA GGACGAGTAT GAACGACATA ACAGCTATAC
 651 CTGTGAGGCC ACTCACAAGA CATCAACTTC ACCCATTGTC AAGAGCTTCA
 701 ACAGGAATGA GTGTTAG (配列番号 18)

10

【0 1 1 0】

Ab-C重鎖

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-C HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 3】

20

1 EVQLQQSGPE LVKPGTSVKM SCKASGYTFT DCYMNWVKQS HGKSLEWIGD
 51 INPENGGITTY NQKFKGKATL TVDKSSSTAY MQLNSLTSDD SAVYYCARSH
 101 YYFDGRVPWD AMDYWGQGTS VTVSSAKTTP PSVYPLAPGS AAQTNSMVTL
 151 GCLVKGYFPE PVTVTWNSGS LSSGVHTFPA VLQSDLYTLS SSVTVPSSTW
 201 PSETVTCNVA HPASSTKVDK KIVPRDCGCK PCICTVPEVS SVFIFPPKPK
 251 DVLITITLTPK VTCVVVDISK DDPEVQFSWF VDDVEVHTAQ TOPREEQFNS
 301 TFRSVSELPI MHQDWLNGKE FKCRVNSAAF PAPIEKTISK TKGRPKAPQV
 351 YTIPPPKEQM AKDKVSLTCM ITDFFPEDIT VEWQWNGQPA ENYKNTQPIIM
 401 DTDGSYFIYS KLVNQKSNWE AGNTFTCSVL HEGLHNHHTE KSLSHSPGK (配列
 番号 19)

30

【0 1 1 1】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-C HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 1 4】

1 GAGGTCCAGC TGCAACAATC TGGACCTGAG CTGGTGAAGC CTGGGACTTC
51 AGTGAAGATG TCCTGTAAGG CTTCTGGATA CACATTCACT GACTGCTACA
101 TGAAGTGGGT GAAGCAGAGC CATGGGAAGA GCCTTGAATG GATTGGAGAT
151 ATTAATCCTT TCAACGGTGG TACTACCTAC AACCAGAAGT TCAAGGGCAA
201 GGCCACATTG ACTGTAGACA AATCCTCCAG CACAGCCTAC ATGCAGCTCA
251 ACAGCCTGAC ATCTGACGAC TCTGCAGTCT ATTACTGTGC AAGATCCCAT
301 TATTACTTCG ATGGTAGAGT CCCTTGGGAT GCTATGGACT ACTGGGGTCA
351 AGGAACCTCA GTCACCGTCT CCTCAGCCAA AACGACACCC CCATCTGTCT
401 ATCCACTGGC CCCTGGATCT GCTGCCCAA CTAAGTCCAT GGTGACCCTG
451 GGATGCCTGG TCAAGGGCTA TTCCCTGAG CCAGTGACAG TGACCTGGAA
501 CTCTGGATCC CTGTCCAGCG GTGTGCACAC CTTCCAGCT GTCCTGCAGT
551 CTGACCTCTA CACTCTGAGC AGCTCAGTGA CTGTCCCCTC CAGCACCTGG
601 CCCAGCGAGA CCGTCACCTG CAACGTTGCC CACCCGGCCA GCAGCACCAA
651 GGTGGACAAG AAAATTGTGC CCAGGGATTG TGGTTGTAAG CCTTGCATAT
701 GTACAGTCCC AGAAGTATCA TCTGTCTTCA TCTTCCCCC AAAGCCCAAG
751 GATGTGCTCA CCATTACTCT GACTCCTAAG GTCACGTGTG TTGTGGTAGA
801 CATCAGCAAG GATGATCCCG AGGTCCAGTT CAGCTGGTTT GTAGATGATG
851 TGGAGGTGCA CACAGCTCAG ACGCAACCCC GGGAGGAGCA GTTCAACAGC
901 ACTTTCGCT CAGTCAGTGA ACTTCCCATC ATGCACCAGG ACTGGCTCAA
951 TGGCAAGGAG TTCAAATGCA GGGTCAACAG TGCAGCTTTC CCTGCCCCCA
1001 TCGAGAAAAC CATCTCCAAA ACCAAAGGCA GACCGAAGGC TCCACAGGTG
1051 TACACCATTC CACCTCCCAA GGAGCAGATG GCCAAGGATA AAGTCAGTCT
1101 GACCTGCATG ATAACAGACT TCTTCCCTGA AGACATTACT GTGGAGTGGC
1151 AGTGAATGG GCAGCCAGCG GAGAACTACA AGAACTCA GCCCATCATG
1201 GACACAGATG GCTCTTACTT CATCTACAGC AAGCTCAATG TGCAGAAGAG
1251 CAACTGGGAG GCAGGAAATA CTTTCACCTG CTCTGTGTTA CATGAGGGCC
1301 TGCACAACCA CCATACTGAG AAGAGCCTCT CCCACTCTCC TGGTAAATGA

10

20

(配列番号 20)

【 0 1 1 2】

30

シグナルペプチドを含めたAb-C HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 5】

1 MGWNWIFLFL LSGTAGVYSE VQLQQSGPEL VKPGTSVKMS CKASGYTFTD
51 CYMNWVKQSH GKSLEWIGDI NPFNGGTTYN QKFKGKATLT VDKSSSTAYM
101 QLNSLTSDDS AVYYCARSHY YFDGRVPWDA MDYWGQGSV TVSSAKTTPP
151 SVYPLAPGSA AQTNSMVTLG CLVKGYFPEP VTVTWNSGSL SSGVHTFPAV
201 LQSDLYTLSS SVTVPSSTWP SETVTCNVAH PASSTKVDKK IVPRDCGCKP
251 CICTVPEVSS VFIFPPKPKD VLTITLTPKV TCVVVDISKD DPEVQFSWFV
301 DDVEVHTAQT QPREEQFNST FRSVSELPIM HQDWLNGKEF KCRVNSAAFP
351 APIEKTISKI KGRPKAPQVY TIPPPKEQMA KDKVSLTCMI TDFFPEDITV
401 EWQWNGQPAE NYKNTQPIMD TDGSYFIYSK LNVQKSNWEA GNTFTCSVLH
451 EGLHNHHTTEK SLSHSPGK (配列番号 21)

40

【 0 1 1 3】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-C HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 6】

1 ATGGGATGGA ACTGGATCTT TCTCTTCCTC TTGTCAGGAA CTGCAGGTGT
 51 CTACTCTGAG GTCCAGCTGC AACAATCTGG ACCTGAGCTG GTGAAGCCTG
 101 GGACTTCAGT GAAGATGTCC TGTAAGGCTT CTGGATACAC ATTCACTGAC
 151 TGCTACATGA ACTGGGTGAA GCAGAGCCAT GGGAAAGAGCC TTGAATGGAT
 201 TGGAGATATT AATCCTTTCA ACGGTGGTAC TACCTACAAC CAGAAGTTCA
 251 AGGGCAAGGC CACATTGACT GTAGACAAAT CCTCCAGCAC AGCCTACATG
 301 CAGCTCAACA GCCTGACATC TGACGACTCT GCAGTCTATT ACTGTGCAAG
 351 ATCCCATTAT TACTTCGATG GTAGAGTCCC TTGGGATGCT ATGGACTACT
 401 GGGGTCAAGG AACCTCAGTC ACCGTCTCCT CAGCCAAAAC GACACCCCA
 451 TCTGTCTATC CACTGGCCCC TGGATCTGCT GCCCAAATA ACTCCATGGT
 501 GACCCTGGGA TGCCTGGTCA AGGGCTATTT CCCTGAGCCA GTGACAGTGA
 551 CCTGGAACCTC TGGATCCCTG TCCAGCGGTG TGCACACCTT CCCAGCTGTC
 601 CTGCAGTCTG ACCTCTACAC TCTGAGCAGC TCAGTGAAGT TCCCCTCCAG
 651 CACCTGGCCC AGCGAGACCG TCACCTGCAA CGTTGCCAC CCGGCCAGCA
 701 GCACCAAGGT GGACAAGAAA ATTGTGCCCA GGGATTGTGG TTGTAAGCCT
 751 TGCATATGTA CAGTCCCAGA AGTATCATCT GTCTTCATCT TCCCCCAAA
 801 GCCCAAGGAT GTGCTCACC TACTCTGAC TCCTAAGGTC ACGTGTGTTG
 851 TGGTAGACAT CAGCAAGGAT GATCCCGAGG TCCAGTTCAG CTGGTTTGTA
 901 GATGATGTGG AGGTGCACAC AGCTCAGACG CAACCCCGGG AGGAGCAGTT
 951 CAACAGCACT TTCCGCTCAG TCAGTGAAGT TCCATCATG CACCAGGACT
 1001 GGCTCAATGG CAAGGAGTTC AAATGCAGGG TCAACAGTGC AGCTTTCCT
 1051 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAACC AAAGGCAGAC CGAAGGCTCC
 1101 ACAGGTGTAC ACCATTCCAC CTCCCAAGGA GCAGATGGCC AAGGATAAAG
 1151 TCAGTCTGAC CTGCATGATA ACAGACTTCT TCCCTGAAGA CATTACTGTG
 1201 GAGTGGCAGT GGAATGGGCA GCCAGCGGAG AACTACAAGA AACTCAGCC
 1251 CATCATGGAC ACAGATGGCT CTTACTTCAT CTACAGCAAG CTCAATGTGC
 1301 AGAAGAGCAA CTGGGAGGCA GGAAATACTT TCACCTGCTC TGTGTTACAT
 1351 GAGGGCCTGC ACAACCACCA TACTGAGAAG AGCCTCTCCC ACTCTCCTGG
 1401 TAAATGA (配列番号 22)

10

20

30

【0 1 1 4】

Ab-Cの重鎖の可変領域にあるCDR(相補性決定領域)配列は以下の通りである：

CDR-H1:DCYMN(配列番号45)

CDR-H2:DINPFNGGTTYNQKFKG(配列番号46)

CDR-H3:SHYYFDGRVPWDAMDY(配列番号47)

【0 1 1 5】

Ab-Cの軽鎖可変領域CDR配列は以下の通りである：

CDR-L1:KASQSVDDYDGDSYMN(配列番号48)

CDR-L2:AASNLES(配列番号49)

CDR-L3:QQSNEDPWT(配列番号50)

40

【0 1 1 6】

Ab-A

抗体A(本明細書ではAb-AおよびMab-Aとも称される)は、スクレロスチンとの高親和性結合を示すウサギマウスキメラ抗体。Ab-AのBIAcore結合パターンは図15に示す。

【0 1 1 7】

Ab-A軽鎖

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-A LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 7】

1 AQVLTQTPAS VSAAVGGTVT INCQSSQSVY DNNWLAWFQQ KPGQPPKLLI
 51 YDASDLASGV PSRFSGSGSG TQFTLTISGV QCADAATYYC QGAYNDVIYA
 101 FGGGTEVVVK RTDAAPT~~V~~SI FPPSSEQLTS GGASVVCFLN NFYPKDINVK
 151 WKIDGSE~~RQ~~N GVLNSWTDQD SKDSTYSMSS TLTLTKDEYE RHNSYTCEAT
 201 HKTSTSPIVK SFNRNEC (配列番号 23)

【0 1 1 8】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-A LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 1 8】

1 GCGCAAGTGC TGACCCAGAC TCCAGCCTCC GTGTCTGCAG CTGTGGGAGG
 51 CACAGTCACC ATCAATTGCC AGTCCAGTCA GAGTGTTTAT GATAACAAC
 101 GGTTAGCCTG GTTTCAGCAG AAACCAGGGC AGCCTCCCAA GCTCCTGATT
 151 TATGATGCAT CCGATCTGGC ATCTGGGGTC CCATCGCGGT TCAGTGGCAG
 201 TGGATCTGGG ACACAGTTCA CTCTACCAT CAGCGGCGTG CAGTGTGCCG
 251 ATGCTGCCAC TTACTACTGT CAAGGCGCTT ATAATGATGT TATTTATGCT
 301 TTCGGCGGAG GGACCGAGGT GGTGGTCAAA CGTACGGATG CTGCACCAAC
 351 TGTATCCATC TTCCCACCAT CCAGTGAGCA GTTAACATCT GGAGGTGCCT
 401 CAGTCGTGTG CTTCTTGAAC AACTTCTACC CCAAGACAT CAATGTCAAG
 451 TGGAAGATTG ATGGCAGTGA ACGACAAAAT GGCCTCCTGA ACAGTTGGAC
 501 TGATCAGGAC AGCAAAGACA GCACCTACAG CATGAGCAGC ACCCTCACGT
 551 TGACCAAGGA CGAGTATGAA CGACATAACA GCTATACCTG TGAGGCCACT
 601 CACAAGACAT CAACTTCACC CATTGTCAAG AGCTTCAACA GGAATGAGTG
 651 TTAG (配列番号 24)

【0 1 1 9】

シグナルペプチドを含めたAb-A LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 9】

1 MDTRAPTQLL GLLLLWLPGA TFAQVLTQTP ASVSAAVGGT VTINCQSSQS
 51 VYDNNWLAWF QKPGQPPKL LIYDASDLAS GVPSRFSGSG SGTQFTLTIS
 101 GVQCADAATY YCQGAYNDVI YAFGGGTEVV VKRTDAAPT~~V~~ SIFPPSSEQL
 151 TSGGASVVCFLNNFYPKDIN VKWKIDGSE~~R~~QNGVLNSWTD QDSKDSTYSM
 201 SSTLTLTKDE YERHNSYTCE ATHKTSTSPI VKSFNRNEC (配列番号 25)

【0 1 2 0】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-A LCの核酸配列は以下の通りである：

10

20

30

【化 2 0】

1 ATGGACACGA GGGCCCCCAG TCAGCTGCTG GGGCTCCTGC TGCTCTGGCT
51 CCCAGGTGCC ACATTTGCGC AAGTGCTGAC CCAGACTCCA GCCTCCGTGT
101 CTGCAGCTGT GGGAGGCACA GTCACCATCA ATTGCCAGTC CAGTCAGAGT
151 GTTTATGATA ACAACTGGTT AGCCTGGTTT CAGCAGAAAC CAGGGCAGCC
201 TCCCAAGCTC CTGATTTATG ATGCATCCGA TCTGGCATCT GGGGTCCCAT
251 CGCGGTTT CAG TGGCAGTGGA TCTGGGACAC AGTTCACCTCT CACCATCAGC
301 GGCGTG CAGT GTGCCGATGC TGCCACTTAC TACTGTCAAG GCGCTTATAA
351 TGATGTTATT TATGCTTTTCG GCGGAGGGAC CGAGGTGGTG GTCAAACGTA
401 CGGATGCTGC ACCAACTGTA TCCATCTTCC CACCATCCAG TGAGCAGTTA
451 ACATCTGGAG GTGCCTCAGT CGTGTGCTTC TTGAACAACT TCTACCCCAA
501 AGACATCAAT GTCAAGTGGA AGATTGATGG CAGTGAACGA CAAAATGGCG
551 TCCTGAACAG TTGGACTGAT CAGGACAGCA AAGACAGCAC CTACAGCATG
601 AGCAGCACCC TCACGTTGAC CAAGGACGAG TATGAACGAC ATAACAGCTA
651 TACCTGTGAG GCCACTCACA AGACATCAAC TTCACCCATT GTCAAGAGCT
701 TCAACAGGAA TGAGTGTTAG (配列番号 26)

10

【 0 1 2 1】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-A HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 2 1】

1 QSLEESGGRL VTPGTPLTLT CTASGFSLS YWMNWVRQAP GEGLEWIGTI
51 DSGGRTDYAS WAKGRFTISR TSTMDLKMT SLTTGDTARY FCARNWNLWG
101 QGTLVTVSSA **STKGPSVYPL APGSAAQTNS MVTLGCLVKG YFPEPVTVTW**
151 NSGSLSSGVH TFP AVLQSDL YTLSSSVTVP SSTWPSETVT CNVAHPASST
201 KVDKKIVPRD CGCKPCICTV PEVSSVFIFP PKPKDVLIT LTPKVTCVVV
251 DISKDDPEVQ FSWFVDDVEV HTAQTOPREE QFNSTFRSVS ELPIMHQDWL
301 NGKEFKCRVN SAAFPAPIEK TISKTKGRPK APQVYTIPPP KEQMAKDKVS
351 LTCMITDFFP EDITVEWQWN GQPAENYKNT QPIMNTNGSY FVYSKLVQK
401 SNWEAGNTFT CSVLHEGLHN HHTEKSLSHS PGK (配列番号 27)

20

【 0 1 2 2】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-A HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

30

【化 2 2】

1 CAGTCGCTGG AGGAGTCCGG GGGTCGCCTG GTCACGCCTG GGACACCCCT
 51 GACACTCACC TGCACAGCCT CTGGATTCTC CCTCAGTAGT TATTGGATGA
 101 ACTGGGTCCG CCAGGCTCCA GGGGAGGGGC TGAATGGAT CGGAACCATT
 151 GATTCTGGTG GTAGGACGGA CTACGCGAGC TGGGCAAAAG GCCGATTCAC
 201 CATCTCCAGA ACCTCGACTA CGATGGATCT GAAAATGACC AGTCTGACGA
 251 CCGGGGACAC GGCCCGTTAT TTCTGTGCCA GAAATTGGAA CTTGTGGGGC
 301 CAAGGCACCC TCGTCACCGT CTCGAGCGCT TCTACAAAGG GCCCATCTGT
 351 CTATCCACTG GCCCCTGGAT CTGCTGCCCC AACTAACTCC ATGGTGACCC
 401 TGGGATGCCT GGTCAAGGGC TATTTCCCTG AGCCAGTGAC AGTGACCTGG
 451 AACTCTGGAT CCCTGTCCAG CGGTGTGCAC ACCTTCCCAG CTGTCCTGCA
 501 GTCTGACCTC TACACTCTGA GCAGCTCAGT GACTGTCCCC TCCAGCACCT
 551 GGCCAGCGA GACCGTCACC TGCAACGTTG CCCACCCGGC CAGCAGCACC
 601 AAGGTGGACA AGAAAATTGT GCCCAGGGAT TGTGGTTGTA AGCCTTGCAT
 651 ATGTACAGTC CCAGAAGTAT CATCTGTCTT CATCTTCCCC CCAAAGCCCA
 701 AGGATGTGCT CACCATTACT CTGACTCCTA AGGTCACGTG TGTGTGGTA
 751 GACATCAGCA AGGATGATCC CGAGGTCCAG TTCAGCTGGT TTGTAGATGA
 801 TGTGGAGGTG CACACAGCTC AGACGCAACC CCGGGAGGAG CAGTTCAACA
 851 GCACTTCCG CTCAGTCAGT GAACTTCCA TCATGCACCA GGACTGGCTC
 901 AATGGCAAGG AGTTCAAATG CAGGGTCAAC AGTGCAGCTT TCCCTGCCCC
 951 CATCGAGAAA ACCATCTCCA AAACCAAAGG CAGACCGAAG GCTCCACAGG
 1001 TGTACACCAT TCCACCTCCC AAGGAGCAGA TGGCCAAGGA TAAAGTCAGT
 1051 CTGACCTGCA TGATAACAGA CTTCTTCCCT GAAGACATTA CTGTGGAGTG
 1101 GCAGTGGAAT GGGCAGCCAG CGGAGAACTA CAAGAACACT CAGCCCATCA
 1151 TGGACACAGA TGGCTCTTAC TTCGTCTACA GCAAGCTCAA TGTGCAGAAG
 1201 AGCAACTGGG AGGCAGGAAA TACTTTCACC TGCTCTGTGT TACATGAGGG
 1251 CCTGCACAAC CACCATACTG AGAAGAGCCT CTCCCACTCT CCTGGTAAAT
 1301 GA (配列番号 28)

10

20

【0 1 2 3】

シグナルペプチドを含めたAb-A HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 2 3】

1 METGLRWLL VAVLKGVHCQ SLEESGGRLV TPGTPLTLTC TASGFSLSY
 51 WMNWVRQAPG EGLEWIGTID SGGRTDYASW AKGRFTISRT STTMDLKMTS
 101 LTTGDTARYF CARNWNLWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVYPLA PGSAAQTNSM
 151 VTLGCLVKGY FPEPVTVTWN SGSLSSGVHT FPAVLQSDLY TLSSSVTVPS
 201 STWPSETVTC NVAHPASSTK VDKKIVPRDC GCKPCICTVP EVSSVFIFPP
 251 KPKDVLITIL TPKVTCVVVD ISKDDPEVQF SWFVDDVEVH TAQTQPREEQ
 301 FNSTFRSVSE LPIMHQDWLN GKEFKCRVNS AAFPAPIEKT ISKTKGRPKA
 351 PQVYTIPPPK EQMAKDKVSL TCMITDFPE DITVEWQWNG QPAENYKNTQ
 401 PIMNTNGSYF VYSKLVQKS NWEAGNTFTC SVLHEGLHNH HTEKSLSHSP
 451 GK (配列番号 29)

40

【0 1 2 4】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-A HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 2 4】

1 ATGGAGACTG GGCTGCGCTG GCTTCTCCTG GTCGCTGTGC TCAAAGGTGT
 51 CCACTGTCAG TCGCTGGAGG AGTCCGGGGG TCGCCTGGTC ACGCCTGGGA
 101 CACCCCTGAC ACTCACCTGC ACAGCCTCTG GATTCTCCCT CAGTAGTTAT
 151 TGGATGAACT GGGTCCGCCA GGCTCCAGGG GAGGGGCTGG AATGGATCGG
 201 AACCATTGAT TCTGGTGGTA GGACGGACTA CGCGAGCTGG GCAAAAGGCC
 251 GATTCACCAT CTCCAGAACC TCGACTACGA TGGATCTGAA AATGACCAGT
 301 CTGACGACCG GGGACACGGC CCGTTATTTC TGTGCCAGAA ATTGGAACTT
 351 GTGGGGGCCAA GGCACCCTCG TCACCGTCTC GAGCGCTTCT ACAAAGGGCC
 401 CATCTGTCTA TCCACTGGCC CCTGGATCTG CTGCCCAAAC TAACTCCATG
 451 GTGACCCTGG GATGCCTGGT CAAGGGCTAT TTCCCTGAGC CAGTGACAGT
 501 GACCTGGAAC TCTGGATCCC TGTCCAGCGG TGTGCACACC TTCCAGCTG
 551 TCCTGCAGTC TGACCTCTAC ACTCTGAGCA GCTCAGTGAC TGTCCCCTCC
 601 AGCACCTGGC CCAGCGAGAC CGTCACCTGC AACGTTGCCC ACCCGGCCAG
 651 CAGCACCAAG GTGGACAAGA AAATTGTGCC CAGGGATTGT GGTTGTAAGC
 701 CTTGCATATG TACAGTCCCA GAAGTATCAT CTGTCTTCAT CTTCCCCCA
 751 AAGCCCAAGG ATGTGCTCAC CATTACTCTG ACTCCTAAGG TCACGTGTGT
 801 TGTGGTAGAC ATCAGCAAGG ATGATCCCGA GGTCCAGTTC AGCTGGTTTG
 851 TAGATGATGT GGAGGTGCAC ACAGCTCAGA CGCAACCCCG GGAGGAGCAG
 901 TTCAACAGCA CTTTCCGCTC AGTCAGTGAA CTTCCCATCA TGCACCAGGA
 951 CTGGCTCAAT GGCAAGGAGT TCAAATGCAG GGTCAACAGT GCAGCTTTCC
 1001 CTGCCCCCAT CGAGAAAACC ATCTCCAAAA CCAAAGGCAG ACCGAAGGCT
 1051 CCACAGGTGT ACACCATTC ACCTCCCAAG GAGCAGATGG CCAAGGATAA
 1101 AGTCAGTCTG ACCTGCATGA TAACAGACTT CTTCCCTGAA GACATTACTG
 1151 TGGAGTGGCA GTGGAATGGG CAGCCAGCGG AGAACTACAA GAACACTCAG
 1201 CCCATCATGG ACACAGATGG CTCTTACTTC GTCTACAGCA AGCTCAATGT
 1251 GCAGAAGAGC AACTGGGAGG CAGGAAATAC TTTCACCTGC TCTGTGTTAC
 1301 ATGAGGGCCT GCACAACCAC CATACTGAGA AGAGCCTCTC CCACTCTCCT
 1351 GGTAAATGA (配列番号 30)

10

20

【0 1 2 5】

Ab-Aの重鎖の可変領域にあるCDR(相補性決定領域)配列は以下の通りである：

CDR-H1:SYWMN(配列番号51)

CDR-H2:TIDSGGRDYASWAKG(配列番号52)

CDR-H3:NWNL(配列番号53)

【0 1 2 6】

Ab-Aの軽鎖可変領域CDR配列は以下の通りである：

CDR-L1:QSSQSVYDNNWLA(配列番号54)

CDR-L2:DASDLAS(配列番号55)

CDR-L3:QGAYNDVIYA(配列番号56)

【0 1 2 7】

Ab-Aをヒト化し、抗体1と称され(本明細書ではAb-1とも称される)、これは以下の配列を有する。

【0 1 2 8】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-1 LC可変領域の核酸配列は以下の通りである：

30

40

【化 2 5】

ATGGACACGAGGGCCCCCACTCAGCTGCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGT
GCCACATTTGCTCAAGTTCTGACCCAGAGTCCAAGCAGTCTCTCCGCCAGCGTAGGC
GATCGTGTGACTATTACCTGTCAATCTAGTCAGAGCGTGTATGATAACAATTGGCTG
GCGTGGTACCAGCAAAAACCGGGCAAAGCCCCGAAGCTGCTCATCTATGACGCGTC
CGATCTGGCTAGCGGTGTGCCAAGCCGTTTCAGTGGCAGTGGCAGCGGTACTGACT
TTACCCTCACAATTTCTGCTCTCTCCAGCCGGAAGATTTGCCACTTACTATTGTCAAG
GTGCTTACAACGATGTGATTTATGCCTTCGGTCAGGGCACTAAAGTAGAAATCAAA
CGT (配列番号 74)

10

【0 1 2 9】

シグナルペプチドを含めたAb-1 LC可変領域のアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 2 6】

MDTRAPTQLLGLLLLWLPGATFAQVLTQSPSSLSASVGDRTITCQSSQSVYDNNWLA
WYQOKPGKAPKLLIYDASDLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQGGAYN
DVIYAFGQGTKVEIKR (配列番号 75)

【0 1 3 0】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-1 HC可変領域の核酸配列は以下の通りである：

20

【化 2 7】

ATGGAGACTGGGCTGCGCTGGCTTCTCCTGGTCGCTGTGCTCAAAGGTGTCCACTGT
GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGAGGCGGGCTTGTCCAGCCTGGAGGGAGCCTGCG
TCTCTCTTGTGCAGCAAGCGGCTTCAGCTTATCCTCTTACTGGATGAATTGGGTGCG
GCAGGCACCTGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTGGGCACCATTTGATTCCGGAGGCCGTA
CAGACTACGCGTCTTGGGCAAAGGGCCGTTTCACCATTTCCTCGCGACAACCTCCAAA
AATACCATGTACCTCCAGATGAACTCTCTCCGCGCAGAGGACACAGCACGTTATTA
CTGTGCACGCAACTGGAATCTGTGGGGTCAAGGTACTCTTGTAACAGTCTCGAGC
(配列番号 76)

30

【0 1 3 1】

シグナルペプチドを含めたAb-1 HC可変領域のアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 2 8】

METGLRWLLLVAVLKGVHCEVQLLESGGGLVQPGSLRLSCAASGFSLSYWMNWVR
QAPGKGLEWVGITDSGGRTDYASWAKGRFTISRDN SKNTMYLQMNSLRAEDTARYYC
ARNWNLWGQGT LVT VSS (配列番号 77)

【0 1 3 2】

Ab-1の重鎖の可変領域にあるCDR(相補性決定領域)配列は以下の通りである：

CDR-H1:SYWMN(配列番号51)

40

CDR-H2:TIDSGGRTDYASWAKG(配列番号52)

CDR-H3:NWNL(配列番号53)

【0 1 3 3】

Ab-1の軽鎖可変領域CDR配列は以下の通りである：

CDR-L1:QSSQSVYDNNWLA(配列番号54)

CDR-L2:DASDLAS(配列番号55)

CDR-L3:QGAYNDVIYA(配列番号56)

【0 1 3 4】

Ab-B

抗体B(本明細書ではAb-BおよびMab-Bとも称される)は、スクレロスチンとの高親和性結

50

合を示すマウス抗体である。Ab-BのBIAcore 結合パターンは図16に示す。

【0135】

Ab-B軽鎖

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-B LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化29】

```

1 QIVLTQSPTI VSASPGEKVT LICSSASSSVS EVDWFQOKPG TSPKRWIYRT
51 SNLGEFVGP PAR FSGGSGTSH SLTISRMEAE DAATYYCOQR STYPPTFGAG
101 TKLELKRADA APTVSIFFPS SEQLTSGGAS VVCFLNNFYF KDINVKWKID
151 GSERQNGVLN SWTDQDSKDS TYSMSSTLTL TKDEYERHNS YTCEATHKTS
201 TSPIVKSENR NEC (配列番号 31)

```

10

【0136】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-B LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化30】

```

1 CAAATTGTTC TCACCCAGTC TCCAACAATC GTGTCTGCAT CTCCAGGGGA
51 GAAGGTCACC CTAATCTGCA GTGCCAGTTC AAGTGTAAGT TTCGTGGACT
101 GGTTCACGCA GAAGCCAGGC ACTTCTCCCA AACGCTGGAT TTACAGAACA
151 TCCAACCTGG GTTTTGGAGT CCCTGCTCGC TTCAGTGGCG GTGGATCTGG
201 GACCTCTCAC TCTCTCACAA TCAGCCGAAT GGAGGCTGAA GATGCTGCCA
251 CTTATTACTG CCAGCAAAGG AGTACTTACC CACCCACGTT CGGTGCTGGG
301 ACCAAGCTGG AACTGAAACG GGCTGATGCT GCACCAACTG TATCCATCTT
351 CCCACCATCC AGTGAGCAGT TAACATCTGG AGGTGCCTCA GTCGTGTGCT
401 TCTTGAACAA CTTCTACCCC AAAGACATCA ATGTCAAGTG GAAGATTGAT
451 GGCAGTGAAC GACAAAATGG CGTCCTGAAC AGTTGGACTG ATCAGGACAG
501 CAAAGACAGC ACCTACAGCA TGAGCAGCAC CCTCACGTTG ACCAAGGACG
551 AGTATGAACG ACATAACAGC TATACCTGTG AGGCCACTCA CAAGACATCA
601 ACTTCACCCA TTGTCAAGAG CTTCAACAGG AATGAGTGTT AG (配列番号 32)

```

20

【0137】

シグナルペプチドを含めたAb-B LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化31】

```

1 MHFQVQIFS LLISASVIVS RGQIVLTQSP TIVSASPGEK VTLICSSASS
51 VSFVDWFQOK PGTSPKRWIY RTSNLGFGVP ARFSGGSGT SHSLTISRME
101 AEDAATYYCQ QRSTYPPTFG AGTKLELKRA DAAPTVSIFP PSSEQLTSGG
151 ASVVCFLNNF YPKDINVKWK IDGSERQNGV LNSWTDQDSK DSTYSMSSTL
201 TLTKDEYERH NSYTCEATHK TSTSPIVKSF NRNEC (配列番号 33)

```

30

【0138】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-B LCの核酸配列は以下の通りである：

40

【化 3 2】

1 ATGCATTTTC AAGTGCAGAT TTTCAGCTTC CTGCTAATCA GTGCCTCAGT
 51 CATAGTGTCC AGAGGGGCAA TGTGTTCTCAC CCAGTCTCCA ACAATCGTGT
 101 CTGCATCTCC AGGGGAGAAG GTCACCCTAA TCTGCAGTGC CAGTTCAAGT
 151 GTAAGTTTCG TGGACTGGTT CCAGCAGAAG CCAGGCACTT CTCCCAAACG
 201 CTGGATTTAC AGAACATCCA ACCTGGGTTT TGGAGTCCCT GCTCGCTTCA
 251 GTGGCGGTGG ATCTGGGACC TCTCACTCTC TCACAATCAG CCGAATGGAG
 301 GCTGAAGATG CTGCCACTTA TTACTGCCAG CAAAGGAGTA CTTACCCACC
 351 CACGTTCCGT GCTGGGACCA AGCTGGAAGT GAAACGGGCT GATGCTGCAC
 401 CAACTGTATC CATCTTCCCA CCATCCAGTG AGCAGTTAAC ATCTGGAGGT
 451 GCCTCAGTCG TGTGCTTCTT GAACAACTTC TACCCCAAAG ACATCAATGT
 501 CAAGTGGAAG ATTGATGGCA GTGAACGACA AAATGGCGTC CTGAACAGTT
 551 GGAAGTATCA GGACAGCAAA GACAGCACCT ACAGCATGAG CAGCACCCCTC
 601 ACGTTGACCA AGGACGAGTA TGAACGACAT AACAGCTATA CCTGTGAGGC
 651 CACTCACAAG ACATCAACTT CACCCATTGT CAAGAGCTTC AACAGGAATG
 701 AGTGTTAG (配列番号 34)

10

【0 1 3 9】

Ab-B重鎖

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-B HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 3 3】

1 QVTLKESGPG ILQPSQTL~~SL~~ TCSFSGFSL~~S~~ ~~TSGMGV~~GWIR HPSGKNLEWL
 51 ~~AHIWWD~~DV~~KR~~ ~~YNPVLK~~SRLT ISKDTSNSQV FLKIANVDTA DTATYYCARI
 101 ~~EDEFDY~~DEEY~~Y~~ ~~AMDYWG~~Q~~TS~~ VIVSSAKTTP ~~PSVYPL~~APGS ~~AAQTNS~~MVTL
 151 ~~GCLVKGY~~FPE ~~PVTVTW~~NSGS ~~LSSGVHT~~FPA ~~VLQSDLY~~TLS ~~SSVTVP~~SSTW
 201 ~~PSETVT~~CNVA ~~HPASST~~KVDK ~~KIVPRD~~CGCK ~~PCICTV~~PEVS ~~SVFI~~FPKPK
 251 ~~DVLTIT~~LTPK ~~VTCVVV~~DISK ~~DDPEVQ~~FSWF ~~VDDVEV~~H~~TAQ~~ ~~TQPREE~~QFNS
 301 ~~TFRSVS~~ELPI ~~MHQDWL~~NGKE ~~FKCRVN~~SAAF ~~PAPIEKT~~ISK ~~TKGRPK~~APQV
 351 ~~YTIPPP~~KEQM ~~AKDKVS~~LTCM ~~ITDFFP~~EDIT ~~VEWQWN~~GQPA ~~ENYKNT~~QPI~~M~~
 401 ~~DTDGSY~~FEVYS ~~KLNVQK~~SNWE ~~AGNTFT~~CSVL ~~HEGLHN~~H~~HTE~~ ~~KSLSHS~~PGK (配列
 番号 35)

20

30

【0 1 4 0】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-B HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 3 4】

```

1 CAGGTTACTC TGAAAGAGTC TGGCCCTGGG ATATTGCAGC CCTCCCAGAC
51 CCTCAGTCTG ACTTGTTCTT TCTCTGGGTT TTCACTGAGC ACTTCTGGTA
101 TGGGTGTAGG CTGGATTCTG CACCCATCAG GGAAGAATCT GGAGTGGCTG
151 GCACACATTT GGTGGGATGA TGTCAAGCGC TATAACCCAG TCCTGAAGAG
201 CCGACTGACT ATCTCCAAGG ATACCTCCAA CAGCCAGGTA TTCCTCAAGA
251 TCGCCAATGT GGACACTGCA GATACTGCCA CATACTACTG TGCTCGAATA
301 GAGGACTTTG ATTACGACGA GGAGTATTAT GCTATGGACT ACTGGGGTCA
351 AGGAACCTCA GTCATCGTCT CCTCAGCCAA AACGACACCC CCATCTGTCT
401 ATCCACTGGC CCCTGGATCT GCTGCCCAA CTAACCTCCAT GGTGACCCTG
451 GGATGCCTGG TCAAGGGCTA TTTCCCTGAG CCAGTGACAG TGACCTGGAA
501 CTCTGGATCC CTGTCCAGCG GTGTGCACAC CTTCCCAGCT GTCCTGCAGT
551 CTGACCTCTA CACTCTGAGC AGCTCAGTGA CTGTCCCCTC CAGCACCTGG
601 CCCAGCGAGA CCGTCACCTG CAACGTTGCC CACCCGGCCA GCAGACCCAA
651 GGTGGACAAG AAAATTGTGC CCAGGGATTG TGGTTGTAAG CCTTGCAATAT
701 GTACAGTCCC AGAAGTATCA TCTGTCTTCA TCTTCCCCCC AAAGCCCAAG
751 GATGTGCTCA CCATTACTCT GACTCCTAAG GTCACGTGTG TTGTGGTAGA
801 CATCAGCAAG GATGATCCCG AGGTCCAGTT CAGCTGGTTT GTAGATGATG
851 TGGAGGTGCA CACAGCTCAG ACGCAACCCC GGGAGGAGCA GTTCAACAGC
901 ACTTTCCGCT CAGTCAGTGA ACTTCCCATC ATGCACCAGG ACTGGCTCAA
951 TGGCAAGGAG TTCAAATGCA GGGTCAACAG TGCAGCTTTC CCTGCCCCCA
1001 TCGAGAAAAC CATCTCCAAA ACCAAAGGCA GACCGAAGGC TCCACAGGTG
1051 TACACCATTC CACCTCCCAA GGAGCAGATG GCCAAGGATA AAGTCAGTCT
1101 GACCTGCATG ATAACAGACT TCTTCCCTGA AGACATTACT GTGGAGTGGC
1151 AGTGAATGG GCAGCCAGCG GAGAACTACA AGAACACTCA GCCCATCATG
1201 GACACAGATG GCTCTTACTT CGTCTACAGC AAGCTCAATG TGCAGAAGAG
1251 CAACTGGGAG GCAGGAAATA CTTTCACCTG CTCTGTGTTA CATGAGGGCC
1301 TGCACAACCA CCATACTGAG AAGAGCCTCT CCCACTCTCC TGGTAAATGA (配

```

10

20

列番号 36)

【0 1 4 1】

シグナルペプチドを含めたAb-B HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 3 5】

```

1 MGRLTSSFLL LIVPAYVLSQ VTLKESGPGI LQPSQTLST CSFSGFSLST
51 SGMGVGWIRH PSGKNLEWLA HIWDDVKRY NPVLKSRLTI SKDTSNSQVF
101 LKIANVDTAD TATYYCARIE DFDYDEEYYA MDYWGQGTSV IVSSAKTTPP
151 SVYPLAPGSA AQTNSMVTLG CLVKGYFPEP VTVTWNSGSL SSGVHTFPAV
201 LQSDLYTLSS SVTVPSSTWP SETVTCNVAH PASSTKVDKK IVPRDCGCKP
251 CICTVPEVSS VFIFPPKPKD VLTITLTPKV TCVVVDISKD DPEVQFSWFV
301 DDVEVHTAQT QPREEQFNST FRSVSELPIM HQDWLNGKEF KCRVNSAAFP
351 APIEKTISKI KGRPKAPQVY TIPPPKEQMA KDKVSLTCMI TDFEPEDITV
401 EWQWNGQPAE NYKNTQPIMD TDGSYFVYSK LNVQKSNWEA GNTFTCSVLH
451 EGLHNHHTTEK SLSHSPGK (配列番号 37)

```

40

【0 1 4 2】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-B HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 3 6】

```

1  ATGGGCAGGC  TTACTTCTTC  ATTCCTGCTA  CTGATTGTCC  CTGCATATGT
51  CCTGTCCCAG  GTTACTCTGA  AAGAGTCTGG  CCCTGGGATA  TTGCAGCCCT
101  CCCAGACCCT  CAGTCTGACT  TGTTCCTTCT  CTGGGTTTTT  ACTGAGCACT
151  TCTGGTATGG  GTGTAGGCTG  GATTCGTCAC  CCATCAGGGA  AGAATCTGGA
201  GTGGCTGGCA  CACATTGGGT  GGGATGATGT  CAAGCGCTAT  AACCCAGTCC
251  TGAAGAGCCG  ACTGACTATC  TCCAAGGATA  CCTCCAACAG  CCAGGTATTC
301  CTCAAGATCG  CCAATGTGGA  CACTGCAGAT  ACTGCCACAT  ACTACTGTGC
351  TCGAATAGAG  GACTTTGATT  ACGACGAGGA  GTATTATGCT  ATGGACTACT
401  GGGGTCAAGG  AACCTCAGTC  ATCGTCTCCT  CAGCCAAAAC  GACACCCCCA
451  TCTGTCTATC  CACTGGCCCC  TGGATCTGCT  GCCCAAATA  ACTCCATGGT
501  GACCCTGGGA  TGCCTGGTCA  AGGGCTATTT  CCCTGAGCCA  GTGACAGTGA
551  CCTGGAAGTC  TGGATCCCTG  TCCAGCGGTG  TGCACACCTT  CCCAGCTGTC
601  CTGCAGTCTG  ACCTCTACAC  TCTGAGCAGC  TCAGTGACTG  TCCCCCTCCAG
651  CACCTGGCCC  AGCGAGACCG  TCACCTGCAA  CGTTGCCAC  CCGGCCAGCA
701  GCACCAAGGT  GGACAAGAAA  ATTGTGCCA  GGGATTGTGG  TTGTAAGCCT
751  TGCATATGTA  CAGTCCCAGA  AGTATCATCT  GTCTTCATCT  TCCCCCCTAA
801  GCCCAAGGAT  GTGCTCACCA  TTACTCTGAC  TCCTAAGGTC  ACGTGTGTTG
851  TGGTAGACAT  CAGCAAGGAT  GATCCCGAGG  TCCAGTTCAG  CTGGTTTGTA
901  GATGATGTGG  AGGTGCACAC  AGCTCAGACG  CAACCCCGGG  AGGAGCAGTT
951  CAACAGCACT  TTCCGCTCAG  TCAGTGAAGT  TCCCATCATG  CACCAGGACT
1001  GGCTCAATGG  CAAGGAGTTC  AAATGCAGGG  TCAACAGTGC  AGCTTTCCTT
1051  GCCCCCATCG  AGAAAACCAT  CTCCAAAACC  AAAGGCAGAC  CGAAGGCTCC
1101  ACAGGTGTAC  ACCATTCCAC  CTCCCAAGGA  GCAGATGGCC  AAGGATAAAG
1151  TCAGTCTGAC  CTGCATGATA  ACAGACTTCT  TCCCTGAAGA  CATTACTGTG
1201  GAGTGGCAGT  GGAATGGGCA  GCCAGCGGAG  AACTACAAGA  AACTCAGCC
1251  CATCATGGAC  ACAGATGGCT  CTTACTTCGT  CTACAGCAAG  CTCAATGTGC
1301  AGAAGAGCAA  CTGGGAGGCA  GGAAATACTT  TCACCTGCTC  TGTGTTACAT
1351  GAGGGCCTGC  ACAACCACCA  TACTGAGAAG  AGCCTCTCCC  ACTCTCCTGG
1401  TAAATGA (配列番号 38)

```

10

20

【0 1 4 3】

30

本明細書で開示される抗体は、ヒトスクレロステチンの領域に結合し、この領域は、そのタンパク質の *in vivo* 活性にとって重要である。スクレロステチンに対する抗体の結合は、例えば、実施例5および9(マウス)ならびに実施例12(サル)に記載されている *in vivo* での抗体の使用によって達成される、例えば骨密度の増大と関連し得る。骨形成、骨塩量、骨量、骨質、および骨強度のうちの少なくとも1つの増大も、例えば、実施例5および9(マウス)ならびに実施例12(サル)に記載されている *in vivo* での抗体の使用によって達成することができる。スクレロステチンに対する抗体の結合はそのCDR配列によって主に決定されるので、本発明を実施するための抗体は、適切なフレームワーク中で開示したCDR配列のすべてまたは一部を用いて作製してよく、この抗体は、スクレロステチンに特異的に結合する能力を保持し、例えば骨密度の増大を達成することを期待することができる。このような抗体は、低骨形成、低骨密度、低骨塩量、低骨量、低骨質、および低骨強度のうちの少なくとも1つによって引き起こされる、それに伴う、またはそれをもたらすヒトまたは動物の状態の治療に有用である。本発明のCDRを含む抗体およびそのフラグメントを構築し発現させる方は、当業者に知られている。

40

【0 1 4 4】

したがって、本発明は、一実施形態では、スクレロステチンに特異的に結合するAb-Aを含めた単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントに関し、この重鎖の可変ドメインは、CDR-H1に関する配列番号51、CDR-H2に関する配列番号52、およびCDR-H3に関する配列番号53で示される配列を有する少なくとも1種のCDRを含む。抗体またはその抗原結合性フラグメントは、CDRが、CDR-H1に関する配列番号51、CDR-H2に関する配列番号52、およびC

50

DR-H3に関する配列番号53のペプチドのうちの少なくとも1つからなる重鎖可変ドメインを含んでよい。

【0145】

本発明の抗体に軽鎖が存在する場合、この軽鎖は、任意の適当な相補鎖であってよく、特に、可変ドメインが、CDR-L1に関する配列番号54、CDR-L2に関する配列番号55、およびCDR-L3に関する配列番号56で示される配列を有する少なくとも1種のCDRを含む軽鎖から選択してよい。この抗体またはその抗原結合性フラグメントは、CDRが、CDR-L1に関する配列番号54、CDR-L2に関する配列番号55、およびCDR-L3に関する配列番号56のペプチドのうちの少なくとも1つからなる軽鎖可変ドメインを含んでよい。

【0146】

本発明はさらに、スクレロスチンに特異的に結合するAb-Bを含めた単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントに関し、この重鎖の可変ドメインは、CDR-H1に関する配列番号57、CDR-H2に関する配列番号58、およびCDR-H3に関する配列番号59で示される配列を有する少なくとも1種のCDRを含む。抗体またはその抗原結合性フラグメントは、CDRが、CDR-H1に関する配列番号57、CDR-H2に関する配列番号58、およびCDR-H3に関する配列番号59のペプチドのうちの少なくとも1つからなる重鎖可変ドメインを含んでよい。

【0147】

本発明の抗体に軽鎖が存在する場合、この軽鎖は、任意の適当な相補鎖であってよく、特に、可変ドメインが、CDR-L1に関する配列番号60、CDR-L2に関する配列番号61、およびCDR-L3に関する配列番号62で示される配列を有する少なくとも1種のCDRを含む軽鎖から選択してよい。この抗体またはその抗原結合性フラグメントは、CDRが、CDR-L1に関する配列番号60、CDR-L2に関する配列番号61、およびCDR-L3に関する配列番号62のペプチドのうちの少なくとも1つからなる軽鎖可変ドメインを含んでよい。

【0148】

本発明はさらに、スクレロスチンに特異的に結合するAb-Cを含めた単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントに関し、この重鎖の可変ドメインは、CDR-H1に関する配列番号45、CDR-H2に関する配列番号46、およびCDR-H3に関する配列番号47で示される配列を有する少なくとも1種のCDRを含む。抗体またはその抗原結合性フラグメントは、CDRが、CDR-H1に関する配列番号45、CDR-H2に関する配列番号46、およびCDR-H3に関する配列番号47のペプチドのうちの少なくとも1つからなる重鎖可変ドメインを含んでよい。

【0149】

本発明の抗体に軽鎖が存在する場合、この軽鎖は、任意の適当な相補鎖であってよく、特に、可変ドメインが、CDR-L1に関する配列番号48、CDR-L2に関する配列番号49、およびCDR-L3に関する配列番号50で示される配列を有する少なくとも1種のCDRを含む軽鎖から選択してよい。この抗体またはその抗原結合性フラグメントは、CDRが、CDR-L1に関する配列番号48、CDR-L2に関する配列番号49、およびCDR-L3に関する配列番号50のペプチドのうちの少なくとも1つからなる軽鎖可変ドメインを含んでよい。

【0150】

本発明はまた、スクレロスチンに特異的に結合するAb-Dを含めた単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントに関し、この重鎖の可変ドメインは、CDR-H1に関する配列番号39、CDR-H2に関する配列番号40、およびCDR-H3に関する配列番号41で示される配列を有する少なくとも1種のCDRを含む。抗体またはその抗原結合性フラグメントは、CDRが、CDR-H1に関する配列番号39、CDR-H2に関する配列番号40、およびCDR-H3に関する配列番号41のペプチドのうちの少なくとも1つからなる重鎖可変ドメインを含んでよい。

【0151】

本発明の抗体に軽鎖が存在する場合、この軽鎖は、任意の適当な相補鎖であってよく、特に、可変ドメインが、CDR-L1に関する配列番号42、CDR-L2に関する配列番号43、およびCDR-L3に関する配列番号44で示される配列を有する少なくとも1種のCDRを含む軽鎖から選択してよい。この抗体またはその抗原結合性フラグメントは、CDRが、CDR-L1に関する配列番号42、CDR-L2に関する配列番号43、およびCDR-L3に関する配列番号44のペプチドのう

10

20

30

40

50

ちの少なくとも1つからなる軽鎖可変ドメインを含んでよい。

【0152】

追加の抗スクロスチン抗体を以下に記載する。アミノ酸配列の一部について、相補性決定領域(CDR)は網掛けとし、定常領域は太字のイタリックで示す。

【0153】

Ab-2

抗体2 (Ab-2とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである：

Ab-2 軽鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-2 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化37】

1 QIVLSQSPAILSTSPGEKVT MTCRASSSVY YMH~~WYQQKPG~~ SSPKPWIYAT
51 ~~SNLASGVPVR~~ FSGSGSGTSY SLTITRVEAE DAATYYC~~QQW~~ SSDPLTFGAG
101 TKLELKRADA *APTVSIFPPS* *SEQLTSGGAS* *VVCFLNNFYP* *KDINVKWKID*
151 *GSERQNGVLN* *SWTDQDSKDS* *TYSMSSTLIL* *TKDEYERHNS* *YTCEATHKTS*
201 *TSPIVKSFNR* *NEC* (配列番号 117)

10

【0154】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-2 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化38】

1 CAAATTGTTC TCTCCCAGTC TCCAGCAATC CTGTCTACAT CTCCAGGGGA
51 GAAGGTCACA ATGACTTGCA GGGCCAGCTC AAGTGTATAT TACATGCACT
101 GGTACCAGCA GAAGCCAGGA TCCTCCCCCA AACCTGGAT TTATGCCACA
151 TCCAACCTGG CTTCTGGAGT CCCTGTTTCG CTTAGTGGCA GTGGGTCTGG
201 GACCTCTTAC TCTCTCACAA TCACCAGAGT GGAGGCTGAA GATGCTGCCA
251 CTTATTACTG CCAGCAGTGG AGTAGTGACC CACTCACGTT CGGTGCTGGG
301 ACCAAGCTGG AGCTGAAACG GGCTGATGCT GCACCAACTG TATCCATCTT
351 CCCACCATCC AGTGAGCAGT TAACATCTGG AGGTGCCTCA GTCGTGTGCT
401 TCTTGAACAA CTTCTACCCC AAAGACATCA ATGTCAAGTG GAAGATTGAT
451 GGCAGTGAAC GACAAAATGG CGTCCTGAAC AGTTGGACTG ATCAGGACAG
501 CAAAGACAGC ACCTACAGCA TGAGCAGCAC CCTCACGTTG ACCAAGGACG
551 AGTATGAACG ACATAACAGC TATACCTGTG AGGCCACTCA CAAGACATCA
601 ACTTCACCCA TTGTCAAGAG CTTCAACAGG AATGAGTGTT AG (配列番号 118)

20

30

【0155】

シグナルペプチドを含めたAb-2 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化39】

1 MDFQVQIFS LLISASVIMS RGQIVLSQSP AILSTSPGEK VTMTCRASSS
51 VYYMH~~WYQQK~~ PGSSPKPWIY ATSNLASGVP VRFSGSGSGT SYSLTITRVE
101 AEDAATYYCQ QWSSDPLTFG AGTKLELKRA DAAPTVSIFP PSSEQLTSGG
151 ASVVCFLNNF YPKDINVKWK IDGSERQNGV LNSWTDQDSK DSTYSMSSTL
201 TLTKDEYERH NSYTCEATHK TSTSPIVKSF NRNEC (配列番号 119)

40

【0156】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-2 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 4 0】

1 ATGGATTTTC AAGTGCAGAT TTTCAGCTTC CTGCTAATCA GTGCTTCAGT
 51 CATTATGTCC AGGGGACAAA TTGTTCTCTC CCAGTCTCCA GCAATCCTGT
 101 CTACATCTCC AGGGGAGAAG GTCACAATGA CTTGCAGGGC CAGCTCAAGT
 151 GTATATTACA TGCACTGGTA CCAGCAGAAG CCAGGATCCT CCCCCAAACC
 201 CTGGATTTAT GCCACATCCA ACCTGGCTTC TGGAGTCCCT GTTCGCTTCA
 251 GTGGCAGTGG GTCTGGGACC TCTTACTCTC TCACAATCAC CAGAGTGGAG
 301 GCTGAAGATG CTGCCACTTA TTA CTGCCAG CAGTGGAGTA GTGACCCACT
 351 CACGTTCGGT GCTGGGACCA AGCTGGAGCT GAAACGGGCT GATGCTGCAC
 401 CAACTGTATC CATCTTCCCA CCATCCAGTG AGCAGTTAAC ATCTGGAGGT
 451 GCCTCAGTCG TGTGCTTCTT GAACAACCTC TACCCCAAAG ACATCAATGT
 501 CAAGTGGAAG ATTGATGGCA GTGAACGACA AAATGGCGTC CTGAACAGTT
 551 GGACTGATCA GGACAGCAAA GACAGCACCT ACAGCATGAG CAGCACCCCTC
 601 ACGTTGACCA AGGACGAGTA TGAACGACAT AACAGCTATA CCTGTGAGGC
 651 CACTCACAAG ACATCAACTT CACCCATTGT CAAGAGCTTC AACAGGAATG
 701 AGTGTTAG (配列番号 120)

10

【 0 1 5 7】

Ab-2 重鎖

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-2 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 4 1】

20

1 EVQVQQSGPE LVKPGASVKL SCTASGFNIK **DYFIHWVKQR** PEQGLEWIGR
 51 **LDPEDGESDY** **APKFQDKAIM** TADTSSNTAY LQLRSLTSED TAIYYCERED
 101 **YDGTYTEFPY** WGQGT LVTVS **AAKTTPPSVY** **PLAPGSAAQT** NSMVTLGCLV
 151 **KGYFPEPVTV** **TWNSGSLSSG** **VHTFPAVLQS** **DLYTLSSSVT** **VPSSTWPSET**
 201 **VTCNVAHPAS** **STKVDKKIVP** **RDCGCKPCIC** **TVPEVSSVFI** **FPPKPKDVL**
 251 **ITLTPKVTCV** **VVDISKDDPE** **VQFSWFVDDV** **EVHTAQQTQPR** **EEQFNSTFRS**
 301 **VSELPIMHQD** **WLNGKEFKCR** **VNSAAFPAPI** **EKTISKTKGR** **PKAPQVYTIP**
 351 **PPKEQMAKDK** **VSLTCMITDF** **FPEDITVEWQ** **WNGQPAENYK** **NTQPIMDTDG**
 401 **SYFIYSKLVN** **QKSNWEAGNT** **FTCSVLHEGL** **HNHHTTEKSLS** **HSPGK** (配列番号
 121)

30

【 0 1 5 8】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-2 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 4 2】

1 GAGGTTTCAGG TGCAGCAGTC TGGGCCAGAA CTTGTGAAGC CAGGGGGCCTC
51 AGTCAAGTTG TCCTGCACAG CTTCTGGCTT CAACATTAAA GACTACTTTA
101 TACACTGGGT GAAGCAGAGG CCTGAACAGG GCCTGGAGTG GATTGGAAGG
151 CTTGATCCTG AGGATGGTGA AAGTGATTAT GCCCCGAAGT TCCAGGACAA
201 GGCCATTATG ACAGCAGACA CATCATCCAA CACAGCCTAT CTTCAGCTCA
251 GAAGCCTGAC ATCTGAGGAC ACTGCCATCT ATTATTGTGA GAGAGAGGAC
301 TACGATGGTA CCTACACCTT TTTTCCTTAC TGGGGCCAAG GGACTCTGGT
351 CACTGTCTCT GCAGCCAAAA CGACACCCCC ATCTGTCTAT CCACTGGCCC
401 CTGGATCTGC TGCCCCAACT AACTCCATGG TGACCCTGGG ATGCCTGGTC
451 AAGGGCTATT TCCCTGAGCC AGTGACAGTG ACCTGGAACCT CTGGATCCCT
501 GTCCAGCGGT GTGCACACCT TCCCAGCTGT CCTGCAGTCT GACCTCTACA
551 CTCTGAGCAG CTCAGTGACT GTCCCCTCCA GCACCTGGCC CAGCGAGACC
601 GTCACCTGCA ACGTTGCCCA CCCGGCCAGC AGCACCAAGG TGGACAAGAA
651 AATTGTGCCC AGGGATTGTG GTTGTAAGCC TTGCATATGT ACAGTCCCAG
701 AAGTATCATC TGTCTTCATC TTCCCCCCAA AGCCCAAGGA TGTGCTCACC
751 ATTACTCTGA CTCCTAAGGT CACGTGTGTT GTGGTAGACA TCAGCAAGGA
801 TGATCCCGAG GTCCAGTTCA GCTGGTTTGT AGATGATGTG GAGGTGCACA
851 CAGCTCAGAC GCAACCCCGG GAGGAGCAGT TCAACAGCAC TTTCCGCTCA
901 GTCAGTGAAC TTCCCATCAT GCACCAGGAC TGGCTCAATG GCAAGGAGTT
951 CAAATGCAGG GTCAACAGTG CAGCTTTCCC TGCCCCCATC GAGAAAACCA
1001 TCTCCAAAAC CAAAGGCAGA CCGAAGGCTC CACAGGTGTA CACCATTCCA
1051 CCTCCCAAGG AGCAGATGGC CAAGGATAAA GTCAGTCTGA CCTGCATGAT
1101 AACAGACTTC TTCCCTGAAG ACATTACTGT GGAGTGGCAG TGGAATGGGC
1151 AGCCAGCGGA GAACTACAAG AACACTCAGC CCATCATGGA CACAGATGGC
1201 TCTTACTTCA TCTACAGCAA GCTCAATGTG CAGAAGAGCA ACTGGGAGGC
1251 AGGAAATACT TTCACCTGCT CTGTGTTACA TGAGGGCCTG CACAACCACC
1301 ATACTGAGAA GAGCCTCTCC CACTCTCCTG GTAAATGA (配列番号 122)

10

20

【0 1 5 9】

シグナルペプチドを含めたAb-2 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 4 3】

1 MKCSWVIFFL MAVVTGVNSE VQVQQSGPEL VKPGASVKLS CTASGFNIKD
51 YFIHWVKQRP EQGLEWIGRL DPEDGESDYA PKFQDKAIMT ADTSSNTAYL
101 QLRLTSEDY AIYYCEREDY DGTYTEFFPYW GQGLVTVSA AKTTPPSVYP
151 LAPGSAAQTN SMVTLGCLVK GYFPEPVTVT WNSGSLSSGV HTFPAVLQSD
201 LYTLSSSVTV PSSTWPSETV TCNVAHPASS TKVDKKIVPR DCGCKPCICT
251 VPEVSSVFIF PPKPKDVLTI TLTPKVTCVV VDISKDDPEV QFSWFVDDVE
301 VHTAQTPRE EQFNSTFRSV SELPIMHQDW LNGKEFKCRV NSAAFPAPIE
351 KTISKTKGRP KAPQVYTIPP PKEQMAKDKV SLTCMITDFP PEDITVEWQW
401 NGQPAENYKN TQPIMDTDGS YFIYSKLVNQ KSNWEAGNTF TCSVLHEGLH
451 NHHTEKSLSH SPGK (配列番号 123)

40

【0 1 6 0】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-2 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 4 4】

1 ATGAAATGCA GCTGGGTCAT CTTCTTCCTG ATGGCAGTGG TTACAGGGGT
 51 CAATTCAGAG GTTCAGGTGC AGCAGTCTGG GCCAGAACTT GTGAAGCCAG
 101 GGGCCTCAGT CAAGTTGTCC TGCACAGCTT CTGGCTTCAA CATTAAAGAC
 151 TACTTTATAC ACTGGGTGAA GCAGAGGCCT GAACAGGGCC TGGAGTGGAT
 201 TGGGAAGGCTT GATCCTGAGG ATGGTGAAAG TGATTATGCC CCGAAGTTCC
 251 AGGACAAGGC CATTATGACA GCAGACACAT CATCCAACAC AGCCTATCTT
 301 CAGCTCAGAA GCCTGACATC TGAGGACACT GCCATCTATT ATTGTGAGAG
 351 AGAGGACTAC GATGGTACCT ACACCTTTTT TCCTTACTGG GGCCAAGGGA
 401 CTCTGGTCAC TGTCTCTGCA GCCAAAACGA CACCCCATC TGTCTATCCA
 451 CTGGCCCCTG GATCTGCTGC CCAAATAAC TCCATGGTGA CCCTGGGATG
 501 CCTGGTCAAG GGCTATTTCC CTGAGCCAGT GACAGTGACC TGGAAGTCTG
 551 GATCCCTGTC CAGCGGTGTG CACACCTTCC CAGCTGTCCT GCAGTCTGAC
 601 CTCTACACTC TGAGCAGCTC AGTGACTGTC CCCTCCAGCA CCTGGCCCAG
 651 CGAGACCGTC ACCTGCAACG TTGCCACCCC GGCCAGCAGC ACCAAGGTGG
 701 ACAAGAAAAT TGTGCCCAGG GATTGTGGTT GTAAGCCTTG CATATGTACA
 751 GTCCCAGAAG TATCATCTGT CTTTCATCTT CCCCCAAAGC CCAAGGATGT
 801 GCTCACCATT ACTCTGACTC CTAAGGTCAC GTGTGTTGTG GTAGACATCA
 851 GCAAGGATGA TCCCGAGGTC CAGTTCAGCT GGTTTGTAGA TGATGTGGAG
 901 GTGCACACAG CTCAGACGCA ACCCCGGGAG GAGCAGTTCA ACAGCACTTT
 951 CCGCTCAGTC AGTGAAGTTC CCATCATGCA CCAGGACTGG CTCAATGGCA
 1001 AGGAGTTCAA ATGCAGGGTC AACAGTGCAG CTTTCCCTGC CCCCATCGAG
 1051 AAAACCATCT CCAAAACCAA AGGCAGACCG AAGGCTCCAC AGGTGTACAC
 1101 CATTCCACCT CCAAGGAGC AGATGGCCAA GGATAAAGTC AGTCTGACCT
 1151 GCATGATAAC AGACTTCTTC CCTGAAGACA TTAAGTGTGA GTGGCAGTGG
 1201 AATGGGCAGC CAGCGGAGAA CTACAAGAAC ACTCAGCCCA TCATGGACAC
 1251 AGATGGCTCT TACTTCATCT ACAGCAAGCT CAATGTGCAG AAGAGCAACT
 1301 GGGAGGCAGG AAATACTTTC ACCTGCTCTG TGTTACATGA GGGCCTGCAC
 1351 AACCACCATA CTGAGAAGAG CCTCTCCAC TCTCCTGGTA AATGA (配列番
 号 124)

10

20

30

【0 1 6 1】

Ab-3

抗体3 (本明細書ではAb-3とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである。

【0 1 6 2】

Ab-3 軽鎖

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-3 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 4 5】

1 EIVLTQSPAL MAASPGEKVT ITCVSSSTIS SNHLHWFQKK SDTSPKPWIY
 51 GTSNLAGVVP VRFSGSGSGT SYSLTISSME AEDAATYYCQ QWSSYPLTFG
 101 AGTKLELRRA **DAAPTYSIFP PSSEQLTSGG ASVVCFLNNF YPKDINVKWK**
 151 **IDGSERQNGV LNSWTDQDSK DSTYSMSSTL TLTKDEYERH NSYTCEATHK**
 201 **TSTSPIVKSF NRNEC** (配列番号 125)

40

【0 1 6 3】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-3 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 4 6】

1 GAAATTGTGC TCACCCAGTC TCCAGCACTC ATGGCTGCAT CTCCGGGGGA
 51 GAAGGTCACC ATCACCTGCA GTGTCAGTTC AACTATAAGT TCCAACCACT
 101 TGCACCTGGT CCAGCAGAAG TCAGACACCT CCCCCAAACC CTGGATTTAT
 151 GGCACATCCA ACCTGGCTTC TGGAGTCCCT GTTCGCTTCA GTGGCAGTGG
 201 ATCTGGGACC TCTTATTCTC TCACAATCAG CAGCATGGAG GCTGAGGATG
 251 CTGCCACTTA TTA CTGTCAA CAGTGGAGTA GTTACCCACT CACGTTCCGGC
 301 GCTGGGACCA AGCTGGAGCT GAGACGGGCT GATGCTGCAC CAACTGTATC
 351 CATCTTCCCA CCATCCAGTG AGCAGTTAAC ATCTGGAGGT GCCTCAGTCG
 401 TGTGCTTCTT GAACAACCTC TACCCCAAAG ACATCAATGT CAAGTGGAAG
 451 ATTGATGGCA GTGAACGACA AAATGGCGTC CTGAACAGTT GGACTGATCA
 501 GGACAGCAAA GACAGCACCT ACAGCATGAG CAGCACCCCTC ACGTTGACCA
 551 AGGACGAGTA TGAACGACAT AACAGCTATA CCTGTGAGGC CACTCACAAG
 601 ACATCAACTT CACCCATTGT CAAGAGCTTC AACAGGAATG AGTGTTAG (配列
 番号 126)

10

【 0 1 6 4】

シグナルペプチドを含めたAb-3 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 4 7】

1 MDFHVQIFSF MLISVTVILS SGEIVLTQSP ALMAASPGEK VTITCSVSST
 51 ISSNHLHWFQ QKSDTSPKPW IYGTSNLAG VPVRFSGSGS GTSYSLTISS
 101 MEAEDAATYY CQWSSYPLT FGAGTKLELR RADAAPT VSI FPPSSEQLTS
 151 GGASVVCFLN NFYPKDINVK WKIDGSE RQN GVLNSWTDQD SKDSTYSMSS
 201 TLTLTKDEYE RHNSYTCEAT HKTSTSPIVK SFNRNEC (配列番号 127)

20

【 0 1 6 5】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-3 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 4 8】

1 ATGGATTTTC ATGTGCAGAT TTT CAGCTTC ATGCTAATCA GTGTCACAGT
 51 CATTTTGTCC AGTGGAGAAA TTGTGCTCAC CCAGTCTCCA GCACTCATGG
 101 CTGCATCTCC GGGGGAGAAAG GTCACCATCA CCTGCAGTGT CAGTTCAACT
 151 ATAAGTTCCA ACCACTTGCA CTGGTTCCAG CAGAAGTCAG ACACCTCCCC
 201 CAAACCCTGG ATTTATGGCA CATCCAACCT GGCTTCTGGA GTCCCTGTTC
 251 GCTTCAGTGG CAGTGGATCT GGGACCTCTT ATTCTCTCAC AATCAGCAGC
 301 ATGGAGGCTG AGGATGCTGC CACTTATTAC TGTCAACAGT GGAGTAGTTA
 351 CCCACTCACG TTCGGCGCTG GGACCAAGCT GGAGCTGAGA CGGGCTGATG
 401 CTGCACCAAC TGTATCCATC TTCCCACCAT CCAGTGAGCA GTTAACATCT
 451 GGAGGTGCCT CAGTCGTGTG CTTCTTGAAC AACTTCTACC CCAAAGACAT
 501 CAATGTCAAG TGGAAGATTG ATGGCAGTGA ACGACAAAAT GGCGTCCTGA
 551 ACAGTTGGAC TGATCAGGAC AGCAAAGACA GCACCTACAG CATGAGCAGC
 601 ACCCTCACGT TGACCAAGGA CGAGTATGAA CGACATAACA GCTATACCTG
 651 TGAGGCCACT CACAAGACAT CAACTTCACC CATTGTCAAG AGCTTCAACA
 701 GGAATGAGTG TTAG (配列番号 128)

30

40

【 0 1 6 6】

Ab-3 重鎖

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-3 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 4 9】

1 EVQLQQSGAE LVRPGALVKL SCTASDFNIK DFYLHWMRQR PEQGLDWIGR
 51 IDPENGDTILY DPKFQDKATL TTDTSNTAY LQLSGLTSET TAVYYCSREA
 101 DYFHDGTSYW YFDVWGAGTT ITVSSAKTTP PSVYPLAPGS AAQTNSMVTL
 151 GCLVKGYFPE PVTVTWNSGS LSSGVHTFPA VLQSDLYTLS SSVTVPSSTW
 201 PSETVTCNVA HPASSTKYDK KIVPRDCGCK PCICTVPEVS SVFIFPPKPK
 251 DVLITITLTPK VTCVVVDISK DDPEVQFSWF VDDVEVHTAQ TQPREEQFNS
 301 TFRSVSELPI MHQDWLNGKE FKCRVNSAAF PAPIEKTISK TKGRPKAPQV
 351 YTIPPPKEQM AKDKVSLTCM ITDFFPEDIT VEWQWNGQPA ENYKNTQPM
 401 DTDGSYFIYS KLVNQKSNWE AGNTFTCSVL HEGLHNHTE KSLSHSPGK (配列
 番号 129)

10

【0 1 6 7】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-3 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 5 0】

1 GAGGTTTCAGC TGCAGCAGTC TGGGGCTGAA CTTGTGAGGC CAGGGGCCTT
 51 AGTCAAGTTG TCCTGCACAG CTTCTGACTT CAACATTAAA GACTTCTATC
 101 TACACTGGAT GAGGCAGCGG CCTGAACAGG GCCTGGACTG GATTGGAAGG
 151 ATTGATCCTG AGAATGGTGA TACTTTATAT GACCCGAAGT TCCAGGACAA
 201 GGCCACTCTT ACAACAGACA CATCCTCCAA CACAGCCTAC CTGCAGCTCA
 251 GCGGCCTGAC ATCTGAGACC ACTGCCGTCT ATTACTGTTC TAGAGAGGCG
 301 GATTATTTCC ACGATGGTAC CTCCTACTGG TACTTCGATG TCTGGGGCGC
 351 AGGGACCACA ATCACCGTCT CCTCAGCCAA AACGACACCC CCATCTGTCT
 401 ATCCACTGGC CCCTGGATCT GCTGCCCAA CTAACCTCCAT GGTGACCCTG
 451 GGATGCCTGG TCAAGGGCTA TTTCCCTGAG CCAGTGACAG TGACCTGGAA
 501 CTCTGGATCC CTGTCCAGCG GTGTGCACAC CTTCCCAGCT GTCCTGCAGT
 551 CTGACCTCTA CACTCTGAGC AGCTCAGTGA CTGTCCCCTC CAGCACCTGG
 601 CCCAGCGAGA CCGTCACCTG CAACGTTGCC CACCCGGCCA GCAGCACCAA
 651 GGTGGACAAG AAAATTGTGC CCAGGGATTG TGGTTGTAAG CCTTGCATAT
 701 GTACAGTCCC AGAAGTATCA TCTGTCTTCA TCTTCCCCC AAAGCCCAAG
 751 GATGTGCTCA CCATTACTCT GACTCCTAAG GTCACGTGTG TTGTGGTAGA
 801 CATCAGCAAG GATGATCCCG AGGTCCAGTT CAGCTGGTTT GTAGATGATG
 851 TGGAGGTGCA CACAGCTCAG ACGCAACCCC GGGAGGAGCA GTTCAACAGC
 901 ACTTTCCGCT CAGTCAGTGA ACTTCCCATC ATGCACCAGG ACTGGCTCAA
 951 TGGCAAGGAG TTCAAATGCA GGGTCAACAG TGCAGCTTTC CCTGCCCCCA
 1001 TCGAGAAAAC CATCTCCAAA ACCAAAGGCA GACCGAAGGC TCCACAGGTG
 1051 TACACCATTC CACCTCCCAA GGAGCAGATG GCCAAGGATA AAGTCAGTCT
 1101 GACCTGCATG ATAACAGACT TCTTCCCTGA AGACATTACT GTGGAGTGGC
 1151 AGTGGAAATGG GCAGCCAGCG GAGAACTACA AGAACACTCA GCCCATCATG
 1201 GACACAGATG GCTCTTACTT CATCTACAGC AAGCTCAATG TGCAGAAGAG
 1251 CAACTGGGAG GCAGGAAATA CTTTCACCTG CTCTGTGTGA CATGAGGGCC
 1301 TGCACAACCA CCATACTGAG AAGAGCCTCT CCCACTCTCC TGGTAAATGA
 (配列番号 130)

20

30

40

【0 1 6 8】

シグナルペプチドを含めたAb-3 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 5 1】

1 MKCSWVIFFL MAVVTGVNSE VQLQQSGAEL VRPGALVKLS CTASDFNIKD
51 FYLHWMRQRP EQGLDWIGRI DPENGD TLYD PKFQDKATLT TDTSSNTAYL
101 QLSGLTSETT AVYYCSREAD YFHDGTSYWY FDVWGAGTTI TVSSAKTTPP
151 SVYPLAPGSA AQTNSMVTLG CLVKGYFPEP VTVTWNSGSL SSGVHTFPAV
201 LQSDLYTLSS SVTVPSSTWP SETVTCNVAH PASSTKVDDK IVPRDCGCKP
251 CICTVPEVSS VFIFPPKPKD VLTITLTPKV TCVVVDISKD DPEVQFSWV
301 DDVEVHTAQT QPREEQFNST FRSVSELPIM HQDWLNGKEF KCRVNSAAF
351 APIEKTISK TGRPKAPQVY TIPPPKEQMA KDKVSLTCMI TDFFPEDITV
401 EWQWNGQPAE NYKNTQPIMD TDGSYFIYSK LNVQKSNWEA GNTFTCSVLH
451 EGLHNHHTK SLSHSPGK (配列番号 131)

10

【0 1 6 9】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-3 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 5 2】

1 ATGAAATGCA GCTGGGTCAT CTTCTTCCTG ATGGCAGTGG TTACAGGGGT
51 CAATTCAGAG GTTCAGCTGC AGCAGTCTGG GGCTGAACTT GTGAGGCCAG
101 GGGCCTTAGT CAAGTTGTCC TGCACAGCTT CTGACTTCAA CATTAAAGAC
151 TTCTATCTAC ACTGGATGAG GCAGCGGCCT GAACAGGGCC TGGACTGGAT
201 TGGAAGGATT GATCCTGAGA ATGGTGATAC TTTATATGAC CCGAAGTTCC
251 AGGACAAGGC CACTCTTACA ACAGACACAT CCTCCAACAC AGCCTACCTG
301 CAGCTCAGCG GCCTGACATC TGAGACCACT GCCGTCTATT ACTGTTCTAG
351 AGAGGCGGAT TATTTCCACG ATGGTACCTC CTAAGGTAC TTCGATGTCT
401 GGGGCGCAGG GACCACAATC ACCGTCTCCT CAGCCAAAAC GACACCCCCA
451 TCTGTCTATC CACTGGCCCC TGGATCTGCT GCCCAAATA ACTCCATGGT
501 GACCCTGGGA TGCCTGGTCA AGGGCTATTT CCCTGAGCCA GTGACAGTGA
551 CCTGGAATC TGGATCCCTG TCCAGCGGTG TGCACACCTT CCCAGCTGTC
601 CTGCAGTCTG ACCTCTACAC TCTGAGCAGC TCAGTGACTG TCCCCTCCAG
651 CACCTGGCCC AGCGAGACCG TCACCTGCAA CGTTGCCAC CCGGCCAGCA
701 GCACCAAGGT GGACAAGAAA ATTGTGCCA GGGATTGTGG TTGTAAGCCT
751 TGCATATGTA CAGTCCCAGA AGTATCATCT GTCTTCATCT TCCCCCAA
801 GCCCAAGGAT GTGCTACCA TTAATCTGAC TCCTAAGGTC ACGTGTGTTG
851 TGGTAGACAT CAGCAAGGAT GATCCCGAGG TCCAGTTCAG CTGGTTTGTA
901 GATGATGTGG AGGTGCACAC AGCTCAGACG CAACCCCGGG AGGAGCAGTT
951 CAACAGCACT TTCCGCTCAG TCAGTGAACT TCCATCATG CACCAGGACT
1001 GGCTCAATGG CAAGGAGTTC AAATGCAGGG TCAACAGTGC AGCTTCCCT
1051 GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAACC AAAGGCAGAC CGAAGGCTCC
1101 ACAGGTGTAC ACCATTCCAC CTCCAAAGGA GCAGATGGCC AAGGATAAAG
1151 TCAGTCTGAC CTGCATGATA ACAGACTTCT TCCCTGAAGA CATTACTGTG
1201 GAGTGGCAGT GGAATGGGCA GCCAGCGGAG AACTACAAGA AACTCAGCC
1251 CATCATGGAC ACAGATGGCT CTTACTTCAT CTACAGCAAG CTCAATGTGC
1301 AGAAGAGCAA CTGGGAGGCA GGAAATACTT TCACCTGCTC TGTGTTACAT
1351 GAGGGCCTGC ACAACCACCA TACTGAGAAG AGCCTCTCCC ACTCTCCTGG
1401 TAAATGA (配列番号 132)

20

30

40

【化 5 3】

1 DIQMTQITSS LSASLGDRVS ISCRASQDIS NYLNWYQQKP DGTFKLLIFY
51 TSRLLSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIYNLEQ EDFATYFCQQ GDTLPYTFGG
101 GTKLEIKRAD APTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVWKI
151 DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
201 STSPIVKSFN RNEC (配列番号 133)

【0 1 7 0】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-4 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

10

【化 5 4】

1 GATATCCAGA TGACACAGAT TACATCCTCC CTGTCTGCCT CTCTGGGAGA
51 CAGGGTCTCC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA AGACATTAGC AATTATTTAA
101 ACTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAACCT TTAAACTCCT TATCTTCTAC
151 ACATCAAGAT TACTCTCAGG AGTCCCATCA AGGTTCAAGT GCAGTGGGTC
201 TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTTACAA CCTGGAGCAA GAAGATTTTG
251 CCACTTACTT TTGCCAACAG GGAGATACGC TTCCGTACAC TTTCGGAGGG
301 GGGACCAAGC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA CTGTATCCAT
351 CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC TCAGTCGTGT
401 GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA GTGGAAGATT
451 GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA CTGATCAGGA
501 CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG TTGACCAAGG
551 ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC TCACAAGACA
601 TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT GTTAG (配列番号
134)

20

【0 1 7 1】

シグナルペプチドを含めたAb-4 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 5 5】

1 MMSSAQFLGL LLLCFQGTRC DIQMTQITSS LSASLGDRVS ISCRASQDIS
51 NYLNWYQQKP DGTFKLLIFY TSRLLSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIYNLEQ
101 EDFATYFCQQ GDTLPYTFGG GTKLEIKRAD APTVSIFPP SSEQLTSGGA
151 SVVCFLNNFY PKDINVWKI DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT
201 LTKDEYERHN SYTCEATHKT STSPIVKSFN RNEC (配列番号 135)

30

【0 1 7 2】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-4 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 5 6】

1 ATGATGTCCT CTGCTCAGTT CCTTGGTCTC CTGTTGCTCT GTTTTCAAGG
51 TACCAGATGT GATATCCAGA TGACACAGAT TACATCCTCC CTGTCTGCCT
101 CTCTGGGAGA CAGGGTCTCC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA AGACATTAGC
151 AATTATTTAA ACTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAACCT TTAAACTCCT
201 TATCTTCTAC ACATCAAGAT TACTCTCAGG AGTCCCATCA AGGTTCAGTG
251 GCAGTGGGTC TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTTACAA CCTGGAGCAA
301 GAAGATTTTG CCACTTACTT TTGCCAACAG GGAGATACGC TTCCGTACAC
351 TTTCGGAGGG GGGACCAAGC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA
401 CTGTATCCAT CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC
451 TCAGTCGTGT GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA
501 GTGGAAGATT GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA
551 CTGATCAGGA CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG
601 TTGACCAAGG ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC
651 TCACAAGACA TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT
701 GTTAG (配列番号 136)

10

【 0 1 7 3】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-4 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 5 7】

1 EVQLQQSGPE LMKPGASVKM SCKASGYTFT DYNMHWVKQN QGKITLEWIGE
51 INPNSGGAGY NQKFKGKATL TVDKSSTTAY MELRSLTSED SAVYYCARLG
101 YDDIYDDWYF DVWGAGTTVT VSSAKTTPPS VYPLAPGSAA QTNSMVTLGC
151 LVKGYFPEPV TVTWNSGSL SSGVHTFPAVL QSDLYTLSSS VTVPSSTWPS
201 ETVTCNVAHP ASSTKVDKKI VPRDCGCKPC ICTVPEVSSV FIFPPKPKDV
251 LTITLTPKVT CVVVDISKDD PEVQFSWFVD DVEVHTAQTQ PREEQFNSTF
301 RSVSELPIMH QDWLNGKEFK CRVNSAAFP A PIEKTISKTK GRPKAQVYT
351 IPPPKEQMAK DKVSLTCMIT DFFPEDITVE WQWNGQPAEN YKNTQPIMDT
401 DGSYFIYSKL NVQKSNWEAG NTFTCSVLHE GLHNHHTEKS LSHSPGK (配列番
号 137)

20

30

【 0 1 7 4】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-4 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 5 8】

1 GAGGTCCAAC TGCAACAGTC TGGACCTGAA CTAATGAAGC CTGGGGCTTC
51 AGTGAAGATG TCCTGCAAGG CTTCTGGATA TACATTCACT GACTACAACA
101 TGCACTGGGT GAAGCAGAAC CAAGGAAAGA CCCTAGAGTG GATAGGAGAA
151 ATTAATCCTA ACAGTGGTGG TGCTGGCTAC AACCAGAAGT TCAAGGGCAA
201 GGCCACATTG ACTGTAGACA AGTCCTCCAC CACAGCCTAC ATGGAGCTCC
251 GCAGCCTGAC ATCTGAGGAC TCTGCAGTCT ATTACTGTGC AAGATTGGGC
301 TACGATGATA TCTACGACGA CTGGTACTTC GATGTCTGGG GCGCAGGGAC
351 CACGGTCACC GTCTCCTCAG CCAAACGAC ACCCCCATCT GTCTATCCAC
401 TGGCCCCTGG ATCTGCTGCC CAACTAACT CCATGGTGAC CCTGGGATGC
451 CTGGTCAAGG GCTATTTCCC TGAGCCAGTG ACAGTGACCT GGAAGTCTGG
501 ATCCCTGTCC AGCGGTGTGC ACACCTTCCC AGCTGTCCTG CAGTCTGACC
551 TCTACACTCT GAGCAGCTCA GTGACTGTCC CCTCCAGCAC CTGGCCCCAGC
601 GAGACCGTCA CCTGCAACGT TGCCCACCCG GCCAGCAGCA CCAAGGTGGA
651 CAAGAAAATT GTGCCCAGGG ATTGTGGTTG TAAGCCTTGC ATATGTACAG
701 TCCCAGAAGT ATCATCTGTC TTCATCTTCC CCCCAGGCC CAAGGATGTG
751 CTCACCATTA CTCTGACTCC TAAGGTCACG TGTGTTGTGG TAGACATCAG
801 CAAGGATGAT CCCGAGGTCC AGTTCAGCTG GTTTGTAGAT GATGTGGAGG
851 TGCACACAGC TCAGACGCAA CCCCAGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACTTTC
901 CGCTCAGTCA GTGAACTTCC CATCATGCAC CAGGACTGGC TCAATGGCAA
951 GGAGTTCAA TGCAGGGTCA ACAGTGCAGC TTTCCCTGCC CCCATCGAGA
1001 AAACCATCTC CAAAACCAA GGCAGACCGA AGGCTCCACA GGTGTACACC
1051 ATTCCACCTC CCAAGGAGCA GATGGCCAAG GATAAAGTCA GTCTGACCTG
1101 CATGATAACA GACTTCTTCC CTGAAGACAT TACTGTGGAG TGGCAGTGGA
1151 ATGGGCAGCC AGCGGAGAAC TACAAGAACA CTCAGCCCAT CATGGACACA
1201 GATGGCTCTT ACTTCATCTA CAGCAAGCTC AATGTGCAGA AGAGCAACTG
1251 GGAGGCAGGA AATACTTTCA CCTGCTCTGT GTTACATGAG GGCCTGCACA
1301 ACCACCATAC TGAGAAGAGC CTCTCCCACT CTCCTGGTAA ATGA (配列番号
138)

10

20

【0 1 7 5】

シグナルペプチドを含めたAb-4 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 5 9】

1 MGWSWTFLL LSGTAGVLSE VQLQQSGPEL MKPGASVKMS CKASGYTFTD
51 YNMHWVKQNN GKTLEWIGEI NPNSGGAGYN QKFKGKATLT VDKSSTTAYM
101 ELRSLTSEDS AVYYCARLGY DDIYDDWYFD VWGAGTTVTV SSAKTTPPSV
151 YPLAPGSAAQ TNSMVTLGCL VKGYFPEPVT VTWNSGSLSS GVHTFPAVLQ
201 SDLYTLSSSV TVPSSTWPSE TVTCNVAHPA SSTKVDDKIV PRDCGCKPCI
251 CTVPEVSSVF IFPPKPKDVL TITLTPKVTC VVVDISKDDP EVQFSWFVDD
301 VEVHTAQTP REEQFNSTFR SVSELPIMHQ DWLNGKEFKC RVNSAAFPAP
351 IEKTISKTKG RPKAPQVYTI PPPKEQMAKD KVS LTCMITD FFPEDITVEW
401 QWNGQPAENY KNTQPIMDTD GSYFIYSKLN VQKSNWEAGN TFTCSVLHEG
451 LHNHHTKSL SHSPGK (配列番号 139)

30

40

【0 1 7 6】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-4 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 6 0】

1 ATGGGATGGA GCTGGACCTT TCTCTTCCTC CTGTCAGGAA CTGCAGGTGT
 51 CCTCTCTGAG GTCCAACCTGC AACAGTCTGG ACCTGAACTA ATGAAGCCTG
 101 GGGCTTCAGT GAAGATGTCC TGCAAGGCTT CTGGATATAC ATTCACTGAC
 151 TACAACATGC ACTGGGTGAA GCAGAACCAA GGAAAGACCC TAGAGTGGAT
 201 AGGAGAAATT AATCCTAACA GTGGTGGTGC TGGCTACAAC CAGAAGTTCA
 251 AGGGCAAGGC CACATTGACT GTAGACAAGT CCTCCACCAC AGCCTACATG
 301 GAGCTCCGCA GCCTGACATC TGAGGACTCT GCAGTCTATT ACTGTGCAAG
 351 ATTGGGCTAC GATGATATCT ACGACGACTG GTACTTCGAT GTCTGGGGCG
 401 CAGGGACCAC GGTCAACGTC TCCTCAGCCA AAACGACACC CCCATCTGTC
 451 TATCCACTGG CCCCTGGATC TGCTGCCCAA ACTAACTCCA TGGTGACCCT
 501 GGGATGCCTG GTCAAGGGCT ATTTCCCTGA GCCAGTGACA GTGACCTGGA
 551 ACTCTGGATC CTTGTCCAGC GGTGTGCACA CCTTCCCAGC TGTCCTGCAG
 601 TCTGACCTCT AACTCTGAG CAGCTCAGTG ACTGTCCCTT CCAGCACCTG
 651 GCCCAGCGAG ACCGTCACCT GCAACGTTGC CCACCCGGCC AGCAGCACCA
 701 AGGTGGACAA GAAAATTGTG CCCAGGGATT GTGGTTGTAA GCCTTGCATA
 751 TGTACAGTCC CAGAAGTATC ATCTGTCTTC ATCTTCCCCC CAAAGCCCCA
 801 GGATGTGCTC ACCATTACTC TGACTCCTAA GGTCACGTGT GTTGTGGTAG
 851 ACATCAGCAA GGATGATCCC GAGGTCCAGT TCAGCTGGTT TGTAAGATGAT
 901 GTGGAGGTGC ACACAGCTCA GACGCAACCC CGGGAGGAGC AGTTCAACAG
 951 CACTTTCCTG TCAGTCAGTG AACTTCCCAT CATGCACCAG GACTGGCTCA
 1001 ATGGCAAGGA GTTCAAATGC AGGGTCAACA GTGCAGCTTT CCCTGCCCCC
 1051 ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AACCAAAGGC AGACCGAAGG CTCCACAGGT
 1101 GTACACCATT CCACCTCCCA AGGAGCAGAT GGCCAAGGAT AAAGTCAGTC
 1151 TGACCTGCAT GATAACAGAC TTCTTCCCTG AAGACATTAC TGTGGAGTGG
 1201 CAGTGGAATG GGCAGCCAGC GGAGAACTAC AAGAACAATC AGCCCATCAT
 1251 GGACACAGAT GGCTCTTACT TCATCTACAG CAAGCTCAAT GTGCAGAAGA
 1301 GCAACTGGGA GGCAGGAAAT ACTTTCACCT GCTCTGTGTT ACATGAGGGC
 1351 CTGCACAACC ACCATACTGA GAAGAGCCTC TCCCACTCTC CTGGTAAATG
 1401 A (配列番号 140)

10

20

30

【 0 1 7 7】

Ab-4 をヒト化し、Ab-5を生成させた。

Ab-5

抗体5(本明細書ではAb-5とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである。

【 0 1 7 8】

Ab-5 軽鎖:

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-5 LCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 6 1】

1 DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
 51 TSRLLSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ GDTLPYTFGG
 101 GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV
 151 DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG
 201 LSSPVTKSFN RGEC (配列番号 141)

40

【 0 1 7 9】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-5 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである:

【化 6 2】

1 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTCTCCGCAT CCGTAGGGCGA
 51 CCGCGTAACC ATAACATGTA GAGCATCTCA AGATATTTCC AACTATTTGA
 101 ATTGGTACCA ACAAAAACCC GGCAAAGCAC CTAAACTCCT CATTTACTAT
 151 ACATCAAGAC TCCTCTCCGG CGTTCCATCA CGATTCTCAG GCTCCGGCTC
 201 CGGCACAGAT TTCACACTCA CTATTTCCTC CCTCCAACCA GAAGATTTTG
 251 CAACCTATTA CTGTCAACAA GCGGATACAC TCCCATACAC ATTCGGCGGC
 301 GGCACAAAAG TTGAAATTAA ACGTACGGTG GCTGCACCAT CTGTCTTCAT
 351 CTTCCCGCCA TCTGATGAGC AGTTGAAATC TGGAAGTGCC TCTGTTGTGT
 401 GCCTGCTGAA TAACTTCTAT CCCAGAGAGG CCAAAGTACA GTGGAAGGTG
 451 GATAACGCCC TCCAATCGGG TAACTCCCAG GAGAGTGTCA CAGAGCAGGA
 501 CAGCAAGGAC AGCACCTACA GCCTCAGCAG CACCCTGACG CTGAGCAAAG
 551 CAGACTACGA GAAACACAAA GTCTACGCCT GCGAAGTCAC CCATCAGGGC
 601 CTGAGCTCGC CCGTCACAAA GAGCTTCAAC AGGGGAGAGT GT (配列番号
 142)

10

【0180】

シグナルペプチドを含めたAb-5 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 6 3】

1 MDMRVPAQLL GLLLLWLRGA RCDIQMTQSP SSLASVGDV VTITCRASQD
 51 ISNYLNWYQQ KPGKAPKLLI YYTSRLLSGV PSRFSGSGSG TDFTLTISSL
 101 QPEDFATYYC QQGDTLPYTF GGGTKVEIKR TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG
 151 TASVVCLLN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYSLSST
 201 LTLKADYEK HKVYACEVTH QGLSPVTKS FNRGEC (配列番号 143)

20

【0181】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-5 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 6 4】

1 ATGGACATGA GGGTCCCCGC TCAGCTCCTG GGGCTCCTGC TACTCTGGCT
 51 CCGAGGTGCC AGATGTGACA TCCAGATGAC CCAGTCTCCA TCCTCCCTCT
 101 CCGCATCCGT AGGCGACCGC GTAACCATAA CATGTAGAGC ATCTCAAGAT
 151 ATTTCCAACCT ATTTGAATTG GTACCAACAA AAACCCGGCA AAGCACCTAA
 201 ACTCCTCATT TACTATACAT CAAGACTCCT CTCCGGCGTT CCATCACGAT
 251 TCTCAGGCTC CGGCTCCGGC ACAGATTTCA CACTCACTAT TTCCTCCCTC
 301 CAACCAGAAG ATTTTGCAAC CTATTACTGT CAACAAGGCG ATACACTCCC
 351 ATACACATTC GCGGCGGCA CAAAAGTTGA AATTAAACGT ACGGTGGCTG
 401 CACCATCTGT CTTTCATCTT CCGCCATCTG ATGAGCAGTT GAAATCTGGA
 451 ACTGCCTCTG TTGTGTGCCT GCTGAATAAC TTCTATCCCA GAGAGGCCAA
 501 AGTACAGTGG AAGGTGGATA ACGCCCTCCA ATCGGGTAAC TCCCAGGAGA
 551 GTGTCACAGA GCAGGACAGC AAGGACAGCA CCTACAGCCT CAGCAGCACC
 601 CTGACGCTGA GCAAAGCAGA CTACGAGAAA CACAAAGTCT ACGCCTGCGA
 651 AGTCACCCAT CAGGGCCTGA GCTCGCCCGT CACAAAGAGC TTCAACAGGG
 701 GAGAGTGT (配列番号 144)

30

40

【0182】

Ab-5 重鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-5 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 6 5】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT DYNMHWVRQA PGQGLEWMGE
 51 INPNSGGAGY NQKFKGRVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCARLG
 101 YDDIYDDWYF DVWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC
 151 LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSNFG
 201 TQTYTCNVDH KPSNTKVDKT VERKCCVECP PCPAPPVAGP SVFLFPPKPK
 251 DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS
 301 TFRVSVLTV VHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PAPIEKTISK TKGQPREPQV
 351 YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPML
 401 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK (配列
 番号 145)

10

【0 1 8 3】

カルボキシ末端のリジンがない成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-5 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 6 6】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT DYNMHWVRQA PGQGLEWMGE
 51 INPNSGGAGY NQKFKGRVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCARLG
 101 YDDIYDDWYF DVWGQGTTVT VSSASTKGPS VFPLAPCSRS TSESTAALGC
 151 LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSNFG
 201 TQTYTCNVDH KPSNTKVDKT VERKCCVECP PCPAPPVAGP SVFLFPPKPK
 251 DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS
 301 TFRVSVLTV VHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PAPIEKTISK TKGQPREPQV
 351 YTLPPSREEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPML
 401 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPG (配列番
 号 392)

20

【0 1 8 4】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-5 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

30

【化 6 7】

1 GAGGTGCAGC TGGTGCAGAG CGGCGCCGAG GTAAAAAAC CAGGAGCAAG
51 CGTTAAAGTT TCTTGTAAG CAAGCGGATA TACATTTACA GATTACAACA
101 TGCATTGGGT AAGACAAGCG CCAGGACAAG GATTGGAATG GATGGGCGAA
151 ATTAACCCTA ATAGTGGAGG AGCAGGCTAC AATCAAAAAT TCAAAGGGAG
201 AGTTACAATG ACAACAGACA CAAGCACTTC AACAGCATAT ATGGAAGTGC
251 GATCACTTAG AAGCGACGAT ACAGCTGTAT ACTATTGCGC ACGACTTGGG
301 TATGATGATA TATATGATGA CTGGTATTTT GATGTTTGGG GCCAGGGAAC
351 AACAGTTACC GTCTCTAGTG CCTCCACCAA GGGCCCATCG GTCTTCCCCC
401 TGGCGCCCTG CTCCAGGAGC ACCTCCGAGA GCACAGCGGC CCTGGGCTGC
451 CTGGTCAAGG ACTACTTCCC CGAACCAGGTG ACGGTGTCGT GGAAGTCAGG
501 CGCTCTGACC AGCGGCGTGC ACACCTTCCC AGCTGTCCTA CAGTCCTCAG
551 GACTCTACTC CCTCAGCAGC GTGGTGACCG TGCCCTCCAG CAACTTCGGC
601 ACCCAGACCT ACACCTGCAA CGTAGATCAC AAGCCCAGCA ACACCAAGGT
651 GGACAAGACA GTTGAGCGCA AATGTTGTGT CGAGTGCCCA CCGTGCCAG
701 CACCACCTGT GGCAGGACCG TCAGTCTTCC TCTTCCCCCC AAAACCCAAG
751 GACACCCTCA TGATCTCCCG GACCCCTGAG GTCACGTGCG TGGTGGTGGA
801 CGTGAGCCAC GAAGACCCCG AGGTCCAGTT CAACTGGTAC GTGGACGGCG
851 TGGAGGTGCA TAATGCCAAG ACAAAGCCAC GGGAGGAGCA GTTCAACAGC
901 ACGTTCCGTG TGGTCAGCGT CCTCACCGTT GTGCACCAGG ACTGGCTGAA
951 CGGCAAGGAG TACAAGTGCA AGGTCTCCAA CAAAGGCCTC CCAGCCCCCA
1001 TCGAGAAAAC CATCTCCAAA ACCAAAGGGC AGCCCCGAGA ACCACAGGTG
1051 TACACCCTGC CCCCATCCCG GGAGGAGATG ACCAAGAACC AGGTCAGCCT
1101 GACCTGCCTG GTCAAAGGCT TCTACCCAG CGACATCGCC GTGGAGTGGG
1151 AGAGCAATGG GCAGCCGGAG AACAACATA AGACCACACC TCCCATGCTG
1201 GACTCCGACG GCTCCTTCTT CCTCTACAGC AAGCTCACCG TGGACAAGAG
1251 CAGGTGGCAG CAGGGGAACG TCTTCTCATG CTCCGTGATG CATGAGGCTC
1301 TGCACAACCA CTACACGCAG AAGAGCCTCT CCCTGTCTCC GGGTAAA (配列
番号 146)

10

20

【0 1 8 5】

シグナルペプチドを含めたAb-5 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 6 8】

1 MDWTWRILFL VAAATGAHSE VQLVQSGAEV KKPGASVKVS CKASGYTFTD
51 YNMHWVRQAP GQGLEWMGEI NPNSGGAGYN QKFKGRVTMT TDTSTSTAYM
101 ELRSLRSDDT AVYYCARLGY DDIYDDWYFD VWGQGTTVTV SSASTKGPSV
151 FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTEPAVLQ
201 SSGLYSLSSV VTPSSNFGT QTYTCNVDPK PSNTKVDKTV ERKCCVECPP
251 CPAPPVAGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFNWYV
301 DGVEVHNAKT KPREEQFNST FRVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP
351 APIEKTISKI KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV
401 EWESNGQPEN NYKTTTPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH
451 EALHNHYTQK SLSLSPGK (配列番号 147)

30

40

【0 1 8 6】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-5 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 6 9】

1 ATGGACTGGA CCTGGAGGAT CCTCTTCTTG GTGGCAGCAG CCACAGGAGC
 51 CCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGCAGAGCGG CGCCGAGGTA AAAAAACCAG
 101 GAGCAAGCGT TAAAGTTTCT TGTAAGCAA GCGGATATAC ATTTACAGAT
 151 TACAACATGC ATTGGGTAAG ACAAGCGCCA GGACAAGGAT TGGAATGGAT
 201 GGGCGAAATT AACCCTAATA GTGGAGGAGC AGGCTACAAT CAAAAATTCA
 251 AAGGGAGAGT TACAATGACA ACAGACACAA GCACTTCAAC AGCATATATG
 301 GAACTGCGAT CACTTAGAAG CGACGATACA GCTGTATACT ATTGCGCACG
 351 ACTTGGGTAT GATGATATAT ATGATGACTG GTATTTCGAT GTTTGGGGCC
 401 AGGGAACAAC AGTTACCGTC TCTAGTGCCT CCACCAAGGG CCCATCGGTC
 451 TTCCCCCTGG CGCCCTGCTC CAGGAGCACC TCCGAGAGCA CAGCGGCCCT
 501 GGGCTGCCTG GTCAAGGACT ACTTCCCCGA ACCGGTGACG GTGTCTGTGA
 551 ACTCAGGCGC TCTGACCAGC GGC GTGCACA CCTTCCCAGC TGTCTACAG
 601 TCCTCAGGAC TCTACTCCCT CAGCAGCGTG GTGACCGTGC CCTCCAGCAA
 651 CTTCGGCACC CAGACCTACA CCTGCAACGT AGATCACAAG CCCAGCAACA
 701 CCAAGGTGGA CAAGACAGTT GAGCGCAAAT GTTGTGTCGA GTGCCACCG
 751 TGCCCAGCAC CACCTGTGGC AGGACCGTCA GTCTTCTCT TCCCCCAA
 801 ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACGTGCCTGG
 851 TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCCGAGG TCCAGTTCAA CTGGTACGTG
 901 GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCACGGG AGGAGCAGTT
 951 CAACAGCACG TTCCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTTGTG CACCAGGACT
 1001 GGCTGAACGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGGCCTCCCA
 1051 GCCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAACC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC
 1101 ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG
 1151 TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ACCCCAGCGA CATCGCCGTG
 1201 GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACACCTCC
 1251 CATGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTACAGCAAG CTCACCGTGG
 1301 ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT
 1351 GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCTCCGGG
 1401 TAAA (配列番号 148)

10

20

30

【 0 1 8 7】

Ab-5 可変ドメイン:

Ab-5 軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列(シグナル配列なし):

【化 7 0】

1 DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
 51 TSRLSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ GDTPYTFGG
 101 GTKVEIK (配列番号 376)

【 0 1 8 8】

Ab-5 軽鎖可変ドメインのDNA配列(シグナル配列なし):

【化 7 1】

1 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTCTCCGCAT CCGTAGGCGA
 51 CCGCGTAACC ATAACATGTA GAGCATCTCA AGATATTTCC AACTATTTGA
 101 ATTGGTACCA AAAAAACCC GGCAAAGCAC CTAAACTCCT CATTACTAT
 151 ACATCAAGAC TCCTCTCCGG CGTTCCATCA CGATTCTCAG GCTCCGGCTC
 201 CGGCACAGAT TTCACACTCA CTATTTCCTC CCTCCAACCA GAAGATTTTG
 251 CAACCTATTA CTGTCAACAA GGCGATACAC TCCCATACAC ATTCGGCGGG
 301 GGCACAAAAG TTGAAATTAA A (配列番号 377)

40

【 0 1 8 9】

50

Ab-5重鎖可変ドメインのアミノ酸配列(シグナル配列なし)：

【化72】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT DYNMHWVRQA PGQGLEWMGE
51 INPNSGGAGY NQKEKGRVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCARLG
101 YDDIYDDWYF DVWGQGT T VSS (配列番号 378)

【0190】

Ab-5重鎖可変ドメインのDNA配列(シグナル配列なし)：

【化73】

1 GAGGTGCAGC TGGTGCAGAG CGGCGCCGAG GTAAAAAAAC CAGGAGCAAG
51 CGTTAAAGTT TCTTGTAAG CAAGCGGATA TACATTTACA GATTACAACA
101 TGCATTGGGT AAGACAAGCG CCAGGACAAG GATTGGAATG GATGGGCGAA
151 ATTAACCTTA ATAGTGGAGG AGCAGGCTAC AATCAAAAAT TCAAAGGGAG
201 AGTTACAATG ACAACAGACA CAAGCACTTC AACAGCATAT ATGGAAGTGC
251 GATCACTTAG AAGCGACGAT ACAGCTGTAT ACTATTGCGC ACGACTTGGG
301 TATGATGATA TATATGATGA CTGGTATTC GATGTTTGGG GCCAGGGAAC
351 AACAGTTACC GTCTCTAGT (配列番号 379)

10

【0191】

Ab-5の重鎖の可変領域にあるCDR(相補性決定領域)配列は以下の通りである：

20

CDR-H1:DYNMH (配列番号245)

CDR-H2:EINPNSGGAGYNQKFKG (配列番号246)

CDR-H3:LGYYDDIYDDWYFDV (配列番号247)

【0192】

Ab-5の軽鎖可変領域CDR配列は以下の通りである：

CDR-L1:RASQDISNYLN (配列番号78)

CDR-L2:YTSRLLS (配列番号79)

CDR-L3:QQGDTLPYT (配列番号80)

【0193】

Ab-6

30

抗体6(本明細書ではAb-6とも称される)LCおよびHCの配列は以下の通りである：

Ab-6 軽鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-6 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化74】

1 DIQMTQTTSS LSASLGDRVT ISCRASQDIS NYLWVQQKP DGTLKLLIFY
51 TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFCQQ GDILPYTFGG
101 GTKLEIRRAD AAPTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVKWKI
151 DGSRQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
201 STSPIVKSFN RNEC (配列番号 149)

40

【0194】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-6 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 7 5】

1 GATATCCAGA TGACACAGAC TACATCCTCC CTGTCTGCCT CTCTGGGAGA
 51 CAGAGTCACC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA GGACATTAGC AATTATTTAA
 101 ACTGGTTTCA GCAGAAACCA GATGGAAGTC TTAAACTCCT GATCTTCTAC
 151 ACATCAAGAT TACTCTCAGG AGTTCCATCA AGGTTTCAGTG GCAGTGGGTC
 201 TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTAGCAA CCTGGAGCAA GAAGATATTG
 251 CCACTTACTT TTGCCAACAG GGTGATACGC TTCCGTACAC GTTCGGGGGG
 301 GGGACCAAGC TGGAAATAAG ACGGGCTGAT GCTGCACCAA CTGTATCCAT
 351 CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC TCAGTCGTGT
 401 GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA GTGGAAGATT
 451 GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA CTGATCAGGA
 501 CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG TTGACCAAGG
 551 ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC TCACAAGACA
 601 TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT GTTAG (配列番号
 150)

10

【 0 1 9 5】

シグナルペプチドを含めたAb-6 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 7 6】

1 MMSSAQFLGL LLLCFQGTRC DIQMTQTSS LSASLGDRVT ISCRASQDIS
 51 NYLNWFQKP DGTLKLLIFY TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ
 101 EDIATYFCQQ GDTLPYTFGG GTKLEIRRAD APTVSIFFP SSEQLTSGGA
 151 SVVCFLNNFY PKDINVKWKI DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT
 201 LTKDEYERHN SYTCEATHKT STSPIVKSFN RNEC (配列番号 151)

20

【 0 1 9 6】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-6 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 7 7】

1 ATGATGTCCT CTGCTCAGTT CCTTGGTCTC CTGTTGCTCT GTTTTCAAGG
 51 TACCAGATGT GATATCCAGA TGACACAGAC TACATCCTCC CTGTCTGCCT
 101 CTCTGGGAGA CAGAGTCACC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA GGACATTAGC
 151 AATTATTTAA ACTGGTTTCA GCAGAAACCA GATGGAAGTC TTAAACTCCT
 201 GATCTTCTAC ACATCAAGAT TACTCTCAGG AGTTCCATCA AGGTTTCAGTG
 251 GCAGTGGGTC TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTAGCAA CCTGGAGCAA
 301 GAAGATATTG CCACTTACTT TTGCCAACAG GGTGATACGC TTCCGTACAC
 351 GTTCGGGGGG GGGACCAAGC TGGAAATAAG ACGGGCTGAT GCTGCACCAA
 401 CTGTATCCAT CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC
 451 TCAGTCGTGT GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA
 501 GTGGAAGATT GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA
 551 CTGATCAGGA CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG
 601 TTGACCAAGG ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC
 651 TCACAAGACA TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT
 701 GTTAG (配列番号 152)

30

40

【 0 1 9 7】

Ab-6 重鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-6 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 7 8】

1 EVQLQOSGPE LMKPGASVKM SCKASGYTFT DYNMHWVKQN QGKSLEWIGE
 51 INPNSGGSGY NQKFKGKATL TVDKSSSTAY MELRSLTSED SAVYYCARLY
 101 YDGSYEDWYF DVWGAGTTVT VSSAKTTPPS VYPLAPGSAA QTNMVTLG
 151 LVKGYFPEPV TVTWNSGSLSGVHTFPAVL QSDLYTLSSS VTPSSSTWPS
 201 ETVTCNVAHP ASSTKVDKKI VPRDCGCKPC ICTVPEVSSV FIFPPKPKDV
 251 LTITLTPKVT CVVVDISKDD PEVQFSWFVD DVEVHTAQTQ PREEQFNSTF
 301 RSVSELPIMH QDWLNGKEFK CRVNSAAFP A PIEKTISKTK GRPKAPQVYT
 351 IPPPKEQMAK DKVSLTCMIT DFFPEDITVE WQWNGQPAEN YKNTQPIMDT
 401 DGSYFIYSKL NVQKSNWEAG NTFTCSVLHE GLHNHHTES LSHSPGK (配列番号 153)

10

【0 1 9 8】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-6 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 7 9】

1 GAGGTCCAGC TGCAACAGTC TGGACCTGAA CTAATGAAGC CTGGGGGCTTC
 51 AGTGAAGATG TCCTGCAAGG CTTCTGGATA CACATTCAC TACTACAACA
 101 TGCACCTGGT GAAACAGAAC CAAGGAAAGA GCCTAGAGTG GATAGGAGAA
 151 ATTAATCCTA ACAGTGGTGG TAGTGGCTAC AACCAAAAGT TCAAAGGCAA
 201 GGCCACATTG ACTGTAGACA AGTCTTCCAG CACAGCCTAC ATGGAGCTCC
 251 GCAGCCTGAC ATCTGAGGAC TCTGCAGTCT ATTACTGTGC AAGATTGGTC
 301 TACGATGGCA GCTACGAGGA CTGGTACTTC GATGTCTGGG GCGCAGGGAC
 351 CACGGTCACC GTCTCCTCAG CCAAACGAC ACCCCCATCT GTCTATCCAC
 401 TGGCCCCTGG ATCTGCTGCC CAAACTAAT CCATGGTGAC CCTGGGATGC
 451 CTGGTCAAGG GCTATTTCCC TGAGCCAGTG ACAGTGACCT GGAAGTCTGG
 501 ATCCCTGTCC AGCGGTGTGC ACACCTTCCC AGCTGTCCTG CAGTCTGACC
 551 TCTACACTCT GAGCAGCTCA GTGACTGTCC CCTCCAGCAC CTGGCCCAGC
 601 GAGACCGTCA CCTGCAACGT TGCCACCCG GCCAGCAGCA CCAAGGTGGA
 651 CAAGAAAATT GTGCCAGGG ATTGTGGTTG TAAGCCTTGC ATATGTACAG
 701 TCCCAGAAGT ATCATCTGTC TTCATCTTCC CCCCAGGCC CAAGGATGTG
 751 CTCACCATTA CTCTGACTCC TAAGGTCACG TGTGTTGTGG TAGACATCAG
 801 CAAGGATGAT CCCGAGGTCC AGTTCAGCTG GTTTGTAGAT GATGTGGAGG
 851 TGCACACAGC TCAGACGCAA CCCCAGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACTTTC
 901 CGCTCAGTCA GTGAACCTCC CATCATGCAC CAGGACTGGC TCAATGGCAA
 951 GGAGTTCAA TGCAGGGTCA ACAGTGCAGC TTCCCTGCC CCCATCGAGA
 1001 AAACCATCTC CAAAACCAA GGCAGACCGA AGGCTCCACA GGTGTACACC
 1051 ATTCCACCTC CCAAGGAGCA GATGGCCAAG GATAAAGTCA GTCTGACCTG
 1101 CATGATAACA GACTTCTTCC CTGAAGACAT TACTGTGGAG TGGCAGTGGA
 1151 ATGGGCAGCC AGCGGAGAAC TACAAGAACA CTCAGCCCAT CATGGACACA
 1201 GATGGCTCTT ACTTCATCTA CAGCAAGCTC AATGTGCAGA AGAGCAACTG
 1251 GGAGGCAGGA AATACTTTCA CCTGCTCTGT GTTACATGAG GGCCTGCACA
 1301 ACCACCATAC TGAGAAGAGC CTCTCCCACT CTCTGGTAA ATGA (配列番号 154)

20

30

40

【0 1 9 9】

シグナルペプチドを含めたAb-6 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 8 0】

1 MGWSWTFLL LSGTAGVLSE VQLQQSGPEL MKPGASVKMS CKASGYTFTD
 51 YNMHWVKQNN GKSLEWIGEI NPNSGGSGYN QKFKGKATLT VDKSSSTAYM
 101 ELRLTSEDS AVYYCARLVY DGSYEDWYFD VWGAGTTVTV SSAKTPPSV
 151 YPLAPGSAAQ TNSMVTLGCL VKGYFPEPVT VTWNSGSLSS GVHTFPAVLQ
 201 SDLYTLSSSV TVPSSTWPSE TVTCNVAHPA SSTKVDKKIV PRDCGCKPCI
 251 CTVPEVSSVF IFPPKPKDVL TITLTPKVTC VVVDISKDDP EVQFSWFVDD
 301 VEVHTAQTPP REEQFNSTFR SVSELPIMHQ DWLNGKEFKC RVNSAAFPAP
 351 IEKTISKTKG RPKAPQVYTI PPPKEQMAKD KVS LTCMITD FFPEDITVEW
 401 QWNGQPAENY KNTQPIMDTD GSYFIYSKLN VQKSNWEAGN TFTCSVLHEG
 451 LHNHHTTEKSL SHSPGK (配列番号 155)

10

【 0 2 0 0】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-6 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 8 1】

1 ATGGGATGGA GCTGGACCTT TCTCTTCCTC CTGTCAGGAA CTGCAGGTGT
 51 CCTCTCTGAG GTCCAGCTGC AACAGTCTGG ACCTGAACTA ATGAAGCCTG
 101 GGGCTTCAGT GAAGATGTCC TGCAAGGCTT CTGGATACAC ATTCACTGAC
 151 TACAACATGC ACTGGGTGAA ACAGAACCAA GGAAAGAGCC TAGAGTGGAT
 201 AGGAGAAATT AATCCTAACA GTGGTGGTAG TGGCTACAAC CAAAAGTTCA
 251 AAGGCAAGGC CACATTGACT GTAGACAAGT CTTCCAGCAC AGCCTACATG
 301 GAGCTCCGCA GCCTGACATC TGAGGACTCT GCAGTCTATT ACTGTGCAAG
 351 ATTGGTCTAC GATGGCAGCT ACGAGGACTG G TACTTCGAT GTCTGGGGCG
 401 CAGGGACCAC GGTCAACGTC TCCTCAGCCA AAACGACACC CCCATCTGTC
 451 TATCCACTGG CCCCTGGATC TGCTGCCCAA ACTAACTCCA TGGTGACCCT
 501 GGGATGCCTG GTCAAGGGCT ATTTCCCTGA GCCAGTGACA GTGACCTGGA
 551 ACTCTGGATC CCTGTCCAGC GGTGTGCACA CCTTCCAGC TGTCCTGCAG
 601 TCTGACCTCT AACTCTGAG CAGCTCAGTG ACTGTCCCCT CCAGCACCTG
 651 GCCCAGCGAG ACCGTCACCT GCAACGTTGC CCACCCGGCC AGCAGCACCA
 701 AGGTGGACAA GAAAATTGTG CCCAGGGATT GTGGTTGTAA GCCTTGCATA
 751 TGTACAGTCC CAGAAGTATC ATCTGTCTTC ATCTTCCCCC CAAAGCCCCA
 801 GGATGTGCTC ACCATTACTC TGACTCCTAA GGTCACGTGT GTTGTGGTAG
 851 ACATCAGCAA GGATGATCCC GAGGTCCAGT TCAGCTGGTT TGTAGATGAT
 901 GTGGAGGTGC ACACAGCTCA GACGCAACCC CGGGAGGAGC AGTTCAACAG
 951 CACTTCCGC TCAGTCAGTG AACTTCCCAT CATGCACCAG GACTGGCTCA
 1001 ATGGCAAGGA GTTCAAATGC AGGGTCAACA GTGCAGCTTT CCCTGCCCCC
 1051 ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AACCAAAGGC AGACCGAAGG CTCCACAGGT
 1101 GTACACCATT CCACCTCCCA AGGAGCAGAT GGCCAAGGAT AAAGTCAGTC
 1151 TGACCTGCAT GATAACAGAC TTCTTCCCTG AAGACATTAC TGTGGAGTGG
 1201 CAGTGGGAATG GGCAGCCAGC GGAGAACTAC AAGAACACTC AGCCCATCAT
 1251 GGACACAGAT GGCTCTTACT TCATCTACAG CAAGCTCAAT GTGCAGAAGA
 1301 GCAACTGGGA GGCAGGAAAT ACTTTCACCT GCTCTGTGTT ACATGAGGGC
 1351 CTGCACAACC ACCATACTGA GAAGAGCCTC TCCCCTCTC CTGGTAAATG
 1401 A (配列番号 156)

20

30

40

【 0 2 0 1】

Ab-7

抗体7 (本明細書ではAb-7とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである：

Ab-7 軽鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-7 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 8 2】

1 DIQMTQTTSS LSASLGDRVT ICCRASQVIT NYLYWYQQKP DGTFKLLIYY
51 TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFCQQ GDTLPYTFGG
101 GTKLEIKRAD APTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVKWKI
151 DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
201 STSPIVKSFN RNEC (配列番号 157)

【0 2 0 2】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-7 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 8 3】

1 GATATCCAGA TGACACAGAC TACATCCTCC CTGTCTGCCT CTCTGGGAGA
51 CAGAGTCACC ATCTGTTGCA GGGCAAGTCA GGTCATTACC AATTATTTAT
101 ACTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAACCT TAAACTCCT GATCTACTAC
151 ACATCAAGAT TACACTCAGG AGTCCCATCA AGGTTCACTG GCAGTGGGTC
201 TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTAGCAA CCTGGAACAG GAAGATATTG
251 CCACTTACTT TTGCCAACAG GGTGATACGC TTCCGTACAC GTTCGGAGGG
301 GGGACCAAGC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA CTGTATCCAT
351 CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC TCAGTCGTGT
401 GCTTCTTGAA CAACCTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA GTGGAAGATT
451 GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA CTGATCAGGA
501 CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG TTGACCAAGG
551 ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC TCACAAGACA
601 TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT GT (配列番号 158)

【0 2 0 3】

シグナルペプチドを含めたAb-7 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 8 4】

1 MMSSAQFLGL LLLCFQGTRC DIQMTQTTSS LSASLGDRVT ICCRASQVIT
51 NYLYWYQQKP DGTFKLLIYY TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ
101 EDIATYFCQQ GDTLPYTFGG GTKLEIKRAD APTVSIFPP SSEQLTSGGA
151 SVVCFLNNFY PKDINVKWKI DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT
201 LTKDEYERHN SYTCEATHKT STSPIVKSFN RNEC (配列番号 159)

【0 2 0 4】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-7 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 8 5】

1 ATGATGTCCT CTGCTCAGTT CCTTGGTCTC CTGTTGCTCT GTTTTCAAGG
 51 TACCAGATGT GATATCCAGA TGACACAGAC TACATCCTCC CTGTCTGCCT
 101 CTCTGGGAGA CAGAGTCACC ATCTGTTGCA GGGCAAGTCA GGTCATTACC
 151 AATTATTTAT ACTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAACCTT TTAAACTCCT
 201 GATCTACTAC ACATCAAGAT TACACTCAGG AGTCCCATCA AGGTTCAGTG
 251 GCAGTGGGTC TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTAGCAA CCTGGAACAG
 301 GAAGATATTG CCACTTACTT TTGCCAACAG GGTGATACGC TTCCGTACAC
 351 GTTCGGAGGG GGGACCAAGC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA
 401 CTGTATCCAT CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC
 451 TCAGTCGTGT GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA
 501 GTGGAAGATT GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA
 551 CTGATCAGGA CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCAGC
 601 TTGACCAAGG ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC
 651 TCACAAGACA TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT
 701 GT (配列番号 160)

10

【 0 2 0 5】

Ab-7 重鎖:

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-7 HCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 8 6】

20

1 EVQLQQSGPE LMKPGASVKM SCKASGYTFT DYNMHWMKQN QGKSLEWIGE
 51 INPNSGGAGY NQOFKGGKATL TVDKSSRTAY MELRSLTSED SAVYYCARLG
 101 YVGNYEDWYF DVWGAGTTVT VSSAKTTPPS VYPLAPGSAA QTNMVTLCG
 151 LVKGYFPEPV TVTWNSGSL SSGVHTFPAVL QSDLYTLSSS VTVPSSTWPS
 201 ETVTCNVAHP ASSTKVDDKI VPRDCGCKPC ICTVPEVSSV FIFPPKPKDV
 251 LTITLTPKVT CVVVDISKDD PEVQFSWFVD DVEVHTAQTQ PREEQFNSTF
 301 RSVSELPIMH QDWLNGKEFK CRVNSAAFPA PIEKTISKTK GRPKAPQVYT
 351 IPPPKEQMAK DKVSLTCMIT DFFPEDITVE WQWNGQPAEN YKNTQPIMDT
 401 DGSYFIYSKL NVQKSNWEAG NTFTCSVLHE GLHNHHTEKS LSHSPGK (配列番
 号 161)

30

【 0 2 0 6】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-7 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである:

【化 8 7】

1 GAGGTCCAGC TGCAACAGTC TGGACCTGAA CTAATGAAGC CTGGGGCTTC
51 AGTGAAGATG TCCTGCAAGG CTTCTGGATA CACATTCACCT GACTACAACA
101 TGCACTGGAT GAAGCAGAAC CAAGGAAAGA GCCTAGAATG GATAGGAGAA
151 ATTAATCCTA ACAGTGGTGG TGCTGGCTAC AACCAGCAGT TCAAAGGCAA
201 GGCCACATTG ACTGTAGACA AGTCCTCCAG GACAGCCTAC ATGGAGCTCC
251 GCAGCCTGAC ATCTGAGGAC TCTGCAGTCT ATTACTGTGC AAGATTGGGC
301 TACGTTGGTA ATTACGAGGA CTGGTACTTC GATGTCTGGG GCGCAGGGAC
351 CACGGTCACC GTCTCCTCAG CAAAACGAC ACCCCCATCT GTCTATCCAC
401 TGGCCCCCTGG ATCTGCTGCC CAACTAACT CCATGGTGAC CCTGGGATGC
451 CTGGTCAAGG GCTATTTCCC TGAGCCAGTG ACAGTGACCT GGAACCTCTGG
501 ATCCCTGTCC AGCGGTGTGC ACACCTTCCC AGCTGTCCTG CAGTCTGACC
551 TCTACACTCT GAGCAGCTCA GTGACTGTCC CCTCCAGCAC CTGGCCCAGC
601 GAGACCGTCA CCTGCAACGT TGCCACCCG GCCAGCAGCA CCAAGGTGGA
651 CAAGAAAATT GTGCCCAGGG ATTGTGGTTG TAAGCCTTGC ATATGTACAG
701 TCCAGAAAGT ATCATCTGTC TTCATCTTCC CCCCAAAGCC CAAGGATGTG
751 CTCACCATTA CTCTGACTCC TAAGGTCACG TGTGTTGTGG TAGACATCAG
801 CAAGGATGAT CCCGAGGTCC AGTTCAGCTG GTTTGTAGAT GATGTGGAGG
851 TGCACACAGC TCAGACGCAA CCCCAGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACTTTC
901 CGCTCAGTCA GTGAACTTCC CATCATGCAC CAGGACTGGC TCAATGGCAA
951 GGAGTTCAA TGCAGGGTCA ACAGTGCAGC TTTCCCTGCC CCCATCGAGA
1001 AAACCATCTC CAAAACCAA GGCAGACCGA AGGCTCCACA GGTGTACACC
1051 ATTCCACCTC CCAAGGAGCA GATGGCCAAG GATAAAGTCA GTCTGACCTG
1101 CATGATAACA GACTTCTTCC CTGAAGACAT TACTGTGGAG TGGCAGTGGA
1151 ATGGGCAGCC AGCGGAGAAC TACAAGAACA CTCAGCCCAT CATGGACACA
1201 GATGGCTCTT ACTTCATCTA CAGCAAGCTC AATGTGCAGA AGAGCAACTG
1251 GGAGGCAGGA AATACTTTCA CCTGCTCTGT GTTACATGAG GGCCTGCACA
1301 ACCACCATAC TGAGAAGAGC CTCTCCCACT CTCCTGGTAA A (配列番号 162)

10

20

【 0 2 0 7】

シグナルペプチドを含めたAb-7 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 8 8】

1 MGWSWTFLFL LSGTAGVLSE VQLQQSGPEL MKPGASVKMS CKASGYTFTD
51 YNMHWMKQNN GKSLEWIGEI NPNSGGAGYN QQFKGKATLT VDKSSRTAYM
101 ELRSLTSEDS AVYYCARLGY VGNYEDWYFD VWGAGTTVTV SSAKTPPSV
151 YPLAPGSAAQ TNSMVTLGCL VKGYFPEPVT VTWNSGSLSS GVHTEPAVLQ
201 SDLYTLSSSV TVPSSTWPSE TVTCNVAHPA SSTKVDKKIV PRDCGCKPCI
251 CTVPEVSSVF IFPPKPKDVL TITLTPKVTC VVVDISKDDP EVQFSWFVDD
301 VEVHTAQTPP REEQFNSTFR SVSELPIMHQ DWLNGKEFKC RVNSAAFPAP
351 IEKTISKTKG RPKAPQVYTI PPPKEQMAKD KVS LTCMITD FFPEDITVEW
401 QWNGQPAENY KNTQPIMDTD GSYFIYSKLN VQKSNWEAGN TFTCSVLHEG
451 LHNHHTTEKSL SHSPGK (配列番号 163)

40

【 0 2 0 8】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-7 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 8 9】

1 ATGGGATGGA GCTGGACCTT TCTCTTCCTC CTGTCAGGAA CTGCAGGTGT
 51 CCTCTCTGAG GTCCAGCTGC AACAGTCTGG ACCTGAACTA ATGAAGCCTG
 101 GGGCTTCAGT GAAGATGTCC TGCAAGGCTT CTGGATACAC ATTCAGTGAC
 151 TACAACATGC ACTGGATGAA GCAGAACCAA GGAAAGAGCC TAGAATGGAT
 201 AGGAGAAATT AATCCTAACA GTGGTGGTGC TGGCTACAAC CAGCAGTTCA
 251 AAGGCAAGGC CACATTGACT GTAGACAAGT CCTCCAGGAC AGCCTACATG
 301 GAGCTCCGCA GCCTGACATC TGAGGACTCT GCAGTCTATT ACTGTGCAAG
 351 ATTGGGCTAC GTTGGTAATT ACGAGGACTG GTACTTCGAT GTCTGGGGCG
 401 CAGGGACCAC GGTCACCGTC TCCTCAGCCA AAACGACACC CCCATCTGTC
 451 TATCCACTGG CCCCTGGATC TGCTGCCCAA ACTAACTCCA TGGTGACCCT
 501 GGGATGCCTG GTCAAGGGCT ATTTCCCTGA GCCAGTGACA GTGACCTGGA
 551 ACTCTGGATC CCTGTCCAGC GGTGTGCACA CCTTCCCAGC TGTCCTGCAG
 601 TCTGACCTCT ACACTCTGAG CAGCTCAGTG ACTGTCCCCT CCAGCACCTG
 651 GCCCAGCGAG ACCGTCACCT GCAACGTTGC CCACCCGGCC AGCAGCACCA
 701 AGGTGGACAA GAAAATTGTG CCCAGGGATT GTGGTTGTAA GCCTTGCATA
 751 TGTACAGTCC CAGAAGTATC ATCTGTCTTC ATCTTCCCCC CAAAGCCCAA
 801 GGATGTGCTC ACCATTACTC TGA CTCTAA GGTCACGTGT GTTGTGGTAG
 851 ACATCAGCAA GGATGATCCC GAGGTCCAGT TCAGCTGGTT TG TAGATGAT
 901 GTGGAGGTGC ACACAGCTCA GACGCAACCC CGGGAGGAGC AGTTCAACAG
 951 CACTTTCCGC TCAGTCAGTG AACTTCCCAT CATGCACCAG GACTGGCTCA
 1001 ATGGCAAGGA GTTCAAATGC AGGGTCAACA GTGCAGCTTT CCCTGCCCCC
 1051 ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AACCAAAGGC AGACCGAAGG CTCCACAGGT
 1101 GTACACCATT CCACCTCCCA AGGAGCAGAT GGCCAAGGAT AAAGTCAGTC
 1151 TGACCTGCAT GATAACAGAC TTCTTCCCTG AAGACATTAC TGTGGAGTGG
 1201 CAGTGGAATG GGCAGCCAGC GGAGAACTAC AAGAACA CT AGCCCATCAT
 1251 GGACACAGAT GGCTCTTACT TCATCTACAG CAAGCTCAAT GTGCAGAAGA
 1301 GCAACTGGGA GGCAGGAAAT ACTTTCACCT GCTCTGTGTT ACATGAGGGC
 1351 CTGCACAACC ACCATACTGA GAAGAGCCTC TCCCACTCTC CTGGTAAA (配
 列番号 164)

10

20

30

【 0 2 0 9】

Ab-8

抗体8 (本明細書ではAb-8とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである:

Ab-8 軽鎖:

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-8 LCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 9 0】

1 DIQMTQTTSS LSASLGDRVS ISCRASQDIS NYLNWYQOKP DGTFKLLIFY
 51 TSRLLSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIYNLEQ EDFATYFCQQ GDTPYTFGG
 101 GTKLEIKRAD AAPTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVWKI
 151 DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
 201 STSPIVKSFN RNEC (配列番号 165)

40

【 0 2 1 0】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-8 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである:

【化 9 1】

1 GATATCCAGA TGACACAGAC TACATCCTCC CTGTCTGCCT CTCTGGGAGA
51 CAGGGTCTCC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA AGACATTAGC AATTATTTAA
101 ACTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAACCTT TTAAACTCCT TATCTTCTAC
151 ACATCAAGAT TACTCTCAGG AGTCCCATCA AGGTTCAAGT GCAGTGGGTC
201 TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTTACAA CCTGGAGCAA GAAGATTTTG
251 CCACTTACTT TTGCCAACAG GGAGATACGC TTCCGTACAC TTTCGGAGGG
301 GGGACCAAAC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA CTGTATCCAT
351 CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC TCAGTCGTGT
401 GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA GTGGAAGATT
451 GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA CTGATCAGGA
501 CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG TTGACCAAGG
551 ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC TCACAAGACA
601 TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT GTTAG (配列番号
166)

10

【 0 2 1 1】

シグナルペプチドを含めたAb-8 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 9 2】

1 MMSSAQFLGL LLLCFQGTRC DIQMTQTTSS LSASLGDRVS ISCRASQDIS
51 NYLNWYQQKP DGTFLKLLIFY TSRLLSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIYNLEQ
101 EDFATYFCQQ GDTLPYTFGG GTKLEIKRAD APTVSIFPP SSEQLTSGGA
151 SVVCFLLNFY PKDINVKWKI DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT
201 LTKDEYERHN SYTCEATHKT STSPIVKSFN RNEC (配列番号 167)

20

【 0 2 1 2】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-8 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 9 3】

1 ATGATGTCCT CTGCTCAGTT CCTTGGTCTC CTGTTGCTCT GTTTTC AAGG
51 TACCAGATGT GATATCCAGA TGACACAGAC TACATCCTCC CTGTCTGCCT
101 CTCTGGGAGA CAGGGTCTCC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA AGACATTAGC
151 AATTATTTAA ACTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAACCTT TTAAACTCCT
201 TATCTTCTAC ACATCAAGAT TACTCTCAGG AGTCCCATCA AGGTTCAAGT
251 GCAGTGGGTC TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTTACAA CCTGGAGCAA
301 GAAGATTTTG CCACTTACTT TTGCCAACAG GGAGATACGC TTCCGTACAC
351 TTTCGGAGGG GGGACCAAAC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA
401 CTGTATCCAT CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC
451 TCAGTCGTGT GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA
501 GTGGAAGATT GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA
551 CTGATCAGGA CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG
601 TTGACCAAGG ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC
651 TCACAAGACA TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT
701 GTTAG (配列番号 168)

30

40

【 0 2 1 3】

Ab-8 重鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-8 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 9 4】

1 EVQLQQSGPE LMKPGASVKM SCKASGYTFT DYNMHWVKQN QGKTLDWIGE
 51 INPNSGGAGY NQKFKGKATL TVDKSSTTAY MELRSLTSED SAVYYCARLG
 101 YDDIYDDWYF DYWGAGTTVT VSSAKTTPPS VYPLAPGSAA QTNMVTLG
 151 LVKGYFPEPV TVTWNSGSLG SGVHTFPAVL QSDLYTLSSS VTVPSSTWPS
 201 ETVTCNVAHP ASSTKVDDKI VPRDCGCKPC ICTVPEVSSV FIFPPKPKDV
 251 LTITLTPKVT CVVVDISKDD PEVQFSWFVD DVEVHTAQIQ PREEQFNSTF
 301 RSVSELPIMH QDWLNGKEFK CRVNSAAFP A PIEKTISKTK GRPKAPQVYT
 351 IPPPKEQMAK DKVSLTCMIT DFFPEDITVE WQWNGQPAEN YKNTQPIMDT
 401 DGSYFIYSKL NVQKSNWEAG NTFTCSVLHE GLHNHHTKS LSHSPGK (配列番
 号 169)

10

【 0 2 1 4】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-8 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 9 5】

1 GAGGTCCAAC TGCAACAGTC TGGACCTGAA CTAATGAAGC CTGGGGGCTTC
 51 AGTGAAGATG TCCTGCAAGG CTTCTGGATA TACATTCAC TACTACAACA
 101 TGCACTGGGT GAAGCAGAAC CAAGGAAAGA CCCTAGACTG GATAGGAGAA
 151 ATTAATCCTA ACAGTGGTGG TGCTGGCTAC AACCAGAAGT TCAAGGGCAA
 201 GGCCACATTG ACTGTAGACA AGTCCTCCAC CACAGCCTAC ATGGAGCTCC
 251 GCAGCCTGAC ATCTGAGGAC TCTGCAGTCT ATTACTGTGC AAGATTGGGC
 301 TACGATGATA TCTACGACGA CTGGTACTTC GATGTCTGGG GCGCAGGGAC
 351 CACGGTCACC GTCTCCTCAG CCAAACGAC ACCCCCATCT GTCTATCCAC
 401 TGGCCCCTGG ATCTGCTGCC CAACTAACT CCATGGTGAC CCTGGGATGC
 451 CTGGTCAAGG GCTATTTCCC TGAGCCAGTG ACAGTGACCT GGAAGTCTGG
 501 ATCCCTGTCC AGCGGTGTGC ACACCTTCCC AGCTGTCTG CAGTCTGACC
 551 TCTACACTCT GAGCAGCTCA GTGACTGTCC CCTCCAGCAC CTGGCCCAGC
 601 GAGACCGTCA CCTGCAACGT TGCCCACCCG GCCAGCAGCA CCAAGGTGGA
 651 CAAGAAAATT GTGCCAGGG ATTGTGGTTG TAAGCCTTGC ATATGTACAG
 701 TCCCAGAAGT ATCATCTGTC TTCATCTTCC CCCCAGAGCC CAAGGATGTG
 751 CTCACCATTA CTCTGACTCC TAAGGTCACG TGTGTTGTGG TAGACATCAG
 801 CAAGGATGAT CCCGAGGTCC AGTTCAGCTG GTTTGTAGAT GATGTGGAGG
 851 TGCACACAGC TCAGACGCAA CCCCAGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACTTTC
 901 CGCTCAGTCA GTGAACTTCC CATCATGCAC CAGGACTGGC TCAATGGCAA
 951 GGAGTTCAAA TGCAGGGTCA ACAGTGCAGC TTCCCTGCC CCCATCGAGA
 1001 AAACCATCTC CAAAACCAA GGCAGACCGA AGGCTCCACA GGTGTACACC
 1051 ATTCCACCTC CCAAGGAGCA GATGGCCAAG GATAAAGTCA GTCTGACCTG
 1101 CATGATAACA GACTTCTTCC CTGAAGACAT TACTGTGGAG TGGCAGTGGA
 1151 ATGGGCAGCC AGCGGAGAAC TACAAGAACA CTCAGCCCAT CATGGACACA
 1201 GATGGCTCTT ACTTCATCTA CAGCAAGCTC AATGTGCAGA AGAGCAACTG
 1251 GGAGGCAGGA AATACTTTCA CCTGCTCTGT GTTACATGAG GGCCTGCACA
 1301 ACCACCATA TGAAGAAGAG CTCTCCCACT CTCCTGGTAA ATGA (配列番号
 170)

20

30

40

【 0 2 1 5】

シグナルペプチドを含めたAb-8 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 9 6】

1 MGWSWTFLFL LSGTAGVLSE VQLQQSGPEL MKPGASVKMS CKASGYTFTD
 51 YNMHWVKQNN GKTLDWIGEI NPNSGGAGYN QKFKGKATLT VDKSSTTAYM
 101 ELRLTSEDS AVYYCARLGY DDIYDDWYFD VWGAGTTVTV SSAKTPPSV
 151 YPLAPGSAAQ TNSMVTLGCL VKGYFPEPVT VTWNSGSLSS GVHTEPAVLQ
 201 SDLYTLSSSV TVPSSTWPSE TVTCNVAHPA SSTKVDKKIV PRDCGCKPCI
 251 CTVPEVSSVF IFPPKPKDVL TITLTPKVTC VVVDISKDDP EVQFSWFVDD
 301 VEVHTAQTP REEQFNSTFR SVSELPIMHQ DWLNGKEFKC RVNSAAFPAP
 351 IEKTISKTKG RPKAPQVYTI PPPKEQMAKD KVSLTCMITD FFPEDITVEW
 401 QWNGQPAENY KNTQPIMDTD GSYFIYSKLN VQKSNWEAGN TFTCSVLHEG
 451 LHNHHTEKSL SHSPGK (配列番号 171)

10

【 0 2 1 6 】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-8 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 9 7】

1 ATGGGATGGA GCTGGACCTT TCTCTTCCTC CTGTCAGGAA CTGCAGGTGT
 51 CCTCTCTGAG GTCCAACCTGC AACAGTCTGG ACCTGAACTA ATGAAGCCTG
 101 GGGCTTCAGT GAAGATGTCC TGCAAGGCTT CTGGATATAC ATTCACTGAC
 151 TACAACATGC ACTGGGTGAA GCAGAACCAA GGAAAGACCC TAGACTGGAT
 201 AGGAGAAATT AATCCTAACA GTGGTGGTGC TGGCTACAAC CAGAAGTTCA
 251 AGGGCAAGGC CACATTGACT GTAGACAAGT CCTCCACCAC AGCCTACATG
 301 GAGCTCCGCA GCCTGACATC TGAGGACTCT GCAGTCTATT ACTGTGCAAG
 351 ATTGGGCTAC GATGATATCT ACGACGACTG GACTTTCGAT GTCTGGGGCG
 401 CAGGGACCAC GGTCAACGTC TCCTCAGCCA AAACGACACC CCCATCTGTC
 451 TATCCACTGG CCCCTGGATC TGCTGCCCAA ACTAACTCCA TGGTGACCTT
 501 GGGATGCCTG GTCAAGGGCT ATTTCCCTGA GCCAGTGACA GTGACCTGGA
 551 ACTCTGGATC CCTGTCCAGC GGTGTGCACA CCTTCCCAGC TGTCCTGCAG
 601 TCTGACCTCT AACTCTGAG CAGCTCAGTG ACTGTCCCCT CCAGCACCTG
 651 GCCCAGCGAG ACCGTCACCT GCAACGTTGC CCACCCGGCC AGCAGCACCA
 701 AGGTGGACAA GAAAATTGTG CCCAGGGATT GTGGTTGTAA GCCTTGCATA
 751 TGTACAGTCC CAGAAGTATC ATCTGTCTTC ATCTTCCCCC CAAAGCCCAA
 801 GGATGTGCTC ACCATTACTC TGACTCCTAA GGTCACGTGT GTTGTGGTAG
 851 ACATCAGCAA GGATGATCCC GAGGTCCAGT TCAGCTGGTT TGTAGATGAT
 901 GTGGAGGTGC ACACAGCTCA GACGCAACCC CGGGAGGAGC AGTTCAACAG
 951 CACTTTCCGC TCAGTCAGTG AACTTCCCAT CATGCACCAG GACTGGCTCA
 1001 ATGGCAAGGA GTTCAAATGC AGGGTCAACA GTGCAGCTTT CCCTGCCCCC
 1051 ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AACCAAAGGC AGACCGAAGG CTCCACAGGT
 1101 GTACACCATT CCACCTCCCA AGGAGCAGAT GGCCAAGGAT AAAGTCAGTC
 1151 TGACCTGCAT GATAACAGAC TTCTTCCCTG AAGACATTAC TGTGGAGTGG
 1201 CAGTGGGAATG GGCAGCCAGC GGAGAACTAC AAGAACACTC AGCCCATCAT
 1251 GGACACAGAT GGCTCTTACT TCATCTACAG CAAGCTCAAT GTGCAGAAGA
 1301 GCAACTGGGA GGCAGGAAAT ACTTTCACCT GCTCTGTGTT ACATGAGGGC
 1351 CTGCACAACC ACCATACTGA GAAGAGCCTC TCCCACTCTC CTGGTAAATG
 1401 A (配列番号 172)

20

30

40

【 0 2 1 7 】

Ab-9

抗体9 (本明細書ではAb-9とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである：

Ab-9 軽鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-9 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 9 8】

1 DIQMTQITSS LSASLGDRVS ISCRASQDIS NYLNWYQQKP DGTFKLLIFY
51 TSRLFSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIYNLEQ EDFATYFCQQ GDTLPYTFGG
101 GTKVEIKRAD APTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVWKI
151 DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
201 STSPIVKSFN RNEC (配列番号 173)

【 0 2 1 8】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-9 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 9 9】

1 GATATCCAGA TGACACAGAT TACATCCTCC CTGTCTGCCT CTCTGGGAGA
51 CAGGGTCTCC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA AGACATTAGC AATTATTTAA
101 ATTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAACCT TTAAACTCCT TATCTTCTAC
151 ACATCAAGAT TATTTTCAGG AGTCCCATCA AGGTTCAGTG GCAGTGGGTC
201 TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTACAA CCTGGAGCAA GAAGATTTTG
251 CCACTTACTT TTGCCAACAG GGAGATACGC TTCCGTACAC TTTCGGAGGG
301 GGGACCAAGG TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA CTGTATCCAT
351 CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC TCAGTCGTGT
401 GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA GTGGAAGATT
451 GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA CTGATCAGGA
501 CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG TTGACCAAGG
551 ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC TCACAAGACA
601 TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT GT (配列番号 174)

【 0 2 1 9】

シグナルペプチドを含めたAb-9 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 0 0】

1 MMSSAQFLGL LLLCFQGTRC DIQMTQITSS LSASLGDRVS ISCRASQDIS
51 NYLNWYQQKP DGTFKLLIFY TSRLFSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIYNLEQ
101 EDFATYFCQQ GDTLPYTFGG GTKVEIKRAD APTVSIFPP SSEQLTSGGA
151 SVVCFLNNFY PKDINVWKI DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT
201 LTKDEYERHN SYTCEATHKT STSPIVKSFN RNEC (配列番号 175)

【 0 2 2 0】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-9 LCの核酸配列は以下の通りである：

10

20

30

【化 1 0 1】

1 ATGATGTCCT CTGCTCAGTT CCTTGGTCTC CTGTTGCTCT GTTTTCAAGG
51 TACCAGATGT GATATCCAGA TGACACAGAT TACATCCTCC CTGTCTGCCT
101 CTCTGGGAGA CAGGGTCTCC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA AGACATTAGC
151 AATTATTTAA ATTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAACTT TTAAACTCCT
201 TATCTTCTAC ACATCAAGAT TATTTTCAGG AGTCCCATCA AGGTTCAGTG
251 GCAGTGGGTC TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTACAA CCTGGAGCAA
301 GAAGATTTTG CCACTTACTT TTGCCAACAG GGAGATACGC TTCCGTACAC
351 TTTCGGAGGG GGGACCAAGG TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA
401 CTGTATCCAT CTTECCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC
451 TCAGTCGTGT GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA
501 GTGGAAGATT GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA
551 CTGATCAGGA CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG
601 TTGACCAAGG ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC
651 TCACAAGACA TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT
701 GT (配列番号 176)

10

【 0 2 2 1】

Ab-9 重鎖:

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-9 HCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 1 0 2】

20

1 EVQLQQSGPE LMKPGTSVKM SCKASGYTFT DYNMHWVKQT QGKTLEWIGE
51 INPNSGGAGY NQKFKGKATL TVDKSSTTAY MELRSLTSED SAVYYCAKLG
101 YDDIYDDWYF DWWGAGTTVT VSSAKTTAPS VYPLAPVCGD TTGSSVTLGC
151 LVKGYFPEPV TLTWNSGSL SDVHTFPALL QSGLYTLSSS VTVTTWPSQT
201 ITCNVAHPAS STKVDKKIEP RGSPTHKPCP PCPAPNLLGG PSVFIFPPKI
251 KDVLMISLSP MYTCVVVDVS EDDPDVHVSF FVNNVEVHTA QTQTHREDYN
301 STIRVVSALP IQHQDWMSGK EFKCKVNNKA LPAPIERTIS KPKGPVRAPO
351 VYVLPPEEE MTKKQVTLTC MITDFMPEDI YVEWTNNGQT ELNYKNTEPV
401 LDSDGSYFMY SKLRVEKKNW VERNYSYCSV VHEGLHNHHT TKSFSRTPGK (配
列番号 177)

30

【 0 2 2 2】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-9 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである:

【化 1 0 3】

1 GAGGTCCAAC TGCAACAGTC TGGACCTGAA CTAATGAAGC CTGGGACTTC
51 AGTGAAGATG TCCTGCAAGG CTTCTGGATA TACATTCACT GACTACAACA
101 TGCACTGGGT GAAGCAGACC CAAGGAAAGA CCCTAGAGTG GATAGGAGAA
151 ATTAATCCTA ACAGTGGTGG TGCTGGCTAC AACCAGAAGT TCAAGGGCAA
201 GGCCACATTG ACTGTAGACA AGTCCTCCAC CACAGCCTAC ATGGAGCTCC
251 GCAGCCTGAC ATCTGAGGAC TCTGCAGTCT ATTACTGTGC AAAATTGGGC
301 TACGATGATA TCTACGACGA CTGGTATTTC GATGTCTGGG GCGCAGGGAC
351 CACGGTCACC GTCTCCTCAG CCAAAACAAC AGCCCCATCG GTCTATCCAC
401 TGGCCCCCTGT GTGTGGAGAT ACAACTGGCT CCTCGGTGAC TCTAGGATGC
451 CTGGTCAAGG GTTATTTCCT TGAGCCAGTG ACCTTGACCT GGAAGTCTGG
501 ATCCCTGTCC AGTGATGTGC ACACCTTCCC AGCTCTCCTG CAGTCTGGCC
551 TCTACACCCT CAGCAGCTCA GTGACTGTAA CCACCTGGCC CAGCCAGACC
601 ATCACCTGCA ATGTGGCCCA CCCGGCAAGC AGCACCAAAG TGGACAAGAA
651 AATTGAGCCC AGAGGGTCCC CAACACATAA ACCCTGTCCT CCATGCCCAG
701 CTCCTAACCT CTTGGGTGGA CCATCCGTCT TCATCTTCCC TCCAAAGATC
751 AAGGATGTAC TCATGATCTC CCTGAGCCCC ATGGTCACGT GTGTGGTGGT
801 GGATGTGAGC GAGGATGACC CAGATGTCCA TGTCAGCTGG TTCGTGAACA
851 ACGTGGAAGT ACACACAGCT CAGACACAAA CCCATAGAGA GGATTACAAC
901 AGTACTATCC GGGTGGTCAG TGCCCTCCCC ATCCAGCACC AGGACTGGAT
951 GAGTGGCAAG GAGTTCAAAT GCAAGGTCAA CAACAAAGCC CTCCCAGCGC
1001 CCATCGAGAG AACCATCTCA AAACCCAAAG GGCCAGTAAG AGCTCCACAG
1051 GTATATGTCT TGCCTCCACC AGAAGAAGAG ATGACTAAGA AACAGGTCAC
1101 TCTGACCTGC ATGATCACAG ACTTCATGCC TGAAGACATT TACGTGGAGT
1151 GGACCAACAA CGGGCAAACA GAGCTAAACT ACAAGAACAC TGAACCAGTC
1201 CTGGACTCTG ATGGTTCTTA CTTGATGTAC AGCAAGCTGA GAGTGGAAAA
1251 GAAGAACTGG GTGGAAAGAA ATAGCTACTC CTGTTCAAGT GTCCACGAGG
1301 GTCTGCACAA TCACCACACG ACTAAGAGCT TCTCCCGGAC TCCGGGTAAA

10

20

(配列番号 178)

【 0 2 2 3】

30

シグナルペプチドを含めたAb-9 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 0 4】

1 MGWSWTFLEFL LSGTAGVLSE VQLQQSGPEL MKPGTSVKMS CKASGYTFTD
51 YNMHWVKQTQ GKTLEWIGEI NPNSGGAGYN QKFKGKATLT VDKSSTTAYM
101 ELRSLTSEDS AVYYCAKLG YDDIYDDWYFD VWGAGTTVTV SSAKTTAPSV
151 YPLAPVCGDT TGSSVTLGCL VKGYFPEPVT LTWNSGSLSS DVHTFPALLQ
201 SGLYTLSSSV TVTTWPSQTI TCNVAHPASS TKVDDKIEPR GSPTHKPCPP
251 CPAPNLLGGP SVFIFPPKIK DVLMLSLSPM VTCVVVDVSE DDPDVHVSWF
301 VNNVEVHTAQ TQTHREDYNS TIRVVSALPI QHQDWMSGKE FKCKVNNKAL
351 PAPIERTISK PKGPVRA PQV YVLPPPEEEM TTKQVTLTCM ITDFMPEDIY
401 VEWTNNGQTE LNYKNTEPVL DSDGSYFMYS KLRVEKKNWV ERNSYSCSVV
451 HEGLHNHHTT KSFSRTPGK (配列番号 179)

40

【 0 2 2 4】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-9 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 0 5】

1 ATGGGATGGA GCTGGACCTT TCTCTTCCTC CTGTCAGGAA CTGCAGGTGT
 51 CCTCTCTGAG GTCCAACCTGC AACAGTCTGG ACCTGAACTA ATGAAGCCTG
 101 GGACTTCAGT GAAGATGTCC TGCAAGGCTT CTGGATATAC ATTCACTGAC
 151 TACAACATGC ACTGGGTGAA GCAGACCCAA GGAAAGACCC TAGAGTGGAT
 201 AGGAGAAATT AATCCTAACA GTGGTGGTGC TGGCTACAAC CAGAAGTTCA
 251 AGGGCAAGGC CACATTGACT GTAGACAAGT CCTCCACCAC AGCCTACATG
 301 GAGCTCCGCA GCCTGACATC TGAGGACTCT GCAGTCTATT ACTGTGCAAA
 351 ATTGGGCTAC GATGATATCT ACGACGACTG GTATTTTCGAT GTCTGGGGCG
 401 CAGGGACCAC GGTACCCGTC TCCTCAGCCA AAACAACAGC CCCATCGGTC
 451 TATCCACTGG CCCCTGTGTG TGGAGATACA ACTGGCTCCT CGGTGACTCT
 501 AGGATGCCTG GTCAAGGGTT ATTTCCCTGA GCCAGTGACC TTGACCTGGA
 551 ACTCTGGATC CCTGTCCAGT GATGTGCACA CCTTCCCAGC TCTCCTGCAG
 601 TCTGGCCTCT ACACCCTCAG CAGCTCAGTG ACTGTAACCA CCTGGCCCAG
 651 CCAGACCATC ACCTGCAATG TGGCCCCACCC GGCAAGCAGC ACCAAAGTGG
 701 ACAAGAAAAT TGAGCCCA GGGTCCCCAA CACATAAACC CTGTCCTCCA
 751 TGCCCAGCTC CTAACCTCTT GGGTGGACCA TCCGTCTTCA TCTTCCCTCC
 801 AAAGATCAAG GATGTACTCA TGATCTCCCT GAGCCCCATG GTCAAGTGTG
 851 TGGTGGTGG TGTGAGCGAG GATGACCCAG ATGTCCATGT CAGCTGGTTC
 901 GTGAACAACG TGGAAGTACA CACAGCTCAG ACACAAACCC ATAGAGAGGA
 951 TTACAACAGT ACTATCCGGG TGGTCAGTGC CCTCCCCATC CAGCACCAGG
 1001 ACTGGATGAG TGGCAAGGAG TTCAAATGCA AGGTCAACAA CAAAGCCCTC
 1051 CCAGCGCCCA TCGAGAGAAC CATCTCAAAA CCCAAAGGGC CAGTAAGAGC
 1101 TCCACAGGTA TATGTCTTGC CTCCACCAGA AGAAGAGATG ACTAAGAAAC
 1151 AGGTCCTCT GACCTGCATG ATCACAGACT TCATGCCTGA AGACATTTAC
 1201 GTGGAGTGGA CCAACAACGG GCAAACAGAG CTAAACTACA AGAACACTGA
 1251 ACCAGTCCTG GACTCTGATG GTTCTTACTT CATGTACAGC AAGCTGAGAG
 1301 TGGAAAAGAA GAACTGGGTG GAAAGAAATA GCTACTCCTG TTCAGTGGTC
 1351 CACGAGGGTC TGCACAATCA CCACACGACT AAGAGCTTCT CCCGGACTCC
 1401 GGGTAAA (配列番号 180)

10

20

30

【 0 2 2 5】

Ab-10

抗体10 (本明細書ではAb-10とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである：

Ab-10 軽鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-10 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 0 6】

1 DIQMTQTSS LSASLGDRVS ISCRASODIS NYLNWYQOKP DGTFKLLIFY
 51 TSRLLSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIYNLEQ EDFATYFCQQ GDTLPYTFGG
 101 GTKLEIKRAD APTVSIFPL SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVWKI
 151 DGSRQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT
 201 STSPIVKSFN RNEC (配列番号 181)

40

【 0 2 2 6】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-10 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 1 0 7】

1 GATATCCAGA TGACACAGAC TACATCCTCC CTGTCTGCCT CTCTGGGAGA
 51 CAGGGTCTCC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA AGACATTAGC AATTATTTAA
 101 ACTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAACCT TTAAACTCCT TATCTTCTAC
 151 ACATCAAGAT TACTCTCAGG AGTCCCATCA AGGTTCAGTG GCAGTGGGTC
 201 TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTTACAA CCTGGAGCAA GAAGATTTTG
 251 CCACTTACTT TTGCCAACAG GGAGATACGC TTCCGTACAC TTTCGGAGGG
 301 GGGACCAAAC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA CTGTATCCAT
 351 CTTCCCCTA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC TCAGTCGTGT
 401 GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA GTGGAAGATT
 451 GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA CTGATCAGGA
 501 CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG TTGACCAAGG
 551 ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC TCACAAGACA
 601 TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT GTTAG (配列番号
 182)

10

【 0 2 2 7】

シグナルペプチドを含めたAb-10 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 0 8】

1 MMSSAQFLGL LLLCFQGTRC DIQMTQTTSS LSASLGDRVS ISCRASQDIS
 51 NYLNWYQQKP DGTFLKLLIFY TSRLLSGVPS RFSGSGSGTD YSLTIYNLEQ
 101 EDFATYFCQQ GDTLPYTFGG GTKLEIKRAD APTVSIPL SSEQLTSGGA
 151 SVVCFLNNFY PKDINVKWKI DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT
 201 LTKDEYERHN SYTCEATHKT STSPIVKSFN RNEC (配列番号 183)

20

【 0 2 2 8】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-10 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 0 9】

1 ATGATGTCCT CTGCTCAGTT CCTTGGTCTC CTGTTGCTCT GTTTTCAAGG
 51 TACCAGATGT GATATCCAGA TGACACAGAC TACATCCTCC CTGTCTGCCT
 101 CTCTGGGAGA CAGGGTCTCC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA AGACATTAGC
 151 AATTATTTAA ACTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAACCT TTAAACTCCT
 201 TATCTTCTAC ACATCAAGAT TACTCTCAGG AGTCCCATCA AGGTTCAGTG
 251 GCAGTGGGTC TGGAACAGAT TATTCTCTCA CCATTTACAA CCTGGAGCAA
 301 GAAGATTTTG CCACTTACTT TTGCCAACAG GGAGATACGC TTCCGTACAC
 351 TTTCGGAGGG GGGACCAAAC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA
 401 CTGTATCCAT CTTCCCCTA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC
 451 TCAGTCGTGT GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA
 501 GTGGAAGATT GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA
 551 CTGATCAGGA CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG
 601 TTGACCAAGG ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC
 651 TCACAAGACA TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT
 701 GTTAG (配列番号 184)

30

40

【 0 2 2 9】

Ab-10 重鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-10 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 1 0】

1 EVQLQDSGPE LMKPGASVKM SCKASGYTFT DYNMHWVKQN QGKTLIEWIG
 51 INPNSGGAGY NQKFKGKATL TVDKSSTTAY MELRSLTSED SAVYYCAREG
 101 YDDIYDDWYF DVWGAGTTVT VSSAKTTPPS VYPLAPGSAA QTNMVTLG
 151 LVKGYFPEPV TVTWNSGSLG SGVHTFPAVL QSDLYTLSSS VTVPSSTWPS
 201 ETVTCNVAHP ASSTKVDKKI VPRDCGCKPC ICTVPEVSSV FIFPPKPKDV
 251 LTITLTPKVT CVVVDISKDD PEVQFSWFVD DVEVHTAQTQ PREEQFNSTF
 301 RSVSELPIMH QDWLNGKEFK CRVNSAFAPIEKTISKTK GRPKAPQVYT
 351 IPPPKEQMAK DKVSLTCMIT DFFPEDITVE WQWNGQPAEN YKNTQPIMDT
 401 DGSYFIYSKL NVQKSNWEAG NTFTCSVLHE GLHNHHTEKS LSHSPGK (配列番
 号 185)

10

【 0 2 3 0】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-10 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 1 1 1】

1 GAGGTCCAAC TGCAACAGTC TGGACCTGAA CTAATGAAGC CTGGGGCTTC
 51 AGTGAAGATG TCCTGCAAGG CTTCTGGATA TACATTCAC TACTACAACA
 101 TGCACCTGGT GAAGCAGAAC CAAGGAAAGA CCCTAGAATG GATAGGAGAA
 151 ATTAATCCTA ACAGTGGTGG TGCTGGCTAC AACCAGAAGT TCAAGGGCAA
 201 GGCCACATTG ACTGTAGACA AGTCCTCCAC CACAGCCTAC ATGGAGCTCC
 251 GCAGCCTGAC ATCTGAGGAC TCTGCAGTCT ATTACTGTGC AAGATTGGGC
 301 TACGATGATA TCTACGACGA CTGGTACTTC GATGTCTGGG GCGCAGGGAC
 351 CACGGTCACC GTCTCCTCAG CCAAACGAC ACCCCCATCT GTCTATCCAC
 401 TGGCCCCTGG ATCTGCTGCC CAAACTAACT CCATGGTGAC CCTGGGATGC
 451 CTGGTCAAGG GCTATTTCCC TGAGCCAGTG ACAGTGACCT GGAACCTCTGG
 501 ATCCCTGTCC AGCGGTGTGC ACACCTTCCC AGCTGTCCTG CAGTCTGACC
 551 TCTACACTCT GAGCAGCTCA GTGACTGTCC CCTCCAGCAC CTGGCCCAGC
 601 GAGACCGTCA CCTGCAACGT TGCCCACCCG GCCAGCAGCA CCAAGGTGGA
 651 CAAGAAAATT GTGCCCAGGG ATTGTGGTTG TAAGCCTTGC ATATGTACAG
 701 TCCCAGAAGT ATCATCTGTC TTCATCTTCC CCCCAGAGCC CAAGGATGTG
 751 CTCACCATTA CTCTGACTCC TAAGGTCACG TGTGTTGTGG TAGACATCAG
 801 CAAGGATGAT CCCGAGGTCC AGTTCAGCTG GTTTGTAGAT GATGTGGAGG
 851 TGCACACAGC TCAGACGCAA CCCCAGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACTTTC
 901 CGCTCAGTCA GTGAACTTCC CATCATGCAC CAGGACTGGC TCAATGGCAA
 951 GGAGTTCAAA TGCAGGGTCA ACAGTGCAGC TTTCCCTGCC CCCATCGAGA
 1001 AAACCATCTC CAAAACCAAA GGCAGACCGA AGGCTCCACA GGTGTACACC
 1051 ATTCCACCTC CCAAGGAGCA GATGGCCAAG GATAAAGTCA GTCTGACCTG
 1101 CATGATAACA GACTTCTTCC CTGAAGACAT TACTGTGGAG TGGCAGTGGA
 1151 ATGGGCAGCC AGCGGAGAAC TACAAGAACA CTCAGCCCAT CATGGACACA
 1201 GATGGCTCTT ACTTCATCTA CAGCAAGCTC AATGTGCAGA AGAGCAACTG
 1251 GGAGGCAGGA AATACTTTCA CCTGCTCTGT GTTACATGAG GGCCTGCACA
 1301 ACCACCATAC TGAGAAGAGC CTCTCCCACT CTCCTGGTAA ATGA (配列番号
 186)

20

30

40

【 0 2 3 1】

シグナルペプチドを含めたAb-10 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 1 2】

1 MGWSWTFLL LSGTAGVLSE VQLQQSGPEL MKPGASVKMS CKASGYTFTD
 51 YNMHWVKQNN QKTLEWIGEI NPNSGGAGYN QKFKGKATLT VDKSSTTAYM
 101 ELRLTSEDS AVYYCARLGY DDIYDDWYFD VWGAGTTVTV SSAKTTPPSV
 151 YPLAPGSAAQ TNSMVTLGCL VKGYFPEPVT VTWNSGSLSS GVHTEPAVLQ
 201 SDLYTLSSSV TVPSSTWPSE TVTCNVAHPA SSTKVDKKIV PRDCGCKPCI
 251 CTVPEVSSVF IFPPKPKDVL TITLTPKVTC VVVDISKDDP EVQFSWFVDD
 301 VEVHTAQTPP REEQFNSTFR SVSELPIMHQ DWLNGKEFKC RVNSAAFPAP
 351 IEKTISKTKG RPKAPQVYTI PPPKEQMAKD KVSILTCMITD FFPEDITVEW
 401 QWNGQPAENY KNTQPIMDTD GSYFIYSKLN VQKSNWEAGN TFTCSVLHEG
 451 LHNHHTKSL SHSPGK (配列番号 187)

10

【 0 2 3 2】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-10 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 1 3】

1 ATGGGATGGA GCTGGACCTT TCTCTTCCTC CTGTCAGGAA CTGCAGGTGT
 51 CCTCTCTGAG GTCCAACCTGC AACAGTCTGG ACCTGAACTA ATGAAGCCTG
 101 GGGCTTCAGT GAAGATGTCC TGCAAGGCTT CTGGATATAC ATTCACTGAC
 151 TACAACATGC ACTGGGTGAA GCAGAACCAA GGAAAGACCC TAGAATGGAT
 201 AGGAGAAATT AATCCTAACA GTGGTGGTGC TGGCTACAAC CAGAAGTTCA
 251 AGGGCAAGGC CACATTGACT GTAGACAAGT CCTCCACCAC AGCCTACATG
 301 GAGCTCCGCA GCCTGACATC TGAGGACTCT GCAGTCTATT ACTGTGCAAG
 351 ATTGGGCTAC GATGATATCT ACGACGACTG GACTTTCGAT GTCTGGGGCG
 401 CAGGGACCAC GGTCAACGTC TCCTCAGCCA AAACGACACC CCCATCTGTC
 451 TATCCACTGG CCCCTGGATC TGCTGCCCAA ACTAACTCCA TGGTGACCC
 501 GGGATGCCTG GTCAAGGGCT ATTTCCCTGA GCCAGTGACA GTGACCTGGA
 551 ACTCTGGATC CCTGTCCAGC GGTGTGCACA CCTTCCCAGC TGTCTGCAG
 601 TCTGACCTCT AACTCTGAG CAGCTCAGTG ACTGTCCCCT CCAGCACCTG
 651 GCCCAGCGAG ACCGTCACCT GCAACGTTGC CCACCCGGCC AGCAGCACCA
 701 AGGTGGACAA GAAAATTGTG CCCAGGGATT GTGGTTGTAA GCCTTGATA
 751 TGTACAGTCC CAGAAGTATC ATCTGTCTTC ATCTTCCCCC CAAAGCCCAA
 801 GGATGTGCTC ACCATTACTC TGACTCCTAA GGTCACGTGT GTTGTGGTAG
 851 ACATCAGCAA GGATGATCCC GAGGTCCAGT TCAGCTGGTT TGTAGATGAT
 901 GTGGAGGTGC ACACAGCTCA GACGCAACCC CGGGAGGAGC AGTTCAACAG
 951 CACTTTCCGC TCAGTCAGTG AACTTCCCAT CATGCACCAG GACTGGCTCA
 1001 ATGGCAAGGA GTTCAAATGC AGGGTCAACA GTGCAGCTTT CCCTGCCCCC
 1051 ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AACCAAAGGC AGACCGAAGG CTCCACAGGT
 1101 GTACACCATC CCACCTCCA AGGAGCAGAT GGCCAAGGAT AAAGTCAGTC
 1151 TGACCTGCAT GATAACAGAC TTCTTCCCTG AAGACATTAC TGTGGAGTGG
 1201 CAGTGGAATG GGCAGCCAGC GGAGAACTAC AAGAACAATC AGCCCATCAT
 1251 GGACACAGAT GGCTCTTACT TCATCTACAG CAAGCTCAAT GTGCAGAAGA
 1301 GCAACTGGGA GGCAGGAAAT ACTTTCACCT GCTCTGTGTT ACATGAGGGC
 1351 CTGCACAACC ACCATACTGA GAAGAGCCTC TCCCACTCTC CTGGTAAATG
 1401 A (配列番号 188)

20

30

40

【 0 2 3 3】

Ab-11

抗体11 (本明細書ではAb-11とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである。

【 0 2 3 4】

Ab-11 軽鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-11 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

50

【化 1 1 4】

1 QIVLSQSPAF LSVSPGDKVT MTCRASSIS YIHWFQQKPG SSPRSWIYAT
51 SNLASGVPGR FSGSGSGTSY SLTISRVEAE DAATYYCQQW SSDPLTFGAG
101 TKLELKRADA APTVSIFPPS SEQLTSGGAS VVCFLNNFYP KDINVKWKID
151 GSERQNGVLN SWTDQDSKDS TYSMSSTLTL TKDEYERHNS YTCEATHKTS
201 TSPIVKSFNR NEC (配列番号 189)

【0 2 3 5】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-11 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 1 1 5】

1 CAAATTGTTC TCTCCCAGTC TCCAGCATTC CTGTCTGTAT CTCCAGGGGA
51 TAAGGTCACA ATGACTTGCA GGGCCAGCTC AAGTATAAGT TACATACACT
101 GGTTTCAGCA GAAGCCAGGA TCCTCCCCCA GATCCTGGAT TTATGCCACA
151 TCCAACCTGG CTTCTGGAGT CCCTGGTCGC TTCAGTGGCA GTGGGTCTGG
201 GACCTCTTAC TCTCTCACA TCAGCAGAGT GGAGGCTGAG GATGCTGCCA
251 CTTATTACTG CCAGCAGTGG AGTAGTGACC CACTCACGTT CGGTGCTGGG
301 ACCAAGCTGG AGCTGAAACG GGCTGATGCT GCACCAACTG TATCCATCTT
351 CCCACCATCC AGTGAGCAGT TAACATCTGG AGGTGCCTCA GTCGTGTGCT
401 TCTTGAACAA CTTCTACCCC AAAGACATCA ATGTCAAGTG GAAGATTGAT
451 GGCAGTGAAC GACAAAATGG CGTCCTGAAC AGTTGGACTG ATCAGGACAG
501 CAAAGACAGC ACCTACAGCA TGAGCAGCAC CCTCACGTTG ACCAAGGACG
551 AGTATGAACG ACATAACAGC TATACCTGTG AGGCCACTCA CAAGACATCA
601 ACTTCACCCA TTGTCAAGAG CTTCAACAGG AATGAGTGTT AG (配列番号 190)

【0 2 3 6】

シグナルペプチドを含めたAb-11 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 1 6】

1 MDFQVQIFSF LLISASVIMS RGQIVLSQSP AFLSVSPGDK VTMTCRASSS
51 ISYIHWFQQK PGSSPRSWIY ATSNLASGVP GRFSGSGSGT SYSLTISRVE
101 AEDAATYYCQ QWSSDPLTFG AGTKLELKRA DAAPTVSIFP PSSEQLTSGG
151 ASVVCFLNNF YPKDINVKWK IDGSERQNGV LNSWTDQDSK DSTYMSSTL
201 TLTKDEYERH NSYTCEATHK TSTSPIVKSF NRNEC (配列番号 191)

【0 2 3 7】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-11 LCの核酸配列は以下の通りである：

10

20

30

【化 1 1 7】

1 ATGGATTTTC AAGTGCAGAT TTTCAGCTTC CTGCTAATCA GTGCTTCAGT
 51 CATAATGTCC AGAGGACAAA TTGTTCTCTC CCAGTCTCCA GCATTCCTGT
 101 CTGTATCTCC AGGGGATAAG GTCACAATGA CTTGCAGGGC CAGCTCAAGT
 151 ATAAGTTACA TACACTGGTT TCAGCAGAAG CCAGGATCCT CCCCCAGATC
 201 CTGGATTTAT GCCACATCCA ACCTGGCTTC TGGAGTCCCT GGTCGCTTCA
 251 GTGGCAGTGG GTCTGGGACC TCTTACTCTC TCACAATCAG CAGAGTGGAG
 301 GCTGAGGATG CTGCCACTTA TTA CTGCCAG CAGTGGAGTA GTGACCCACT
 351 CACGTTCCGT GCTGGGACCA AGCTGGAGCT GAAACGGGCT GATGCTGCAC
 401 CAACTGTATC CATCTTCCCA CCATCCAGTG AGCAGTTAAC ATCTGGAGGT
 451 GCCTCAGTCG TGTGCTTCTT GAACAACCTC TACCCCAAAG ACATCAATGT
 501 CAAGTGGAAG ATTGATGGCA GTGAACGACA AAATGGCGTC CTGAACAGTT
 551 GGACTGATCA GGACAGCAAA GACAGCACCT ACAGCATGAG CAGCACCCCTC
 601 ACGTTGACCA AGGACGAGTA TGAACGACAT AACAGCTATA CCTGTGAGGC
 651 CACTCACAAG ACATCAACTT CACCCATTGT CAAGAGCTTC AACAGGAATG
 701 AGTGTTAG (配列番号 192)

10

【 0 2 3 8】

Ab-11 重鎖:

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-11 HCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 1 1 8】

20

1 EVQLQQSGAD LVQPGASVKV SCTASGFDIK DYYIHWMKQR PDQGLEWIGR
 51 MDPDNGETEF APKFPGKATF TTDTSNTAY LQLRGLTSED TAIYYCGRED
 101 YDGIYTWEPY WGQGLVTVS AAKTTPPSVY PLAPGSAAQT NSMVTLGCLV
 151 KGYFPEPVTV TWNSGSLSSG VHTFPAVLQS DLYTLSSSVT VPSSTWPSET
 201 VTCNVAHPAS STKVDKKIVP RDCGCKPCIC TVPEVSSVFI FPPKPKDVLT
 251 ITLTPKVTCV VVDISKDDPE VQFSWFVDDV EVHTAQTOPR EEQFNSTFRS
 301 VSELPIMHQD WLNGKEFKCR VNSAAFPAPI EKTISKTKGR PKAPQVYTIP
 351 PPKEQMAKDK VSLTCMITDF FPEDITVEWQ WNGQPAENYK NTQPIMDTDG
 401 SYFIYSKLNV QKSNWEAGNT FTCSVLHEGL HNHHTEKSLS HSPGK (配列番号
 193)

30

【 0 2 3 9】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-11 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである:

【化 1 1 9】

1 GAAGTTCAGC TGCAACAGTC TGGGGCAGAC CTTGTGCAGC CAGGGGCCTC
 51 AGTCAAGGTG TCCTGCACAG CTTCTGGCTT CGACATTAAG GACTACTATA
 101 TACACTGGAT GAAACAGAGG CCTGACCAGG GCCTGGAGTG GATTGGAAGG
 151 GTTGATCCTG ACAATGGTGA GACTGAATTT GCCCCGAAGT TCCCGGGCAA
 201 GGCCACTTTT ACAACAGACA CATCCTCCAA CACAGCCTAC CTACAACTCA
 251 GAGGCCTGAC ATCTGAGGAC ACTGCCATCT ATTACTGTGG GAGAGAAGAC
 301 TACGATGGTA CCTACACCTG GTTTCCTTAT TGGGGCCAAG GGACTCTGGT
 351 CACTGTCTCT GCAGCCAAAA CGACACCCCC ATCTGTCTAT CCACTGGCCC
 401 CTGGATCTGC TGCCCAAACCT AACTCCATGG TGACCCTGGG ATGCCTGGTC
 451 AAGGGCTATT TCCCTGAGCC AGTGACAGTG ACCTGGAACCT CTGGATCCCT
 501 GTCCAGCGGT GTGCACACCT TCCAGCTGT CCTGCAGTCT GACCTCTACA
 551 CTCTGAGCAG CTCAGTGACT GTCCCCTCCA GCACCTGGCC CAGCGAGACC
 601 GTCACCTGCA ACGTTGCCCA CCCGGCCAGC AGCACCAAGG TGGACAAGAA
 651 AATTGTGCC AGGGATTGTG GTTGTAAGCC TTGCATATGT ACAGTCCCAG
 701 AAGTATCATC TGTCTTCATC TTCCCCCAA AGCCCAAGGA TGTGCTCACC
 751 ATTACTCTGA CTCCTAAGGT CACGTGTGTT GTGGTAGACA TCAGCAAGGA
 801 TGATCCCGAG GTCCAGTTCA GCTGGTTTGT AGATGATGTG GAGGTGCACA
 851 CAGCTCAGAC GCAACCCCGG GAGGAGCAGT TCAACAGCAC TTTCCGCTCA
 901 GTCAGTGAAC TTCCCATCAT GCACCAGGAC TGGCTCAATG GCAAGGAGTT
 951 CAAATGCAGG GTCAACAGTG CAGCTTTCCC TGCCCCCATC GAGAAAACCA
 1001 TCTCCAAAAC CAAAGGCAGA CCGAAGGCTC CACAGGTGTA CACCATTCCA
 1051 CCTCCCAAGG AGCAGATGGC CAAGGATAAA GTCAGTCTGA CCTGCATGAT
 1101 AACAGACTTC TTCCCTGAAG ACATTACTGT GGAGTGGCAG TGGAATGGGC
 1151 AGCCAGCGGA GAACTACAAG AACACTCAGC CCATCATGGA CACAGATGGC
 1201 TCTTACTTCA TCTACAGCAA GCTCAATGTG CAGAAGAGCA ACTGGGAGGC
 1251 AGGAAATACT TTCACCTGCT CTGTGTTACA TGAGGGCCTG CACAACCACC
 1301 ATACTGAGAA GAGCCTCTCC CACTCTCCTG GTAAATGA (配列番号 194)

10

20

【 0 2 4 0】

シグナルペプチドを含めたAb-11 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 1 2 0】

1 MKCSWVIFFL MAVVTGVNSE VQLQQSGADL VQPGASVKVS CTASGFDIKD
 51 YYIHWMKQRP DQGLEWIGRV DPDNGETEFK PKFPGKATFT TDTSSNTAYL
 101 QLRGLTSEDY AIYYCGREDY DGTYTWFYVW GQGLVTVSA AKTTPPSVYP
 151 LAPGSAAQTN SMVTLGCLVK GYFPEPVTVT WNSGSLSSGV HTFPAVLQSD
 201 LYTLSSSVTV PSSTWPSETV TCNVAHPASS TKVDKKIVPR DCGCKPCICT
 251 VPEVSSVFIF PPKPKDVLTI TLTPKVTCVV VDISKDDPEV QFSWFVDDVE
 301 VHTAQTQPRE EQFNSTFRSV SELPIMHQDW LNGKEFKCRV NSAAFPAPIE
 351 KTISKTKGRP KAPQVYTIPP PKEQMAKDKV SLTCMITDEFF PEDITVEWQW
 401 NGQPAENYKN TQPIMDTDGS YFIYSKLVNQ KSNWEAGNTF TCSVLHEGLH
 451 NHHTEKSLSH SPGK (配列番号 195)

40

【 0 2 4 1】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-11 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 2 1】

1 ATGAAATGCA GCTGGGTCAT CTTCTTCCTG ATGGCAGTGG TTACAGGGGT
 51 CAATTCAGAA GTTCAGCTGC AACAGTCTGG GGCAGACCTT GTGCAGCCAG
 101 GGGCCTCAGT CAAGGTGTCC TGCACAGCTT CTGGCTTCGA CATTAAAGGAC
 151 TACTATATAC ACTGGATGAA ACAGAGGCCT GACCAGGGCC TGGAGTGGAT
 201 TGGAAGGGTT GATCCTGACA ATGGTGAGAC TGAATTTGCC CCGAAGTTCC
 251 CGGGCAAGGC CACTTTTACA ACAGACACAT CCTCCAACAC AGCCTACCTA
 301 CAACTCAGAG GCCTGACATC TGAGGACACT GCCATCTATT ACTGTGGGAG
 351 AGAAGACTAC GATGGTACCT ACACCTGGTT TCCTTATTGG GGCCAAGGGA
 401 CTCTGGTCAC TGTCTCTGCA GCCAAAACGA CACCCCCATC TGTCTATCCA
 451 CTGGCCCCCTG GATCTGCTGC CCAAATAAC TCCATGGTGA CCCTGGGATG
 501 CCTGGTCAAG GGCTATTTCC CTGAGCCAGT GACAGTGACC TGGAAGTCTG
 551 GATCCCTGTC CAGCGGTGTG CACACCTTCC CAGCTGTCCT GCAGTCTGAC
 601 CTCTACACTC TGAGCAGCTC AGTGACTGTC CCCTCCAGCA CCTGGCCCAG
 651 CGAGACCGTC ACCTGCAACG TTGCCACCCC GGCCAGCAGC ACCAAGGTGG
 701 ACAAGAAAAT TGTGCCCAGG GATTGTGGTT GTAAGCCTTG CATATGTACA
 751 GTCCCAGAAG TATCATCTGT CTTCATCTTC CCCCCAAAGC CCAAGGATGT
 801 GCTCACCATT ACTCTGACTC CTAAGGTCAC GTGTGTTGTG GTAGACATCA
 851 GCAAGGATGA TCCCGAGGTC CAGTTCAGCT GGTTTGTAGA TGATGTGGAG
 901 GTGCACACAG CTCAGACGCA ACCCCGGGAG GAGCAGTTCA ACAGCACTTT
 951 CCGCTCAGTC AGTGAAGTTC CCATCATGCA CCAGGACTGG CTCAATGGCA
 1001 AGGAGTTCAA ATGCAGGGTC AACAGTGCAG CTTCCTCTGC CCCCATCGAG
 1051 AAAACCATCT CCAAAACCAA AGGCAGACCG AAGGCTCCAC AGGTGTACAC
 1101 CATTCCACCT CCAAGGAGC AGATGGCCAA GGATAAAGTC AGTCTGACCT
 1151 GCATGATAAC AGACTTCTTC CCTGAAGACA TTAAGTGTGA GTGGCAGTGG
 1201 AATGGGCAGC CAGCGGAGAA CTACAAGAAC ACTCAGCCCA TCATGGACAC
 1251 AGATGGCTCT TACTTCATCT ACAGCAAGCT CAATGTGCAG AAGAGCAACT
 1301 GGGAGGCAGG AAATACTTTC ACCTGCTCTG TGTTACATGA GGGCCTGCAC
 1351 AACCACCATA CTGAGAAGAG CCTCTCCAC TCTCCTGGTA AATGA (配列番
 号 196)

10

20

30

【 0 2 4 2】

Ab-12

抗体12 (本明細書ではAb-12とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである。

【 0 2 4 3】

Ab-12 軽鎖:

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-12 LCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 1 2 2】

1 DLQMTQTTSS LSASLGDRVT ISCRASQDIS NYLNWYQQKP DGTVKLLIFY
 51 **ISTLQSGVPS** RFSGSGSGTN YSLTITNLEQ DDAATYFCQQ GDTLPTYTFGG
 101 **GTKLEIKRAD APTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVWKI**
 151 **DGSEKQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT LTKDEYERHN SYTCEATHKT**
 201 **STSPIVKSFN RNEC** (配列番号 197)

40

【 0 2 4 4】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-12 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである:

【化 1 2 3】

1 GATCTCCAGA TGACACAGAC TACTTCCTCC CTGTCTGCCT CTCTGGGAGA
 51 CAGAGTCACC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA GGACATTAGC AATTATTTAA
 101 ACTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAAGTCT TAAAGCTCCT GATCTTCTAC
 151 ACATCAACAT TACAGTCAGG AGTCCCATCG AGGTTCAGTG GCAGTGGGTC
 201 TGGAACAAAT TATTCTCTCA CCATTACCAA CCTGGAGCAA GATGATGCTG
 251 CCACTTACTT TTGCCAACAG GGTGATACGC TTCCGTACAC GTTCGGAGGG
 301 GGGACCAAGC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA CTGTATCCAT
 351 CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC TCAGTCGTGT
 401 GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA GTGGAAGATT
 451 GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA CTGATCAGGA
 501 CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG TTGACCAAGG
 551 ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC TCACAAGACA
 601 TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT GTTAG (配列番号
 198)

10

【 0 2 4 5】

シグナルペプチドを含めたAb-12 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 2 4】

1 MMSSAQFLGL LLLCFQGSRC DLQMTQTTSS LSASLGDRVT ISCRASQDIS
 51 NYLNWYQQKP DGTVKLLIFY TSTLQSGVPS RFSGSGSGTN YSLTITNLEQ
 101 DDAATYFCQQ GDTLPTYFGG GTKLEIKRAD AAPTVSIFPP SSEQLTSGGA
 151 SVVCFLNNFY PKDINVKWKI DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT
 201 LTKDEYERHN SYTCEATHKT STSPIVKSFN RNEC (配列番号 199)

20

【 0 2 4 6】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-12 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 2 5】

1 ATGATGTCCT CTGCTCAGTT CCTTGGTCTC CTGTTGCTCT GTTTTCAAGG
 51 TTCCAGATGT GATCTCCAGA TGACACAGAC TACTTCCTCC CTGTCTGCCT
 101 CTCTGGGAGA CAGAGTCACC ATCAGTTGCA GGGCAAGTCA GGACATTAGC
 151 AATTATTTAA ACTGGTATCA GCAGAAACCA GATGGAAGTCT TAAAGCTCCT
 201 GATCTTCTAC ACATCAACAT TACAGTCAGG AGTCCCATCG AGGTTCAGTG
 251 GCAGTGGGTC TGGAACAAAT TATTCTCTCA CCATTACCAA CCTGGAGCAA
 301 GATGATGCTG CCACTTACTT TTGCCAACAG GGTGATACGC TTCCGTACAC
 351 GTTCGGAGGG GGGACCAAGC TGGAAATAAA ACGGGCTGAT GCTGCACCAA
 401 CTGTATCCAT CTTCCCACCA TCCAGTGAGC AGTTAACATC TGGAGGTGCC
 451 TCAGTCGTGT GCTTCTTGAA CAACTTCTAC CCCAAAGACA TCAATGTCAA
 501 GTGGAAGATT GATGGCAGTG AACGACAAAA TGGCGTCCTG AACAGTTGGA
 551 CTGATCAGGA CAGCAAAGAC AGCACCTACA GCATGAGCAG CACCCTCACG
 601 TTGACCAAGG ACGAGTATGA ACGACATAAC AGCTATACCT GTGAGGCCAC
 651 TCACAAGACA TCAACTTCAC CCATTGTCAA GAGCTTCAAC AGGAATGAGT
 701 GTTAG (配列番号 200)

30

40

【 0 2 4 7】

Ab-12 重鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-12 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 2 6】

1 EVQLQQSGPE LMKPGASVKM SCKASGYTFT DYNMHWMKQN QGKSLEWIGE
 51 INPNSGGSGY NQKEKGKATL TVDKSSSTAY MELRSLTSED SAVYYCAREG
 101 YYGNYEDWYF DVWGAGTTVT VSSAKTTPPS VYPLAPGSAA QTNMVTLGC
 151 LVKGYFPEPV TVTWNSGSL SGVHTFPAVL QSDLYTLSSS VTPSSSTWPS
 201 ETVTCNVAHP ASSTKVDKKI VPRDCGCKPC ICTVPEVSSV FIFPPKPKDV
 251 LTITLTPKVT CVVVDISKDD PEVQFSWFVD DVEVHTAQEQ PREEQFNSTF
 301 RSVSELPIMH QDWLNGKEFK CRVNSAAFP A PIEKTISKTK GRPKAPQVYT
 351 IPPPKEQMAK DKVSLTCMIT DFFPEDITVE WQWNGQPAEN YKNTQPIMDT
 401 DGSYFIYSKL NVQKSNWEAG NTFTCSVLHE GLHNHHTEKS LSHSPGK (配列番
 号 201)

10

【 0 2 4 8】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-12 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 1 2 7】

1 GAGGTCCAGT TGCAACAGTC TGGACCTGAA CTAATGAAGC CTGGGGGCTTC
 51 AGTGAAGATG TCCTGCAAGG CTTCTGGATA CACATTCAC TACTACAACA
 101 TGCACCTGGAT GAAGCAGAAC CAAGGAAAGA GCCTAGAGTG GATAGGAGAG
 151 ATTAATCCTA ACAGTGGTGG TTCTGGTTAC AACCAGAAGT TCAAAGGCAA
 201 GGCCACATTG ACTGTAGACA AGTCTCCAG CACAGCCTAC ATGGAGCTCC
 251 GCAGCCTGAC ATCTGAGGAC TCTGCAGTCT ATTACTGTGC AAGATTGGGC
 301 TACTATGGTA ACTACGAGGA CTGGTATTTC GATGTCTGGG GCGCAGGGAC
 351 CACGGTCACC GTCTCCTCTG CCAAACGAC ACCCCCATCT GTCTATCCAC
 401 TGGCCCCTGG ATCTGCTGCC CAACTAACT CCATGGTGAC CCTGGGATGC
 451 CTGGTCAAGG GCTATTTCCT TGAGCCAGTG ACAGTGACCT GGAAGTCTGG
 501 ATCCCTGTCC AGCGGTGTGC ACACCTTCCC AGCTGTCCTG CAGTCTGACC
 551 TCTACACTCT GAGCAGCTCA GTGACTGTCC CCTCCAGCAC CTGGCCCAGC
 601 GAGACCGTCA CCTGCAACGT TGCCCACCCG GCCAGCAGCA CCAAGGTGGA
 651 CAAGAAAATT GTGCCCAGGG ATTGTGGTTG TAAGCCTTGC ATATGTACAG
 701 TCCCAGAAGT ATCATCTGTC TTCATCTTCC CCCCAGAGCC CAAGGATGTG
 751 CTCACCATTA CTCTGACTCC TAAGGTCACG TGTGTTGTGG TAGACATCAG
 801 CAAGGATGAT CCCGAGGTCC AGTTCAGCTG GTTTGTAGAT GATGTGGAGG
 851 TGCACACAGC TCAGACGCAA CCCCAGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACTTTC
 901 CGCTCAGTCA GTGAAGTTC CATCATGCAC CAGGACTGGC TCAATGGCAA
 951 GGAGTTCAA TGCAGGGTCA ACAGTGCAGC TTCCCTGCC CCCATCGAGA
 1001 AAACCATCTC CAAAACCAA GGCAGACCGA AGGCTCCACA GGTGTACACC
 1051 ATTCCACCTC CCAAGGAGCA GATGGCCAAG GATAAAGTCA GTCTGACCTG
 1101 CATGATAACA GACTTCTTCC CTGAAGACAT TACTGTGGAG TGGCAGTGGA
 1151 ATGGGCAGCC AGCGGAGAAC TACAAGAACA CTCAGCCCAT CATGGACACA
 1201 GATGGCTCTT ACTTCATCTA CAGCAAGCTC AATGTGCAGA AGAGCAACTG
 1251 GGAGGCAGGA AATACTTCA CCTGCTCTGT GTTACATGAG GGCCTGCACA
 1301 ACCACCATAC TGAGAAGAGC CTCTCCCACT CTCCTGGTAA ATGA (配列番号
 202)

20

30

40

【 0 2 4 9】

シグナルペプチドを含めたAb-12 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 2 8】

1 MGWSWTFLEFL LSGTSGVLSE VQLQQSGPEL MKPGASVKMS CKASGYTFTD
 51 YNMHWMKQNN GKSLEWIGEI NPNSGGSGYN QKFKGKATLT VDKSSSTAYM
 101 ELRLTSEDS AVYYCARLGY YGNYEDWYFD VWGAGTTVTV SSAKTPPSV
 151 YPLAPGSAQ TNSMVTLGCL VKGYFPEPVT VTWNSGSLSS GVHTFPAVLQ
 201 SDLYTLSSSV TVPSSTWPSE TVTCNVAHPA SSTKVDDKIV PRDCGCKPCI
 251 CTVPEVSSVF IFPPKPKDVL TITLTPKVTC VVVDISKDDP EVQFSWFVDD
 301 VEVHTAQTP REEQFNSTFR SVSELPIMHQ DWLNGKEFKC RVNSAAFPAP
 351 IEKTISKTKG RPKAPQVYTI PPPKEQMAKD KVS LTCMITD FFPEDITVEW
 401 QWNGQPAENY KNTQPIMDTD GSYFIYSKLN VQKSNWEAGN TFTCSVLHEG
 451 LHNHHTKSL SHSPGK (配列番号 203)

10

【 0 2 5 0】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-12 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 2 9】

1 ATGGGATGGA GCTGGACCTT TCTCTTCCTC CTGTCAGGAA CTTCGGGTGT
 51 CCTCTCTGAG GTCCAGTTGC AACAGTCTGG ACCTGAACTA ATGAAGCCTG
 101 GGGCTTCAGT GAAGATGTCC TGCAAGGCTT CTGGATACAC ATTCAGTGAC
 151 TACAACATGC ACTGGATGAA GCAGAACCAA GGAAAGAGCC TAGAGTGGAT
 201 AGGAGAGATT AATCCTAACA GTGGTGGTTC TGGTTACAAC CAGAAGTTCA
 251 AAGGCAAGGC CACATTGACT GTAGACAAGT CCTCCAGCAC AGCCTACATG
 301 GAGCTCCGCA GCCTGACATC TGAGGACTCT GCAGTCTATT ACTGTGCAAG
 351 ATTGGGCTAC TATGGTAACT ACGAGGACTG GTATTTTCGAT GTCTGGGGCG
 401 CAGGGACCAC GGTCACCGTC TCCTCTGCCA AAACGACACC CCCATCTGTC
 451 TATCCACTGG CCCCTGGATC TGCTGCCCAA ACTAACTCCA TGGTGACCCT
 501 GGGATGCCTG GTCAAGGGCT ATTTCCCTGA GCCAGTGACA GTGACCTGGA
 551 ACTCTGGATC CCTGTCCAGC GGTGTGCACA CCTTCCCAGC TGTCTGTCAG
 601 TCTGACCTCT AACTCTGAG CAGCTCAGTG ACTGTCCCCT CCAGCACCTG
 651 GCCCAGCGAG ACCGTCACCT GCAACGTTGC CCACCCGGCC AGCAGCACCA
 701 AGGTGGACAA GAAAATTGTG CCCAGGGATT GTGGTTGTAA GCCTTGCCATA
 751 TGTACAGTCC CAGAAGTATC ATCTGTCTTC ATCTTCCCCC CAAAGCCCCA
 801 GGATGTGCTC ACCATTACTC TGACTCCTAA GGTCACGTGT GTTGTGGTAG
 851 ACATCAGCAA GGATGATCCC GAGGTCCAGT TCAGCTGGTT TGTAGATGAT
 901 GTGGAGGTGC ACACAGCTCA GACGCAACCC CGGGAGGAGC AGTTCAACAG
 951 CACTTTCCGC TCAGTCAGTG AACTTCCCAT CATGCACCAG GACTGGCTCA
 1001 ATGGCAAGGA GTTCAAATGC AGGGTCAACA GTGCAGCTTT CCCTGCCCCC
 1051 ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AACCAAAGGC AGACCGAAGG CTCCACAGGT
 1101 GTACACCATT CCACCTCCA AGGAGCAGAT GGCCAAGGAT AAAGTCAGTC
 1151 TGACCTGCAT GATAACAGAC TTCTTCCCTG AAGACATTAC TGTGGAGTGG
 1201 CAGTGGAATG GGCAGCCAGC GGAGAACTAC AAGAACAATC AGCCCATCAT
 1251 GGACACAGAT GGCTCTTACT TCATCTACAG CAAGCTCAAT GTGCAGAAGA
 1301 GCAACTGGGA GGCAGGAAAT ACTTTCACCT GCTCTGTGTT ACATGAGGGC
 1351 CTGCACAACC ACCATACTGA GAAGAGCCTC TCCCACTCTC CTGGTAAATG
 1401 A (配列番号 204)

20

30

40

【 0 2 5 1】

Ab-13

抗体13 (本明細書ではAb-13とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである。

【 0 2 5 2】

Ab-13 軽鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-13 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

50

【化 1 3 0】

1 QIVLTQSPAI MSASPGEKVT MTCRASSSVT SSYLNWYQQK PGSSPKLWIY
 51 STSNLASGVP ARFSGSGSGT SYSLTISSVE AEDAATYYCQ QYDFFPSTFG
 101 GGTKLEIKRA DAAPTVSIFP PSSEQLTSGG ASVVCFLNNF YPKDINVKWK
 151 IDGSERQNGV LNSWTDQDSK DSTYSMSSTL TLTKEDEYERH NSYTCEATHK
 201 TSTSPIVKSF NRNEC (配列番号 205)

【 0 2 5 3】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-13 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

【化 1 3 1】

1 CAGATTGTTC TCACCCAGTC TCCAGCAATC ATGTCTGCAT CTCCAGGGGA
 51 GAAGGTCACC ATGACCTGCA GGGCCAGCTC AAGTGTAAC TCCAGTTACT
 101 TGAAGTGGTA CCAGCAGAAG CCAGGATCTT CCCCCAACT CTGGATTIAT
 151 AGCACATCCA ACCTGGCTTC AGGAGTCCCA GCTCGCTTCA GTGGCAGTGG
 201 GTCTGGGACC TCTTACTCTC TCACAATCAG CAGTGTGGAG GCTGAGGATG
 251 CTGCCACTTA TTAAGTCCAG CAGTATGATT TTTTCCCATC GACGTTCCGT
 301 GGAGGCACCA AGCTGGAAAT CAAGCGGGCT GATGCTGCAC CAACTGTATC
 351 CATCTTCCCA CCATCCAGTG AGCAGTTAAC ATCTGGAGGT GCCTCAGTCG
 401 TGTGCTTCTT GAACAACTTC TACCCCAAAG ACATCAATGT CAAGTGGAAG
 451 ATTGATGGCA GTGAACGACA AAATGGCGTC CTGAACAGTT GGACTGATCA
 501 GGACAGCAAA GACAGCACCT ACAGCATGAG CAGCACCTC ACGTTGACCA
 551 AGGACGAGTA TGAACGACAT AACAGCTATA CCTGTGAGGC CACTCACAAG
 601 ACATCAACTT CACCCATCGT CAAGAGCTTC AACAGGAATG AGTGT (配列番号 206)

【 0 2 5 4】

シグナルペプチドを含めたAb-13 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 3 2】

1 MDSQVQIFS LLISALVKMS RGQIVLTQSP AIMSASPGEK VTMTCRASSS
 51 VTSSYLNWYQ QKPGSSPKLW IYSTSNLASG VPARFSGSGS GTSYSLTISS
 101 VEAEDAATYY CQYDFFPST FGGGTKLEIK RADAAPT VSI FPPSSEQLT S
 151 GGASVVCFLN NFYPKDINVK WKIDGSERQN GVLNSWTDQD SKDSTYSMS S
 201 TLTLTKDEYE RHNSYTCEAT HKTSTSPIVK SFNRNEC (配列番号 207)

【 0 2 5 5】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-13 LCの核酸配列は以下の通りである：

10

20

30

【化 1 3 3】

1 ATGGATTCTC AAGTGCAGAT TTTCAGCTTC CTTCTAATCA GTGCCTTAGT
 51 CAAAATGTCC AGAGGACAGA TTGTTCTCAC CCAGTCTCCA GCAATCATGT
 101 CTGCATCTCC AGGGGAGAAG GTCACCATGA CCTGCAGGGC CAGCTCAAGT
 151 GTAACCTCCA GTTACTTGAA CTGGTACCAG CAGAAGCCAG GATCTTCCCC
 201 CAAACTCTGG ATTTATAGCA CATCCAACCT GGCTTCAGGA GTCCCAGCTC
 251 GCTTCAGTGG CAGTGGGTCT GGGACCTCTT ACTCTCTCAC AATCAGCAGT
 301 GTGGAGGCTG AGGATGCTGC CACTTATTAC TGCCAGCAGT ATGATTTTTT
 351 CCCATCGACG TTCGGTGGAG GCACCAAGCT GGAAATCAAG CGGGCTGATG
 401 CTGCACCAAC TGTATCCATC TTCCCACCAT CCAGTGAGCA GTTAACATCT
 451 GGAGGTGCCT CAGTCGTGTG CTTCTTGAAC AACTTCTACC CCAAAGACAT
 501 CAATGTCAAG TGAAGATTG ATGGCAGTGA ACGACAAAAT GGCGTCCTGA
 551 ACAGTTGGAC TGATCAGGAC AGCAAAGACA GCACCTACAG CATGAGCAGC
 601 ACCCTCACGT TGACCAAGGA CGAGTATGAA CGACATAACA GCTATACCTG
 651 TGAGGCCACT CACAAGACAT CAACTTCACC CATCGTCAAG AGCTTCAACA
 701 GGAATGAGTG T (配列番号 208)

10

【 0 2 5 6】

Ab-13 重鎖:

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-13 HCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 1 3 4】

20

1 EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT **DYYMNWVKQS** HGESLEWIGD
 51 **INPYNDDTTY NHKFKG**KATL TVDKSSNTAY MQLNSLTSED SAVYYCARET
 101 AVITTNAMDY WGQGTSVTVS **SAKTPPSVY PLAPGSAAQT NSMVTLGCLV**
 151 **KGYFPEPVTV TWNSGSLSSG VHTFPAVLQS DLYTLSSSVT VPSSTWPSET**
 201 **VTCNVAHPAS STKVDKKIVP RDCGCKPCIC TVPEVSSVFI FPPKPKDVL**
 251 **ITLTPKVTCV VVDISKDDPE VQFSWFVDDV EVHTAQTPR EEQFNSTFRS**
 301 **VSELPIMHQD WLNGKEFKCR VNSAAFPAPI EKTISKTKGR PKAPQVYTIP**
 351 **PPKEQMAKDK VSLTCMITDF FPEDITVEWQ WNGQPAENYK NTQPIMDTDG**
 401 **SYFIYSKLVN QKSNWEAGNT FTCSVLHEGL HNHHTEKSL S HSPGK** (配列番号
 209)

30

【 0 2 5 7】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-13 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである:

【化 1 3 5】

1 GAGGTCCAGC TGCAACAATC TGGACCTGAG CTGGTGAAGC CTGGGGCTTC
 51 AGTGAAGATG TCCTGTAAGG CTTCTGGATA CACATTCAC TACTACTACA
 101 TGAAGTGGGT GAAGCAGAGC CATGGAGAGA GCCTTGAGTG GATTGGAGAT
 151 ATTAATCCTT ACAACGATGA TACTACCTAC AACCACAAGT TCAAGGGCAA
 201 GGCCACATTG ACTGTAGACA AATCCTCCAA CACAGCCTAC ATGCAGCTCA
 251 ACAGCCTGAC ATCTGAGGAC TCTGCAGTCT ATTACTGTGC AAGAGAGACG
 301 GCCGTTATTA CTACGAATGC TATGGACTAC TGGGGTCAAG GAACCTCAGT
 351 CACCGTCTCC TCAGCCAAAA CGACACCCCC ATCTGTCTAT CCACTGGCCC
 401 CTGGATCTGC TGCCCAAAC AACTCCATGG TGACCCTGGG ATGCCTGGTC
 451 AAGGGCTATT TCCCTGAGCC AGTGACAGTG ACCTGGAAC CTGGATCCCT
 501 GTCCAGCGGT GTGCACACCT TCCAGCTGT CCTGCAGTCT GACCTCTACA
 551 CTCTGAGCAG CTCAGTGACT GTCCCCCTCA GCACCTGGCC CAGCGAGACC
 601 GTCACCTGCA ACGTTGCCCA CCCGGCCAGC AGCACCAAGG TGGACAAGAA
 651 AATTGTGCC AGGGATTGTG GTTGTAAGCC TTGCATATGT ACAGTCCCAG
 701 AAGTATCATC TGTCTTCATC TTCCCCCAA AGCCCAAGGA TGTGCTCACC
 751 ATTACTCTGA CTCCTAAGGT CACGTGTGTT GTGGTAGACA TCAGCAAGGA
 801 TGATCCCGAG GTCCAGTTCA GCTGGTTTGT AGATGATGTG GAGGTGCACA
 851 CAGCTCAGAC GCAACCCCGG GAGGAGCAGT TCAACAGCAC TTTCCGCTCA
 901 GTCAGTGAAC TTCCCATCAT GCACCAGGAC TGGCTCAATG GCAAGGAGTT
 951 CAAATGCAGG GTCAACAGTG CAGCTTTCCC TGCCCCCATC GAGAAAACCA
 1001 TCTCCAAAAC CAAAGGCAGA CCGAAGGCTC CACAGGTGTA CACCATTCCA
 1051 CCTCCCAAGG AGCAGATGGC CAAGGATAAA GTCAGTCTGA CCTGCATGAT
 1101 AACAGACTTC TTCCCTGAAG ACATTACTGT GGAGTGGCAG TGGAATGGGC
 1151 AGCCAGCGGA GAACTACAAG AACACTCAGC CCATCATGGA CACAGATGGC
 1201 TCTTACTTCA TCTACAGCAA GCTCAATGTG CAGAAGAGCA ACTGGGAGGC
 1251 AGGAAATACT TTCACCTGCT CTGTGTTACA TGAGGGCCTG CACAACCACC
 1301 ATACTGAGAA GAGCCTCTCC CACTCTCCTG GTAAA (配列番号 210)

10

20

【 0 2 5 8】

シグナルペプチドを含めたAb-13 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 1 3 6】

1 MGWNWIFLFL LSGTAGVYSE VQLQQSGPEL VKPGASVKMS CKASGYTFTD
 51 YYMNWVKQSH GESLEWIGDI NPYNDDTTYN HKFKGKATLT VDKSSNTAYM
 101 QLNSLTSEDS AVYYCARETA VITTNAMDYW GQGTSVTVSS AKTTPPSVYP
 151 LAPGSAAQTN SMVTLGCLVK GYFPEPVTVT WNSGSLSSGV HTFPAVLQSD
 201 LYTLSSSVTV PSSTWPSETV TCNVAHPASS TKVDKKIVPR DCGCKPCICT
 251 VPEVSSVFIF PPKPKDVLTI TLTPKVTCVV VDISKDDPEV QFSWFVDDVE
 301 VHQAQTQPRE EQFNSTFRSV SELPIMHQDW LNGKEFKCRV NSAAFPAPIE
 351 KTISKTKGRP KAPQVYTIPP PKEQMAKDKV SLTCMITDFF PEDITVEWQW
 401 NGQPAENYKN TQPIMDTDGS YFIYSKLVNQ KSNWEAGNTF TCSVLHEGLH
 451 NHHTEKSLSH SPGK (配列番号 211)

40

【 0 2 5 9】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-13 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 3 7】

1 ATGGGATGGA ACTGGATCTT TCTCTTCCTC TTGTCAGGAA CTGCAGGTGT
 51 CTACTCTGAG GTCCAGCTGC AACAATCTGG ACCTGAGCTG GTGAAGCCTG
 101 GGGCTTCAGT GAAGATGTCC TGTAAGGCTT CTGGATACAC ATTCAGTGAC
 151 TACTACATGA ACTGGGTGAA GCAGAGCCAT GGAGAGAGCC TTGAGTGGAT
 201 TGGAGATATT AATCCTTACA ACGATGATAC TACCTACAAC CACAAGTTCA
 251 AGGGCAAGGC CACATTGACT GTAGACAAAT CCTCCAACAC AGCCTACATG
 301 CAGCTCAACA GCCTGACATC TGAGGACTCT GCAGTCTATT ACTGTGCAAG
 351 AGAGACGGCC GTTATTACTA CGAATGCTAT GGACTACTGG GGTCAAGGAA
 401 CCTCAGTCAC CGTCTCCTCA GCCAAAACGA CACCCCCATC TGTCTATCCA
 451 CTGGCCCCTG GATCTGCTGC CCAAATAAC TCCATGGTGA CCCTGGGATG
 501 CCTGGTCAAG GGCTATTTCC CTGAGCCAGT GACAGTGACC TGGAAGTCTG
 551 GATCCCTGTC CAGCGGTGTG CACACCTTCC CAGCTGTCCT GCAGTCTGAC
 601 CTCTACACTC TGAGCAGCTC AGTGACTGTC CCCTCCAGCA CCTGGCCCAG
 651 CGAGACCGTC ACCTGCAACG TTGCCACCC GGCCAGCAGC ACCAAGGTGG
 701 ACAAGAAAAT TGTGCCCAGG GATTGTGGTT GTAAGCCTTG CATATGTACA
 751 GTCCCAGAAG TATCATCTGT CTTCATCTTC CCCCCAAAGC CCAAGGATGT
 801 GCTCACCATT ACTCTGACTC CTAAGGTCAC GTGTGTTGTG GTAGACATCA
 851 GCAAGGATGA TCCCGAGGTC CAGTTCAGCT GGTTTGTAGA TGATGTGGAG
 901 GTGCACACAG CTCAGACGCA ACCCCGGGAG GAGCAGTTCA ACAGCACTTT
 951 CCGCTCAGTC AGTGAAGTTC CCATCATGCA CCAGGACTGG CTCAATGGCA
 1001 AGGAGTTCAA ATGCAGGGTC AACAGTGCAG CTTTCCTGC CCCCATCGAG
 1051 AAAACCATCT CCAAAACCAA AGGCAGACCG AAGGCTCCAC AGGTGTACAC
 1101 CATTCCACCT CCAAGGAGC AGATGGCCAA GGATAAAGTC AGTCTGACCT
 1151 GCATGATAAC AGACTTCTTC CCTGAAGACA TTAAGTGGA GTGGCAGTGG
 1201 AATGGGCAGC CAGCGGAGAA CTACAAGAAC ACTCAGCCCA TCATGGACAC
 1251 AGATGGCTCT TACTTCATCT ACAGCAAGCT CAATGTGCAG AAGAGCAACT
 1301 GGGAGGCAGG AAATACTTTC ACCTGCTCTG TGTTACATGA GGGCCTGCAC
 1351 AACCACCATA CTGAGAAGAG CCTCTCCAC TCTCCTGGTA AA (配列番号
 212)

10

20

30

【 0 2 6 0】

Ab-13をヒト化して、Ab-14を生成させた。

抗体14 (本明細書ではAb-14とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである。

【 0 2 6 1】

Ab-14 軽鎖:

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-14 LCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 1 3 8】

1 DIQLTQSPSF LSASVGDRVIT ITCRASSSVT SSYLEN WYQQK PGKAPKLLIY
 51 STSNLASGVP SRFSGSGSGT EFTLTISLQ PEDFATYYCQ QYDFFPSTFG
 101 GGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK
 151 VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYLSSTL TLSKADYEKH KVVACEVTHQ
 201 GLSSPVTKSF NRGEC (配列番号 213)

40

【 0 2 6 2】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-14 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである:

【化 1 3 9】

1 GACATCCAGC TGACCCAGAG CCCAGCTTC CTTTCCGCAT CCGTTGGTGA
 51 CCGAGTAACA ATCACATGCC GCGCCTCATC TTCAGTTACA TCTTCTTATC
 101 TTAATTGGTA TCAACAAAAA CCAGGAAAAG CACCTAAACT TCTTATATAC
 151 TCTACATCTA ATCTCGCATC AGGAGTTCCC TCTCGATTTT CAGGATCTGG
 201 ATCAGGCACA GAATTTACAC TTACTIONATC ATCACTCCAA CCAGAAGACT
 251 TCGCCACTTA TTACTIONCAA CAATACGATT TTTTCCAAG CACATTCGGA
 301 GGAGGTACAA AAGTAGAAAT CAAGCGTACG GTGGCTGCAC CATCTGTCTT
 351 CATCTTCCCG CCATCTGATG AGCAGTTGAA ATCTGGAAGT GCCTCTGTTG
 401 TGTGCCTGCT GAATAACTTC TATCCCAGAG AGGCCAAAGT ACAGTGGAAG
 451 GTGGATAACG CCCTCCAATC GGGTAACTCC CAGGAGAGTG TCACAGAGCA
 501 GGACAGCAAG GACAGCACCT ACAGCCTCAG CAGCACCTG ACGCTGAGCA
 551 AAGCAGACTA CGAGAAACAC AAAGTCTACG CCTGCGAAGT CACCCATCAG
 601 GGCTGAGCT CGCCCGTCAC AAAGAGCTTC AACAGGGGAG AGTGT (配列番
 号 214)

10

【 0 2 6 3】

シグナルペプチドを含めたAb-14 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 4 0】

1 MDMRVPAQLL GLLLLWLPGA RCDIQLTQSP SFLSASVGDR VTITCRASSS
 51 VTSSYLNWYQ QKPGKAPKLL IYSTSNLASG VPSRFSGSGS GTEFTLTSS
 101 LQPEDFATYY CQQYDFPST FGGGKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS
 151 GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS
 201 TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVT KSFNRGEC (配列番号 215)

20

【 0 2 6 4】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-14 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 4 1】

1 ATGGACATGA GGGTCCCCGC TCAGCTCCTG GGGCTCCTGC TACTCTGGCT
 51 CCCAGGTGCC AGATGTGACA TCCAGCTGAC CCAGAGCCCC AGCTTCCTTT
 101 CCGCATCCGT TGGTGACCGA GTAACAATCA CATGCCGCGC CTCATCTTCA
 151 GTTACATCTT CTTATCTTAA TTGGTATCAA CAAAACCAG GAAAAGCACC
 201 TAAACTTCTT ATATACTCTA CATCTAATCT CGCATCAGGA GTTCCCTCTC
 251 GATTTTCAGG ATCTGGATCA GGCACAGAAT TTACACTTAC TATATCATCA
 301 CTCCAACCAG AAGACTTCGC CACTTATTAC TGCCAACAAT ACGATTTTTT
 351 TCCAAGCACA TTCGGAGGAG GTACAAAAGT AGAAATCAAG CGTACGGTGG
 401 CTGCACCATC TGTCTTCATC TTCCCGCCAT CTGATGAGCA GTTGAAATCT
 451 GGAAGTGCCT CTGTTGTGTG CCTGCTGAAT AACTTCTATC CCAGAGAGGC
 501 CAAAGTACAG TGGAAGGTGG ATAACGCCCT CCAATCGGGT AACTCCCAGG
 551 AGAGTGTCAC AGAGCAGGAC AGCAAGGACA GCACCTACAG CCTCAGCAGC
 601 ACCCTGACGC TGAGCAAAGC AGACTACGAG AAACACAAAG TCTACGCCTG
 651 CGAAGTCACC CATCAGGGCC TGAGCTCGCC CGTCACAAAG AGCTTCAACA
 701 GGGGAGAGTG T (配列番号 216)

30

40

【 0 2 6 5】

Ab-14 重鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-14 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 4 2】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT DYYMNWVRQA PGQRLEWMGD
51 INPYNDDTTY NHKFKGRVTI TRDTSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARET
101 AVITTNAMDY WGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV
151 KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSNFGTQ
201 TYTCNVDHKP SNTKVDKTV RKCCVECPPC PAPPVAGPSV FLFPPKPKDT
251 LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTF
301 RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT
351 LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDLAVE WESNGQPENN YKTPPMLDS
401 DGSFFLYSKL TVDKSRWQOG NVFSCSYMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (配列番号 217)

10

【0 2 6 6】

カルボキシ末端のリジンがない成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-14 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 4 3】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT DYYMNWVRQA PGQRLEWMGD
51 INPYNDDTTY NHKFKGRVTI TRDTSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARET
101 AVITTNAMDY WGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV
151 KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSNFGTQ
201 TYTCNVDHKP SNTKVDKTV RKCCVECPPC PAPPVAGPSV FLFPPKPKDT
251 LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTF
301 RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT
351 LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDLAVE WESNGQPENN YKTPPMLDS
401 DGSFFLYSKL TVDKSRWQOG NVFSCSYMHE ALHNHYTQKS LSLSPG (配列番号 393)

20

【0 2 6 7】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-14 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

30

【化 1 4 4】

1 GAGGTGCAGC TGGTGCAGAG CGGCGCCGAG GTCAAGAAAC CTGGAGCAAG
 51 CGTAAAGGTT AGTTGCAAAG CATCTGGATA CACATTTACC GACTACTACA
 101 TGAATTGGGT ACGACAAGCC CCTGGACAAA GACTTGAATG GATGGGAGAC
 151 ATTAACCCTT ATAACGACGA CACTACATAC AATCATAAAT TTAAAGGAAG
 201 AGTTACAATT ACAAGAGATA CATCCGCATC AACCGCCTAT ATGGAACCTT
 251 CCTCATTGAG ATCTGAAGAC ACTGCTGTTT ATTACTGTGC AAGAGAAACT
 301 GCCGTTATTA CTAATAACGC TATGGATTAC TGGGGTCAAG GAACCACTGT
 351 TACCGTCTCT AGTGCCTCCA CCAAGGGCCC ATCGGTCTTC CCCCTGGCGC
 401 CCTGCTCCAG GAGCACCTCC GAGAGCACAG CGGCCCTGGG CTGCCTGGTC
 451 AAGGACTACT TCCCCGAACC GGTGACGGTG TCGTGGAACCT CAGGCGCTCT
 501 GACCAGCGGC GTGCACACCT TCCCAGCTGT CCTACAGTCC TCAGGACTCT
 551 ACTCCCTCAG CAGCGTGGTG ACCGTGCCCT CCAGCAACTT CGGCACCCAG
 601 ACCTACACCT GCAACGTAAG TCACAAGCCC AGCAACACCA AGGTGGACAA
 651 GACAGTTGAG CGCAAATGTT GTGTCGAGTG CCCACCGTGC CCAGCACCAC
 701 CTGTGGCAGG ACCGTCAGTC TTCCTCTTCC CCCCCAAACC CAAGGACACC
 751 CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACG TCGTGGTGG TGGACGTGAG
 801 CCACGAAGAC CCCGAGGTCC AGTTCAACTG GTACGTGGAC GCGGTGGAGG
 851 TGCATAATGC CAAGACAAAG CCACGGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACGTTC
 901 CGTGTGGTCA GCGTCCTCAC CGTTGTGCAC CAGGACTGGC TGAACGGCAA
 951 GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGG CCTCCCAGCC CCCATCGAGA
 1001 AAACCATCTC CAAAACCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA GGTGTACACC
 1051 CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA GCCTGACCTG
 1101 CCTGGTCAAA GGCTTCTACC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG TGGGAGAGCA
 1151 ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CACCTCCCAT GCTGGACTCC
 1201 GACGGCTCCT TCTTCCTCTA CAGCAAGCTC ACCGTGGACA AGAGCAGGTG
 1251 GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG GCTCTGCACA
 1301 ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CTCCGGGTAA A (配列番号 218)

10

20

【 0 2 6 8】

シグナルペプチドを含めたAb-14 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 1 4 5】

1 MDWTWRILFL VAAATGAHSE VQLVQSGAEV KKPGASVKVS CKASGYTFTD
 51 YYMNWVRQAP GQRLEWMGDI NPYNDDTTYN HKFKGRVTIT RDTASASTAYM
 101 ELSSLRSEDV AVYYCARETA VITNAMDYW GQGTTVTVSS ASTKGPSVFP
 151 LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS
 201 GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCCVECPPCP
 251 APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVQFNWYVDG
 301 VEVHNAKTKP REEQFNSTFR VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNNKGLPAP
 351 IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW
 401 ESNGQPENNY KTTTPMLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA
 451 LHNHYTQKSL SLSPGK (配列番号 219)

40

【 0 2 6 9】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-14 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 4 6】

1 ATGGACTGGA CCTGGAGGAT CCTCTTCTTG GTGGCAGCAG CCACAGGAGC
 51 CCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGCAGAGCGG CGCCGAGGTC AAGAAACCTG
 101 GAGCAAGCGT AAAGGTTAGT TGCAAAGCAT CTGGATACAC ATTTACCGAC
 151 TACTACATGA ATTGGGTACG ACAAGCCCCT GGACAAAGAC TTGAATGGAT
 201 GGGAGACATT AACCCTTATA ACGACGACAC TACATACAAT CATAAATTTA
 251 AAGGAAGAGT TACAATTACA AGAGATACAT CCGCATCAAC CGCCTATATG
 301 GAACTTTCCT CATTGAGATC TGAAGACACT GCTGTTTATT ACTGTGCAAG
 351 AGAAACTGCC GTTATTACTA CTAACGCTAT GGATTACTGG GGTCAAGGAA
 401 CCACTGTTAC CGTCTCTAGT GCCTCCACCA AGGGCCCCATC GGTCTTCCCC
 451 CTGGCGCCCT GCTCCAGGAG CACCTCCGAG AGCACAGCGG CCCTGGGCTG
 501 CCTGGTCAAG GACTACTTCC CCGAACCGGT GACGGTGTCTG TGGAAGTCAG
 551 GCGCTCTGAC CAGCGGCGTG CACACCTTCC CAGCTGTCCT ACAGTCCTCA
 601 GGACTCTACT CCCTCAGCAG CGTGGTGACC GTGCCCTCCA GCAACTTCGG
 651 CACCCAGACC TACACCTGCA ACGTAGATCA CAAGCCCAGC AACACCAAGG
 701 TGGACAAGAC AGTTGAGCGC AAATGTTGTG TCGAGTGCCC ACCGTGCCCA
 751 GCACCACCTG TGGCAGGACC GTCAGTCTTC CTCTTCCCCC CAAAACCCAA
 801 GGACACCCTC ATGATCTCCC GGACCCCTGA GGTCACGTGC GTGGTGGTGG
 851 ACGTGAGCCA CGAAGACCCC GAGGTCCAGT TCAACTGGTA CGTGGACGGC
 901 GTGGAGGTGC ATAATGCCAA GACAAAGCCA CGGGAGGAGC AGTTCAACAG
 951 CACGTTCCGT GTGGTCAGCG TCCTCACCGT TGTGCACCAG GACTGGCTGA
 1001 ACGGCAAGGA GTACAAGTGC AAGGTCTCCA ACAAAGGCCCT CCCAGCCCCC
 1051 ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AACCAAAGGG CAGCCCCGAG AACCACAGGT
 1101 GTACACCCTG CCCCCATCCC GGGAGGAGAT GACCAAGAAC CAGGTCAGCC
 1151 TGACCTGCCT GGTCAAAGGC TTCTACCCCA GCGACATCGC CGTGGAGTGG
 1201 GAGAGCAATG GGCAGCCGGA GAACAACACTAC AAGACCACAC CTCCCATGCT
 1251 GGACTCCGAC GGCTCCTTCT TCCTCTACAG CAAGCTCACC GTGGACAAGA
 1301 GCAGGTGGCA GCAGGGGAAC GTCTTCTCAT GCTCCGTGAT GCATGAGGCT
 1351 CTGCACAACC ACTACACGCA GAAGAGCCTC TCCCTGTCTC CGGGTAAA (配
 列番号 220)

10

20

30

【 0 2 7 0】

Ab-14の重鎖の可変領域にあるCDR配列は以下の通りである：

CDR-H1:DYYMN (配列番号296)

CDR-H2:DINPYNDDTTYNHKFKG (配列番号297)

CDR-H3:ETAVITTNAMD (配列番号298)

【 0 2 7 1】

Ab-14の軽鎖の可変領域にあるCDR配列は以下の通りである：

CDR-L1:RASSSVTSSYLN (配列番号284)

CDR-L2:STSNLAS (配列番号285)

CDR-L3:QQYDFFPST (配列番号286)

40

【 0 2 7 2】

Ab-14 可変ドメイン：

Ab-14軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列 (シグナル配列ナシ)：

【化 1 4 7】

1 DIQLTQSPSF LSASVGDRVIT ITCRASSSVT SSYLNWYQQK PGKAPKLLIY
 51 STSNLASGVP SRFSGSGSGT EFTLTISLQ PEDFATYYCQ QYDFFPSTFG
 101 GGTKVEIK (配列番号 380)

【 0 2 7 3】

Ab-14軽鎖可変ドメインのDNA配列 (シグナル配列ナシ)：

50

【化 1 4 8】

1 GACATCCAGC TGACCCAGAG CCCCAGCTTC CTTTCCGCAT CCGTTGGTGA
 51 CCGAGTAACA ATCACATGCC GCGCCTCATC TTCAGTTACA TCTTCTTATC
 101 TTAATTGGTA TCAACAAAAA CCAGGAAAAG CACCTAAACT TCTTATATAC
 151 TCTACATCTA ATCTCGCATC AGGAGTTCCC TCTCGATTTT CAGGATCTGG
 201 ATCAGGCACA GAATTTACAC TTAATATATC ATCACTCCAA CCAGAAGACT
 251 TCGCCACTTA TTAATGCGAA CAATACGATT TTTTCCAAG CACATTCGGA
 301 GGAGGTACAA AAGTAGAAAT CAAG (配列番号 381)

【 0 2 7 4】

10

Ab-14重鎖可変ドメインのアミノ酸配列 (シグナル配列ナシ) :

【化 1 4 9】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT DYYMNWVRQA PGQRLEWMGD
 51 INPYNDDTIY NHKEKGRVTI TRDTSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARET
 101 AVITTNAMDY WGQGTTVTVS S (配列番号 382)

【 0 2 7 5】

Ab-14重鎖可変ドメインのDNA配列 (シグナル配列ナシ) :

【化 1 5 0】

20

1 GAGGTGCAGC TGGTGCAGAG CGGCGCCGAG GTCAAGAAAC CTGGAGCAAG
 51 CGTAAAGGTT AGTTGCAAAG CATCTGGATA CACATTTACC GACTACTACA
 101 TGAATTGGGT ACGACAAGCC CCTGGACAAA GACTTGAATG GATGGGAGAC
 151 ATTAACCCTT ATAACGACGA CACTACATAC AATCATAAAT TTAAAGGAAG
 201 AGTTACAATT ACAAGAGATA CATCCGCATC AACCGCCTAT ATGGAACCTT
 251 CCTCATTGAG ATCTGAAGAC ACTGCTGTTT ATTACTGTGC AAGAGAAACT
 301 GCCGTTATTA CTACTAACGC TATGGATTAC TGGGGTCAAG GAACCACTGT
 351 TACCGTCTCT AGT (配列番号 383)

【 0 2 7 6】

30

Ab-3をヒト化して、Ab-15を生成させた。

Ab-15

抗体15 (本明細書ではAb-15とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである。

【 0 2 7 7】

Ab-15 軽鎖:

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-15 LCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 1 5 1】

1 DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCSVSSTIS SNHLHWFQOK PGKAPKSLIY
 51 GTSNLSAGVP SRFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFATYYCQ QWSSYPLTFG
 101 GGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK
 151 VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYLSSTL TLISKADYEKH KVYACEVTHQ
 201 GLSSPVTKSF NRGEC (配列番号 221)

40

【 0 2 7 8】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-15 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである:

【化 1 5 2】

1 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTCTCAGCAT CCGTAGGCGA
 51 TAGAGTTACA ATAACATGCA GCGTATCATC AACTATATCA TCAAATCATC
 101 TTCATTGGTT CCAACAGAAA CCCGGCAAAG CACCTAAATC ACTTATATAC
 151 GGCACATCAA ATCTCGCATC AGGCGTTCCT TCAAGATTTT CAGGCTCTGG
 201 CTCAGGCACC GACTTTACTC TTACAATATC CTCCCTCCAA CCCGAAGACT
 251 TCGCAACCTA TTA CTGTCAA CAATGGTCCT CATATCCACT CACATTTGGC
 301 GCGGCACAAA AAGTAGAAAT TAAACGTACG GTGGCTGCAC CATCTGTCTT
 351 CATCTTCCCG CCATCTGATG AGCAGTTGAA ATCTGGAACT GCCTCTGTTG
 401 TGTGCCTGCT GAATAACTTC TATCCCAGAG AGGCCAAAGT ACAGTGGAAG
 451 GTGGATAACG CCCTCCAATC GGGTAACTCC CAGGAGAGTG TCACAGAGCA
 501 GGACAGCAAG GACAGCACCT ACAGCCTCAG CAGCACCCTG ACGCTGAGCA
 551 AAGCAGACTA CGAGAAACAC AAAGTCTACG CCTGCGAAGT CACCCATCAG
 601 GGCCTGAGCT CGCCCGTCAC AAAGAGCTTC AACAGGGGAG AGTGT (配列番
 号 222)

10

【 0 2 7 9】

シグナルペプチドを含めたAb-15 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 5 3】

1 MDMRVPAQLL GLLLLWLRGA RCDIQMTQSP SLSASVGDR VTTTCSVSST
 51 ISSNHLHWFQ QKPGKAPKSL IYGTSNLAG VPSRFSGSGS GTDFTLTSS
 101 LQPEDFATYY CQWSSYPLT FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS
 151 GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS
 201 TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSPVTK SFNRGEC (配列番号 223)

20

【 0 2 8 0】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-15 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 5 4】

1 ATGGACATGA GGGTCCCCGC TCAGCTCCTG GGGCTCCTGC TACTCTGGCT
 51 CCGAGGTGCC AGATGTGACA TCCAGATGAC CAGTCTCCA TCCTCCCTCT
 101 CAGCATCCGT AGGCGATAGA GTTACAATAA CATGCAGCGT ATCATCAACT
 151 ATATCATCAA ATCATCTTCA TTGGTTCCAA CAGAAACCCG GCAAAGCACC
 201 TAAATCACTT ATATACGGCA CATCAAATCT CGCATCAGGC GTTCCTTCAA
 251 GATTTTCAGG CTCTGGCTCA GGCACCGACT TTA CTCTTAC AATATCCTCC
 301 CTCCAACCCG AAGACTTCGC AACCTATTAC TGTCACAAT GGTCTCATA
 351 TCCACTCACA TTTGGCGGCG GCACAAAAGT AGAAATTAAA CGTACGGTGG
 401 CTGCACCATC TGTCTTCATC TTCCCGCCAT CTGATGAGCA GTTGAAATCT
 451 GGAAGTGCCT CTGTTGTGTG CCTGCTGAAT AACTTCTATC CCAGAGAGGC
 501 CAAAGTACAG TGGAAGGTGG ATAACGCCCT CCAATCGGGT AACTCCCAGG
 551 AGAGTGTAC AGAGCAGGAC AGCAAGGACA GCACCTACAG CCTCAGCAGC
 601 ACCCTGACGC TGAGCAAAGC AGACTACGAG AAACACAAAG TCTACGCCTG
 651 CGAAGTCACC CATCAGGGCC TGAGCTCGCC CGTCACAAAG AGCTTCAACA
 701 GGGGAGAGTG T (配列番号 224)

30

40

【 0 2 8 1】

Ab-15 重鎖

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-15 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 5 5】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASDFNIK DFYLHWVRQA PGQGLEWIGR
51 IDPENGDTLY DPKFQDKVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCAREA
101 DYFHDGTSYW YFDVWGRGTL VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL
151 GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSN
201 FGTQTYTCNV DHKPSNTKVD KTVRKCCVE CPPCPAPPVA GPSVFLFPPK
251 PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVQFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQF
301 NSTFRVSVL TVVHQDWLNG KEYKCKVSNK GLPAPIEKTI SKTKGQPREP
351 QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP
401 MLDS DGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG
451 K (配列番号 225)

10

【0 2 8 2】

カルボキシ末端のリジンを含まない成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-15 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 5 6】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASDFNIK DFYLHWVRQA PGQGLEWIGR
51 IDPENGDTLY DPKFQDKVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCAREA
101 DYFHDGTSYW YFDVWGRGTL VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL
151 GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSN
201 FGTQTYTCNV DHKPSNTKVD KTVRKCCVE CPPCPAPPVA GPSVFLFPPK
251 PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVQFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQF
301 NSTFRVSVL TVVHQDWLNG KEYKCKVSNK GLPAPIEKTI SKTKGQPREP
351 QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP
401 MLDS DGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG
451 (配列番号 394)

20

【0 2 8 3】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-15 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

30

【化 1 5 7】

1 GAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAGC CTGGGGGCCTC
51 AGTGAAGGTC TCCTGCAAGG CTTCTGACTT CAACATTAAA GACTTCTATC
101 TACACTGGGT GCGACAGGCC CCTGGACAAG GGCTTGAGTG GATTGGAAGG
151 ATTGATCCTG AGAATGGTGA TACTTTATAT GACCCGAAGT TCCAGGACAA
201 GGTCACCATG ACCACAGACA CGTCCACCAG CACAGCCTAC ATGGAGCTGA
251 GGAGCCTGAG ATCTGACGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GAGAGAGGCG
301 GATTATTTCC ACGATGGTAC CTCCTACTGG TACTTCGATG TCTGGGGCCG
351 TGGCACCCCTG GTCACCGTCT CTAGTGCCTC CACCAAGGGC CCATCGGTCT
401 TCCCCCTGGC GCCCTGCTCC AGGAGCACCT CCGAGAGCAC AGCGGCCCTG
451 GGCTGCCTGG TCAAGGACTA CTTCCCCGAA CCGGTGACGG TGTCGTGGAA
501 CTCAGGCGCT CTGACCAGCG GCGTGCACAC CTTCCCAGCT GTCCTACAGT
551 CCTCAGGACT CTACTCCCTC AGCAGCGTGG TGACCGTGCC CTCAGCAAC
601 TTCGGCACCC AGACCTACAC CTGCAACGTA GATCACAAGC CCAGCAACAC
651 CAAGGTGGAC AAGACAGTTG AGCGCAAATG TTGTGTCGAG TGCCCACCGT
701 GCCCAGCACC ACCTGTGGCA GGACCGTCAG TCTTCCTCTT CCCCCAAAA
751 CCAAAGGACA CCCTCATGAT CTCCCGGACC CCTGAGGTCA CGTGCGTGGT
801 GGTGGACGTG AGCCACGAAG ACCCCGAGGT CCAGTTCAAC TGGTACGTGG
851 ACGGCGTGGA GGTGCATAAT GCCAAGACAA AGCCACGGGA GGAGCAGTTC
901 AACAGCACGT TCCGTGTGGT CAGCGTCCTC ACCGTTGTGC ACCAGGACTG
951 GCTGAACGGC AAGGAGTACA AGTGCAAGGT CTCCAACAAA GGCCTCCAG
1001 CCCCATCGA GAAAACCATC TCCAAAACCA AAGGGCAGCC CCGAGAACCA
1051 CAGGTGTACA CCCTGCCCCC ATCCCGGGAG GAGATGACCA AGAACCAGGT
1101 CAGCCTGACC TGCCTGGTCA AAGGCTTCTA CCCCAGCGAC ATCGCCGTGG
1151 AGTGGGAGAG CAATGGGCAG CCGGAGAACA ACTACAAGAC CACACCTCCC
1201 ATGCTGGACT CCGACGGCTC CTTCTTCCTC TACAGCAAGC TCACCGTGGA
1251 CAAGAGCAGG TGGCAGCAGG GGAACGTCTT CTCATGCTCC GTGATGCATG
1301 AGGCTCTGCA CAACCACTAC ACGCAGAAGA GCCTCTCCCT GTCTCCGGGT
1351 AAA (配列番号 226)

10

20

【 0 2 8 4】

シグナルペプチドを含めたAb-15 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 5 8】

1 MDWTWRILFL VAAATGAHSE VQLVQSGAEV KKPGASVKVS CKASDFNIKD
51 FYLHWVRQAP GQGLEWIGRI DPENGDTLYD PKFQDKVTMT TDTSTSTAYM
101 ELRSLRSDDT AVYYCAREAD YFHDGTSYWY FDVWGRGTLV TVSSASTKGP
151 SVFPLAPCSR STSESTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV
201 LQSSGLYSLV SVVTVPSNPF GTQTYTCNVD HKPSNTKVDK TVERKCCVEC
251 PPCPAPPVAG PSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVQFNW
301 YVDGVEVHNA KTKPREEQFN STFRVSVSLT VVHQDWLNGK EYKCKVSNKG
351 LPAPIEKTIS KTKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLT LVKGFYPSDI
401 AVEWESNGQP ENNYKTTTPM LDSDGSEFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV
451 MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (配列番号 227)

40

【 0 2 8 5】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-15 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 5 9】

1 ATGGACTGGA CCTGGAGGAT CCTCTTCTTG GTGGCAGCAG CCACAGGAGC
 51 CCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG GGCTGAGGTG AAGAAGCCTG
 101 GGGCCTCAGT GAAGGTCTCC TGCAAGGCTT CTGACTTCAA CATTAAAGAC
 151 TTCTATCTAC ACTGGGTGCG ACAGGCCCTT GGACAAGGGC TTGAGTGGAT
 201 TGGAAGGATT GATCCTGAGA ATGGTGATAC TTTATATGAC CCGAAGTTCC
 251 AGGACAAGGT CACCATGACC ACAGACACGT CCACCAGCAC AGCCTACATG
 301 GAGCTGAGGA GCCTGAGATC TGACGACACG GCCGTGTATT ACTGTGCGAG
 351 AGAGGCGGAT TATTTCCACG ATGGTACCTC CTACTGGTAC TTCGATGTCT
 401 GGGGCCGTGG CACCCTGGTC ACCGTCTCTA GTGCCTCCAC CAAGGGCCCA
 451 TCGGTCTTCC CCCTGGCGCC CTGCTCCAGG AGCACCTCCG AGAGCACAGC
 501 GGCCCTGGGC TGCCTGGTCA AGGACTACTT CCCCGAACCG GTGACGGTGT
 551 CGTGGAAGTC AGGCGCTCTG ACCAGCGGCG TGCACACCTT CCCAGCTGTC
 601 CTACAGTCCT CAGGACTCTA CTCCCTCAGC AGCGTGGTGA CCGTGCCCTC
 651 CAGCAACTTC GGCACCCAGA CCTACACCTG CAACGTAGAT CACAAGCCCA
 701 GCAACACCAA GGTGGACAAG ACAGTTGAGC GCAAATGTTG TGTCGAGTGC
 751 CCACCGTGCC CAGCACCACC TGTGGCAGGA CCGTCAGTCT TCCTCTTCCC
 801 CCCAAAACCC AAGGACACCC TCATGATCTC CCGGACCCCT GAGGTCACGT
 851 GCGTGGTGGT GGACGTGAGC CACGAAGACC CCGAGGTCCA GTTCAACTGG
 901 TACGTGGACG GCGTGGAGGT GCATAATGCC AAGACAAAGC CACGGGAGGA
 951 GCAGTTCAAC AGCACGTTCG GTGTGGTCAG CGTCCTCACC GTTGTGCACC
 1001 AGGACTGGCT GAACGGCAAG GAGTACAAGT GCAAGGTCTC CAACAAAGGC
 1051 CTCCCAGCCC CCATCGAGAA AACCATCTCC AAAACCAAAG GGCAGCCCCG
 1101 AGAACCACAG GTGTACACCC TGCCCCCCTC CCGGGAGGAG ATGACCAAGA
 1151 ACCAGGTCAG CCTGACCTGC CTGGTCAAAG GCTTCTACCC CAGCGACATC
 1201 GCCGTGGAGT GGGAGAGCAA TGGGCAGCCG GAGAACAAC AAGACCAC
 1251 ACCTCCCATG CTGGACTCCG ACGGCTCCTT CTTCCTCTAC AGCAAGCTCA
 1301 CCGTGGACAA GAGCAGGTGG CAGCAGGGGA ACGTCTTCTC ATGCTCCGTG
 1351 ATGCATGAGG CTCTGCACAA CCACTACACG CAGAAGAGCC TCTCCCTGTC
 1401 TCCGGGTAAA (配列番号 228)

10

20

30

【 0 2 8 6 】

Ab-15の重鎖の可変領域にあるCDR配列は以下の通りである：

CDR-H1:DFYLH (配列番号290)

CDR-H2:RIDPENGDTLYDPKFQD (配列番号291)

CDR-H3:EADYFHDGTSYWYFDV (配列番号292)

【 0 2 8 7 】

Ab-15の軽鎖の可変領域にあるCDR配列は以下の通りである：

CDR-L1:SVSSTISSNHLH (配列番号278)

CDR-L2:GTSNLAS (配列番号279)

CDR-L3:QQWSSYPLT (配列番号280)

40

【 0 2 8 8 】

Ab-15 可変ドメイン：

Ab-15軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列(シグナル配列ナシ)：

【化 1 6 0】

1 DIQMTQSPSS LSASVGDRVITCSVSSTIS SNHLHWFQK PGKAPKSLIY
 51 GTSNLASGVP SRFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFATYYCQ QWSSYPLTFG
 101 GGTKVEIK (配列番号 384)

【 0 2 8 9 】

Ab-15軽鎖可変ドメインのDNA配列(シグナル配列ナシ)：

50

【化 1 6 1】

1 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTCTCAGCAT CCGTAGGCGA
 51 TAGAGTTACA ATAACATGCA GCGTATCATC AACTATATCA TCAAATCATC
 101 TTCATTGGTT CCAACAGAAA CCCGGCAAAG CACCTAAATC ACTTATATAC
 151 GGCACATCAA ATCTCGCATC AGGCGTTCCT TCAAGATTTT CAGGCTCTGG
 201 CTCAGGCACC GACTTTACTC TTACAATATC CTCCCTCCAA CCCGAAGACT
 251 TCGCAACCTA TTA CTGTCAA CAATGGTCCT CATATCCACT CACATTTGGC
 301 GGCGGCACAA AAGTAGAAAT TAAA (配列番号 385)

【 0 2 9 0】

Ab-15重鎖可変ドメインのアミノ酸配列(シグナル配列ナシ)：

【化 1 6 2】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASDFNIK DFYLHWVRQA PGQGLEWIGR
 51 IDPENGDTLY DPKFQDKVTM TTDSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCAREA
 101 DYFHDGTSYW YFDVWGRGTL VTVSS (配列番号 386)

【 0 2 9 1】

Ab-15重鎖可変ドメインのDNA配列(シグナル配列ナシ)：

【化 1 6 3】

1 GAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAGC CTGGGGCCTC
 51 AGTGAAGGTC TCCTGCAAGG CTTCTGACTT CAACATTAAA GACTTCTATC
 101 TACACTGGGT GCGACAGGCC CCTGGACAAG GGCTTGAGTG GATTGGAAGG
 151 ATTGATCCTG AGAATGGTGA TACTTTATAT GACCCGAAGT TCCAGGACAA
 201 GGTCACCATG ACCACAGACA CGTCCACCAG CACAGCCTAC ATGGAGCTGA
 251 GGAGCCTGAG ATCTGACGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GAGAGAGGCG
 301 GATTATTTCC ACGATGGTAC CTCCTACTGG TACTTCGATG TCTGGGGCCG
 351 TGGCACCTG GTCACCGTCT CTAGT (配列番号 387)

【 0 2 9 2】

Ab-11をヒト化して、Ab-16を生成させた。

Ab-16

抗体16(本明細書ではAb-16とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである。

【 0 2 9 3】

Ab-16 軽鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-16 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 6 4】

1 DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASSSIS YIH WYQQKPG KAPKLLIYAT
 51 SNLASGVPSR FSGSGSGTEF LTISLQPE DFATYYCQQW SSDPLETFGGG
 101 TKVEIKRTVA APSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD
 151 NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL
 201 SSPVTKSFNR GEC (配列番号 229)

【 0 2 9 4】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-16 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

10

20

30

40

【化 1 6 5】

1 GACATCCAGT TGACCCAGTC TCCATCCTTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA
 51 CAGAGTCACC ATCACTTGCA GGGCCAGCTC AAGTATAAGT TACATACACT
 101 GGTATCAGCA AAAACCAGGG AAAGCCCCTA AGCTCCTGAT CTATGCCACA
 151 TCCAACCTGG CTTCTGGGGT CCCATCAAGG TTCAGCGGCA GTGGATCTGG
 201 GACAGAATTC ACTCTCACAA TCAGCAGCCT GCAGCCTGAA GATTTTGCAA
 251 CTTATTACTG TCAGCAGTGG AGTAGTGACC CACTCACGTT CGGCGGAGGG
 301 ACCAAGGTGG AGATCAAACG TACGGTGGCT GCACCATCTG TCTTCATCTT
 351 CCCGCCATCT GATGAGCAGT TGAAATCTGG AACTGCCTCT GTTGTGTGCC
 401 TGCTGAATAA CTTCTATCCC AGAGAGGCCA AAGTACAGTG GAAGGTGGAT
 451 AACGCCCTCC AATCGGGTAA CTCCCAGGAG AGTGTCACAG AGCAGGACAG
 501 CAAGGACAGC ACCTACAGCC TCAGCAGCAC CCTGACGCTG AGCAAAGCAG
 551 ACTACGAGAA ACACAAAGTC TACGCCTGCG AAGTCACCCA TCAGGGCCTG
 601 AGCTCGCCCG TCACAAAGAG CTTCAACAGG GGAGAGTGT (配列番号 230)

10

【 0 2 9 5】

シグナルペプチドを含めたAb-16 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 6 6】

1 MDMRVPAQLL GLLLLWLPGA RCDIQLTQSP SFLSASVGDR VTITCRASSS
 51 ISYIHWYQK PGKAPKLLIY ATSNLASGVP SRFSGSGSGT EFTLTSSLQ
 101 PEDFATYYCQ QWSSDPLTFG GGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT
 151 ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYLSSTL
 201 TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC (配列番号 231)

20

【 0 2 9 6】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-16 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 6 7】

1 ATGGACATGA GGGTCCCCGC TCAGCTCCTG GGGCTCCTGC TGCTCTGGCT
 51 CCCAGGTGCC AGATGTGACA TCCAGTTGAC CCAGTCTCCA TCCTTCCTGT
 101 CTGCATCTGT AGGAGACAGA GTCACCATCA CTTGCAGGGC CAGCTCAAGT
 151 ATAAGTTACA TACACTGGTA TCAGCAAAAA CCAGGGAAAG CCCCTAAGCT
 201 CCTGATCTAT GCCACATCCA ACCTGGCTTC TGGGGTCCCA TCAAGGTTCA
 251 GCGGCAGTGG ATCTGGGACA GAATTCACCTC TCACAATCAG CAGCCTGCAG
 301 CCTGAAGATT TTGCAACTTA TTACTGTCAG CAGTGGAGTA GTGACCCACT
 351 CACGTTTCGGC GGAGGGACCA AGGTGGAGAT CAAACGTACG GTGGCTGCAC
 401 CATCTGTCTT CATCTTCCCG CCATCTGATG AGCAGTTGAA ATCTGGAAC
 451 GCCTCTGTTG TGTGCCTGCT GAATAACTTC TATCCCAGAG AGGCCAAAGT
 501 ACAGTGGAAG GTGGATAACG CCCTCCAATC GGGTAACTCC CAGGAGAGTG
 551 TCACAGAGCA GGACAGCAAG GACAGCACCT ACAGCCTCAG CAGCACCCCTG
 601 ACGCTGAGCA AAGCAGACTA CGAGAAACAC AAAGTCTACG CCTGCGAAGT
 651 CACCCATCAG GGCCTGAGCT CGCCCGTCAC AAAGAGCTTC AACAGGGGAG
 701 AGTGT (配列番号 232)

30

40

【 0 2 9 7】

Ab-16 重鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-16 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 6 8】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGFDIKDYYIHWVRQA PGQGLEWIGR
51 VDPDNGETEF APKFPGKVTM TTDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARED
101 YDGTITWFPY WGQGTLLTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV
151 KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSNFGTQ
201 TYTCNVDHKP SNTKVDKTVE RKCCVECPPC PAPPVAGPSV FLFPPKPKDT
251 LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTF
301 RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT
351 LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDLAVE WESNGOPENN YKTTTPMLDS
401 DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (配列番号 233)

10

【0 2 9 8】

カルボキシ末端のリジンを含まない成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-16 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 1 6 9】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGFDIKDYYIHWVRQA PGQGLEWIGR
51 VDPDNGETEF APKFPGKVTM TTDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARED
101 YDGTITWFPY WGQGTLLTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV
151 KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSNFGTQ
201 TYTCNVDHKP SNTKVDKTVE RKCCVECPPC PAPPVAGPSV FLFPPKPKDT
251 LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTF
301 RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT
351 LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDLAVE WESNGOPENN YKTTTPMLDS
401 DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE ALHNHYTQKS LSLSPG (配列番号 395)

20

【0 2 9 9】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-16 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

30

【化 1 7 0】

1 GAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAGC CTGGGGCCTC
 51 AGTGAAGGTC TCCTGCAAGG CTTCTGGATT CGACATTAAG GACTACTATA
 101 TACACTGGGT GCGACAGGCC CCTGGACAAG GGCTTGAGTG GATCGGAAGG
 151 GTTGATCCTG ACAATGGTGA GACTGAATTT GCCCGAAGT TCCCGGGCAA
 201 GGTCACCATG ACCACAGACA CGTCCATCAG CACAGCCTAC ATGGAGCTGA
 251 GCAGGCTGAG ATCTGACGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GAGAGAAGAC
 301 TACGATGGTA CCTACACCTG GTTTCCTTAT TGGGGCCAAG GGA CTCTGGT
 351 CACCGTCTCT AGTGCCTCCA CCAAGGGGCC ATCGGTCTTC CCCCTGGCGC
 401 CCTGCTCCAG GAGCACCTCC GAGAGCACAG CGGCCCTGGG CTGCCTGGTC
 451 AAGGACTACT TCCCGAACC GGTGACGGTG TCGTGGAAC T CAGGCGCTCT
 501 GACCAGCGGC GTGCACACCT TCCCAGCTGT CCTACAGTCC TCAGGACTCT
 551 ACTCCCTCAG CAGCGTGGTG ACCGTGCCCT CCAGCAACTT CGGCACCCAG
 601 ACCTACACCT GCAACGTAGA TCACAAGCCC AGCAACACCA AGGTGGACAA
 651 GACAGTTGAG CGCAAATGTT GTGTCGAGTG CCCACCGTGC CCAGCACCCAC
 701 CTGTGGCAGG ACCGTCAGTC TTCCTCTTCC CCCCCAAACC CAAGGACACC
 751 CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTACAG TCGTGGTGG TGGACGTGAG
 801 CCACGAAGAC CCCGAGGTCC AGTTCAACTG GTACGTGGAC GCGTGGAGG
 851 TGCATAATGC CAAGACAAAG CCACGGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACGTTC
 901 CGTGTGGTCA GCGTCCTCAC CGTTGTGCAC CAGGACTGGC TGAACGGCAA
 951 GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGG CCTCCAGCC CCCATCGAGA
 1001 AAACCATCTC CAAAACCAA GGCAGCCCC GAGAACCACA GGTGTACACC
 1051 CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA GCCTGACCTG
 1101 CCTGGTCAAA GGCTTCTACC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG TGGGAGAGCA
 1151 ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CACCTCCCAT GCTGGACTCC
 1201 GACGGCTCCT TCTTCCTCTA CAGCAAGCTC ACCGTGGACA AGAGCAGGTG
 1251 GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG GCTCTGCACA
 1301 ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CTCCGGGTAA A (配列番号 234)

10

20

【 0 3 0 0】

シグナルペプチドを含めたAb-16 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 1 7 1】

1 MDWTWRILFL VAAATGAHSE VQLVQSGAEV KKPGASVKVS CKASGFDIKD
 51 YYIHWVRQAP GQGLEWIGRV DPDNGETEF A PKFPGKVTMT TDTSISTAYM
 101 ELSRLRSDDT AVYYCAREDY DGTYTWFPYW GQGLTVTVSS ASTKGPSVFP
 151 LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS
 201 GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCCVECPPCP
 251 APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVQFNWYVDG
 301 VEVHNAKTKP REEQFNSTFR VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVS NKGLPAP
 351 IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYP SDIAVEW
 401 ESNGQPENNY K TTPM L DSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA
 451 LHNHYTQKSL SLSPGK (配列番号 235)

40

【 0 3 0 1】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-16 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 1 7 2】

1 ATGGACTGGA CCTGGAGGAT CCTCTTCTTG GTGGCAGCAG CCACAGGAGC
 51 CCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG GGCTGAGGTG AAGAAGCCTG
 101 GGGCCTCAGT GAAGGTCTCC TGCAAGGCTT CTGGATTCTGA CATTAAGGAC
 151 TACTATATAC ACTGGGTGCG ACAGGCCCTT GGACAAGGGC TTGAGTGGAT
 201 CGGAAGGGTT GATCCTGACA ATGGTGAGAC TGAATTTGCC CCGAAGTTCC
 251 CGGGCAAGGT CACCATGACC ACAGACACGT CCATCAGCAC AGCCTACATG
 301 GAGCTGAGCA GGCTGAGATC TGACGACACG GCCGTGTATT ACTGTGCGAG
 351 AGAAGACTAC GATGGTACCT ACACCTGGTT TCCTTATTGG GGCCAAGGGA
 401 CTCTGGTCAC CGTCTCTAGT GCCTCCACCA AGGGCCCATC GGTCTTCCCC
 451 CTGGCGCCCT GCTCCAGGAG CACCTCCGAG AGCACAGCGG CCCTGGGCTG
 501 CCTGGTCAAG GACTACTTCC CCGAACCGGT GACGGTGTCTG TGGAATCAG
 551 GCGCTCTGAC CAGCGGCGTG CACACCTTCC CAGCTGTCCT ACAGTCCTCA
 601 GGACTCTACT CCCTCAGCAG CGTGGTGACC GTGCCCTCCA GCAACTTCGG
 651 CACCCAGACC TACACCTGCA ACGTAGATCA CAAGCCCAGC AACACCAAGG
 701 TGGACAAGAC AGTTGAGCGC AAATGTTGTG TCGAGTGCCC ACCGTGCCCA
 751 GCACCACCTG TGGCAGGACC GTCAGTCTTC CTCTTCCCCC CAAAACCCAA
 801 GGACACCCTC ATGATCTCCC GGACCCCTGA GGTCACGTGC GTGGTGGTGG
 851 ACGTGAGCCA CGAAGACCCC GAGGTCCAGT TCAACTGGTA CGTGGACGGC
 901 GTGGAGGTGC ATAATGCCAA GACAAAGCCA CGGGAGGAGC AGTTCAACAG
 951 CACGTTCCGT GTGGTCAGCG TCCTCACCGT TGTGCACCAG GACTGGCTGA
 1001 ACGGCAAGGA GTACAAGTGC AAGGTCTCCA ACAAAGGCCT CCCAGCCCCC
 1051 ATCGAGAAAA CCATCTCCAA AACCAGAGGG CAGCCCCGAG AACCACAGGT
 1101 GTACACCCTG CCCCCATCCC GGGAGGAGAT GACCAAGAAC CAGGTCAGCC
 1151 TGACCTGCCT GGTCAAAGGC TTCTACCCCA GCGACATCGC CGTGGAGTGG
 1201 GAGAGCAATG GGCAGCCGGA GAACAACCTAC AAGACCACAC CTCCCATGCT
 1251 GGACTCCGAC GGCTCCTTCT TCCTCTACAG CAAGCTCACC GTGGACAAGA
 1301 GCAGGTGGCA GCAGGGGAAC GTCTTCTCAT GCTCCGTGAT GCATGAGGCT
 1351 CTGCACAACC ACTACACGCA GAAGAGCCTC TCCCTGTCTC CGGGTAAA (配
 列番号 236)

10

20

30

【 0 3 0 2】

Ab-16の重鎖の可変領域にあるCDR配列は以下の通りである：

CDR-H1: DYYIH (配列番号293)
 CDR-H2: RVDPDNGETEFAPKFP (配列番号294)
 CDR-H3: EDYDGTYTWFPY (配列番号295)

【 0 3 0 3】

Ab-16の軽鎖の可変領域にあるCDR配列は以下の通りである：

CDR-L1: RASSSISYIH (配列番号281)
 CDR-L2: ATSNLAS (配列番号282)
 CDR-L3: QQWSSDPLT (配列番号283)

40

【 0 3 0 4】

Ab-16 可変ドメイン：

Ab-16軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列(シグナル配列ナシ)：

【化 1 7 3】

1 DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASSSIS YIHWYQKPG KAPKLLIYAT
 51 SNLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTISLQPE DFATYYCQQW SSDPLTFGGG
 101 TKVEIK (配列番号 388)

【 0 3 0 5】

Ab-16軽鎖可変ドメインのDNA配列(シグナル配列ナシ)：

50

【化 1 7 4】

1 GACATCCAGT TGACCCAGTC TCCATCCTTC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA
51 CAGAGTCACC ATCACTTGCA GGGCCAGCTC AAGTATAAGT TACATACACT
101 GGTATCAGCA AAAACCAGGG AAAGCCCCTA AGCTCCTGAT CTATGCCACA
151 TCCAACCTGG CTTCTGGGGT CCCATCAAGG TTCAGCGGCA GTGGATCTGG
201 GACAGAATTC ACTCTCACAA TCAGCAGCCT GCAGCCTGAA GATTTTGCAA
251 CTTATTACTG TCAGCAGTGG AGTAGTGACC CACTCACGTT CGGCGGAGGG
301 ACCAAGGTGG AGATCAAA (配列番号 389)

【 0 3 0 6】

10

Ab-16重鎖可変ドメインのアミノ酸配列(シグナル配列ナシ)：

【化 1 7 5】

1 EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGFDIKDYIHWVRQA PGQGLEWIGR
51 VDPDNGETEF APKFPGKVTM TTDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARED
101 YDGYTWFPY WGQGTSLTVS S (配列番号 390)

【 0 3 0 7】

Ab-16重鎖可変ドメインのDNA配列(シグナル配列ナシ)：

【化 1 7 6】

20

1 GAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAGC CTGGGGCCTC
51 AGTGAAGGTC TCCTGCAAGG CTTCTGGATT CGACATTAAG GACTACTATA
101 TACACTGGGT GCGACAGGCC CCTGGACAAG GGCTTGAGTG GATCGGAAGG
151 GTTGATCCTG ACAATGGTGA GACTGAATTT GCCCCGAAGT TCCCGGGCAA
201 GGTCACCATG ACCACAGACA CGTCCATCAG CACAGCCTAC ATGGAGCTGA
251 GCAGGCTGAG ATCTGACGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GAGAGAAGAC
301 TACGATGGTA CCTACACCTG GTTTCCTTAT TGGGGCCAAG GGACTCTGGT
351 CACCGTCTCT AGT (配列番号 391)

【 0 3 0 8】

30

さらなる抗体は本明細書では抗体17-22と称される(本明細書ではAb-17, Ab-18, Ab-19, Ab-20, Ab-21, およびAb-22とも称される)。Ab-17, Ab-19および Ab-21のすべてのVK領域であるκ定常領域は以下の通りである：

【化 1 7 7】

TDAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQD
SKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC (配列番号 323)

【 0 3 0 9】

抗体17, 19および21のすべてのVH領域である重鎖定常領域は以下の通りである：

【化 1 7 8】

40

AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS
DLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIF
PPKPKDVLITLTPKVTCTVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRS
VSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKD
KVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEA
GNTFTCSVLHEGLHNHTEKSLSHSPGK (配列番号 324)

【 0 3 1 0】

以下の抗体アミノ酸配列において、網掛けは相補性決定領域(CDRs)を示し、下線を付したアミノ酸はシグナルペプチドを示す。

Ab-17

50

シグナルペプチドを含むAb-17 LCのアミノ酸配列：

【化179】

MDFQVQIFSFMLISVTIVLSSGEIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHWSQQK
SGTSPKLWIYGTSNLASGVVPRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWITITITFG
SGTKLELKR (配列番号 299)

【0311】

シグナルペプチドを含むAb-17 LCの核酸配列：

【化180】

ATGGATTTTTCAGGTGCAGATTTTTCAGCTTCATGCTAATCAGTGTCACAGTCATATTG
TCCAGTGGAGAAATTGTGCTCACCCAGTCTCCAGCACTCATGGCTGCATCTCCAGGG
GAGAAGGTCACCATCACCTGCAGTGTCAGCTCGAGTATAAGTTCCAGCAACTTACA
CTGGTCCCAGCAGAAGTCAGGAACCTCCCCAAACTCTGGATTTATGGCACATCCA
ACCTTGCTTCTGGAGTCCCTGTTTCGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACCTCTTATTC
TCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGTCAACAGT
GGACTACTACGTATACGTTTCGGATCGGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGT (配列番
号 300)

10

【0312】

シグナルペプチドを含むAb-17 HCのアミノ酸配列：

【化181】

MGWNWIIFFLMVVTVGVNSEVQLRQSGADLVKPGASVKLSCTASGFNIKDYIHWVK
QRPEQGLEWIGRIDPDNGESTYVPKFOGKATITADTSSNTAYLQLRSLTSEDTAIYYCGR
EGLDYGDIYAVDYWGQGTSVTVSS (配列番号 301)

20

【0313】

シグナルペプチドを含むAb-17 HCの核酸配列：

【化182】

ATGGGATGGAACTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCA
GAGGTGCAGTTGCGGCAGTCTGGGGCAGACCTTGTTGAAGCCAGGGGCCTCAGTCAA
GTTGTCCTGCACAGCTTCTGGCTTCAACATTAAAGACTACTATATACACTGGGTGAA
GCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGAAGGATTGATCCTGATAATGGTG
AAAGTACATATGTCCCGAAGTTCCAGGGCAAGGCCACTATAACAGCAGACACATCA
TCCAACACAGCCTACCTACAACCTCAGAAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCATCTA
TTATTGTGGGAGAGAGGGGCTCGACTATGGTGACTACTATGCTGTGGACTACTGGG
GTCAAGGAACCTCGGTCACAGTCTCGAGC (配列番号 302)

30

【0314】

Ab-17をヒト化して、Ab-18を生成させた。

Ab-18

40

シグナルペプチドを含むAb-18 LCのアミノ酸配列：

【化183】

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCDIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCSVSSSISSSNLHWYQ
QKPGKAPKLLIYGTSNLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQWITITITF
GQGTKLEIKR (配列番号 303)

【0315】

シグナルペプチドを含むAb-18 LCの核酸配列：

【化 1 8 4】

ATGGATATGCGCGTGCCGGCGCAGCTGCTGGGCCTGCTGCTGCTGTGGCTGCCGGG
CGCGCGCTGCGATATTCAGCTGACCCAGAGCCCGAGCTTTCTGAGCGCGAGCGTGG
GCGATCGCGTGACCATTACCTGCAGCGTGAGCAGCAGCATTAGCAGCAGCAACCTG
CATTGGTATCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAACTGCTGATTTATGGCACCAG
CAACCTGGCGAGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGAAT
TTACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATTTTGCAGCCTATTATTGCCAGC
AGTGGACCACCACCTATACCTTTGGCCAGGGCACCAAACCTGGAAATTAAACGT (配
列番号 304)

10

【0 3 1 6】

シグナルペプチドを含むAb-18 HCのアミノ酸配列：

【化 1 8 5】

MDWTWSILFLVAAPTGAHSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYIHWVR
QAPGQGLEWMGRIDPDNGESTYVPKFQGRVTMTTDTSTAYMELRSLRSDDTAVYY
CAREGLDYGDYYAVDYGQGTTLTVSS (配列番号 305)

【0 3 1 7】

シグナルペプチドを含むAb-18 HCの核酸配列：

【化 1 8 6】

20

ATGGATTGGACCTGGAGCATTCTGTTTCTGGTGGCGGCGCCGACCGGCGCGCATAG
CGAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTG
AAAGTGAGCTGCAAAGCGAGCGGCTTTAACATTAAAGATTATTATATTCATTGGGT
GCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATGGGCGCATTGATCCGGATAACG
GCGAAAGCACCTATGTGCCGAAATTTAGGGCCGCGTGACCATGACCACCGATACC
AGCACCAGCACCGCGTATATGGAAGTGCAGCAGCCTGCGCAGCGATGATACCGCGGT
GTATTATTGCGCGCGCGAAGGCCTGGATTATGGCGATTATTATGCGGTGGATTATTG
GGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTCTCGAGC (配列番号 306)

【0 3 1 8】

30

Ab-18軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列(シグナル配列ナシ)：

【化 1 8 7】

DIQLTQSPSFLSASVGDRVITTCSSVSSSISSSNLHWYQQKPGKAPKLLIYGTSNLAGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQWTFYTFGQGTKLEIKR (配列番号 368)

【0 3 1 9】

Ab-18軽鎖可変ドメインのDNA配列(シグナル配列ナシ)：

【化 1 8 8】

40

GATATTCAGCTGACCCAGAGCCCGAGCTTTCTGAGCGCGAGCGTGGGCGATCGCGT
GACCATTACCTGCAGCGTGAGCAGCAGCATTAGCAGCAGCAACCTGCATTGGTATC
AGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAACTGCTGATTTATGGCACCAGCAACCTGGCG
AGCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGAATTTACCCTGAC
CATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATTTTGCAGCCTATTATTGCCAGCAGTGGACCA
CCACCTATACCTTTGGCCAGGGCACCAAACCTGGAAATTAAACGT (配列番号 369)

【0 3 2 0】

Ab-18重鎖可変ドメインのアミノ酸配列(シグナル配列ナシ)：

【化 1 8 9】

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYIHWVRQAPGQGLEWMGRIDPDNGE
STYVPKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAREGLDYGDYYAVDYWG
QGTLVTVSS (配列番号 370)

【0 3 2 1】

Ab-18重鎖可変ドメインのDNA配列(シグナル配列ナシ)：

【化 1 9 0】

GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTGA
AAGTGAGCTGCAAAGCGAGCGGCTTTAACATTAAAGATTATTATATTCATTGGGTG
CGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATGGGCCCGCATTGATCCGGATAACGG
CGAAAGCACCTATGTGCCGAAATTTAGGGCCGCGTGACCATGACCACCGATACCA
GCACCAGCACCGCGTATATGGAAGTGCAGCAGCCTGCGCAGCGATGATACCGCGGTG
TATTATTGCGCGCGCGAAGGCCTGGATTATGGCGATTATTATGCGGTGGATTATTGG
GGCCAGGGCACCTGGTGACCGTCTCGAGC (配列番号 371)

10

【0 3 2 2】

Ab-19

シグナルペプチドを含むAb-19 LCのアミノ酸配列：

【化 1 9 1】

MMSSAQFLGLLLCFQGTTRCDIQMTQTSSLSASLGDRVNISCRASQDISSYLNWYQQK
PDGTVKLLIYSTSRLNSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLAQEDIATYFCQQDIKHPIFGGG
TKLELKR (配列番号 307)

20

【0 3 2 3】

シグナルペプチドを含むAb-19 LCの核酸配列：

【化 1 9 2】

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGAT
GTGATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAG
TCAACATCAGCTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAGTTATTTAACTGGTATCAG
CAGAAACCAGATGGAAGTGTAACTCCTGATCTACTCCACATCAAGATTAACTC
AGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCACTAT
TAGCAACCTGGCACAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGATATTAAGC
ATCCGACGTTCTGGTGGAGGCACCAAGTTGGAGCTGAAACGT (配列番号 308)

30

【0 3 2 4】

シグナルペプチドを含むAb-19 HCのアミノ酸配列：

【化 1 9 3】

MEWIWIFLFLLSGTAGVHSEVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGFTFTDYIMHWVKQ
KPGQGLEWIGYINPYNDDTEYNEKEKGGKATLTSDKSSSTAYMDLSSLTSEGSVYYCA
RSIYYDAPFAYWGQGTTLTVSS (配列番号 309)

40

【0 3 2 5】

シグナルペプチドを含むAb-19 HCの核酸配列：

【化 1 9 4】

ATGGAATGGATCTGGATATTTCTCTTCCTCCTGTCAGGAACTGCAGGTGTCCACTCT
GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAA
GATGTCCTGCAAGGCTTCTGGGTTACATTCACTGACTACATTATGCACTGGGTGAA
GCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTACAATGATG
ATACTGAATACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAGACAAATCC
TCCAGCACAGCCTACATGGATCTCAGCAGTCTGACCTCTGAGGGCTCTGCGGTCTAT
TACTGTGCAAGATCGATTATTACTACGATGCCCCGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGG
ACTCTGGTCACAGTCTCGAGC (配列番号 310)

10

【0 3 2 6】

Ab-19をヒト化して、抗体20（本明細書ではAb-20とも称される）と抗体23（本明細書ではAb-23とも称される）を生成させた。

Ab-20

IgG4 バージョン

シグナルペプチドを含むAb-20 LCのアミノ酸配列：

【化 1 9 5】

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQDISSYLNWYQQK
PGKAPKLLIYSTSLNSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDIKHPTFGQG
TKVEIKR (配列番号 311)

20

【0 3 2 7】

シグナルペプチドを含むAb-20 LCの核酸配列：

【化 1 9 6】

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGAT
GTGATATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGTGACCGTG
TCACCATCACTTGCCGCGCAAGTCAGGATATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGC
AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATTCTACTTCCCGTTTGAATAGTG
GGGTCCCATCACGCTTCAGTGGCAGTGGCTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA
GCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGGATATTAAACACC
CTACGTTTCGGTCAAGGCACCAAGGTGGAGATCAAACGT (配列番号 312)

30

【0 3 2 8】

シグナルペプチドを含むAb-20 HCのアミノ酸配列：

【化 1 9 7】

MEWIWIFLFLLSGTAGVHSEVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC
KASGFTFTDYIMHWVRQ
APGQGLEWMGYINPYNDDTEYNEKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA
RSIYYYPDAPFAYWGQGTLVTVSS (配列番号 313)

40

【0 3 2 9】

シグナルペプチドを含むAb-20 HCの核酸配列：

【化 1 9 8】

ATGGAATGGATCTGGATATTTCTCTTCCTCCTGTCAGGAACTGCAGGTGTCCACTCT
 GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAA
 GGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTTACCTTCACCGACTATATTATGCACTGGGTGCG
 TCAGGCCCTGGTCAAGGGCTTGAGTGGATGGGCTATATCAACCCTTATAATGATG
 ACACCGAATAACAACGAGAAGTTCAAGGGCCGTGTCACGATTACCGCGGACAAATCC
 ACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGCGCTCTGAGGACACGGCCGTGTA
 TTA CTGTGCGCGTTTCGATTTATTACTACGATGCCCCGTTTGCTTACTGGGGCCAAGG
 GACTCTGGTTCACAGTCTCGAGC (配列番号 349)

10

【 0 3 3 0】

Ab-23

IgG2 バージョン

軽鎖:

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-23 LCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 1 9 9】

1 DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYS
 51 TSRLNSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ DIKHPTFGQG
 101 TKVEIKRTVA APSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD
 151 NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL
 201 SSPVTKSFNR GEC (配列番号 341)

20

【 0 3 3 1】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-23 LCをコードしている核酸配列は以下の通りである:

【化 2 0 0】

1 GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGTGA
 51 CCGTGTCAAC ATCACTTGCC GCGCAAGTCA GGATATTAGC AGCTATTTAA
 101 ATTGGTATCA GCAGAAACCA GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTCT
 151 ACTTCCCGTT TGAATAGTGG GGTCCCATCA CGCTTCAGTG GCAGTGGCTC
 201 TGGGACAGAT TTA CTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT GAAGATTTTG
 251 CAACTTACTA CTGTCAACAG GATATTAAAC ACCCTACGTT CGGTCAAGGC
 301 ACCAAGGTGG AGATCAAACG TACGGTGGCT GCACCATCTG TCTTCATCTT
 351 CCCGCCATCT GATGAGCAGT TGAAATCTGG AACTGCCTCT GTTGTGTGCC
 401 TGCTGAATAA CTTCTATCCC AGAGAGGCCA AAGTACAGTG GAAGGTGGAT
 451 AACGCCCTCC AATCGGGTAA CTCCCAGGAG AGTGTCACAG AGCAGGACAG
 501 CAAGGACAGC ACCTACAGCC TCAGCAGCAC CCTGACGCTG AGCAAAGCAG
 551 ACTACGAGAA ACACAAAGTC TACGCTGCG AAGTCACCCA TCAGGGCCTG
 601 AGCTCGCCCG TCACAAAGAG CTTCAACAGG GGAGAGTGT (配列番号 342)

30

【 0 3 3 2】

シグナルペプチドを含めたAb-23 LCのアミノ酸配列は以下の通りである:

【化 2 0 1】

1 MDMRVPAQLL GLLLLWLRGA RCDIQMTQSP SLSASVGDR VTITCRASQD
 51 ISSYLNWYQQ KPGKAPKLLI YTSRLNSGV PSRFSGSGSG TDFTLTISSL
 101 QPEDFATYYC QQDIKHPTFG QGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT
 151 ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYLSSTL
 201 TLSKADYEKH KVVACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC (配列番号 343)

40

【 0 3 3 3】

50

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-23 LCの核酸配列は以下の通りである：
【化202】

1 ATGGACATGA GGGTGCCCCGC TCAGCTCCTG GGGCTCCTGC TGCTGTGGCT
51 GAGAGGTGCC AGATGTGACA TCCAGATGAC CCAGTCTCCA TCCTCCCTGT
101 CTGCATCTGT AGGTGACCGT GTCACCATCA CTTGCCGCGC AAGTCAGGAT
151 ATTAGCAGCT ATTTAAATTG GTATCAGCAG AAACCAGGGA AAGCCCCCTAA
201 GCTCCTGATC TATTCTACTT CCCGTTTGAA TAGTGGGGGTC CCATCACGCT
251 TCAGTGGCAG TGGCTCTGGG ACAGATTTCA CTCTCACCAT CAGCAGTCTG
301 CAACCTGAAG ATTTTGCAAC TTACTACTGT CAACAGGATA TTAAACACCC
351 TACGTTCCGT CAAGGCACCA AGGTGGAGAT CAAACGTACG GTGGCTGCAC
401 CATCTGTCTT CATCTTCCCG CCATCTGATG AGCAGTTGAA ATCTGGAAGT
451 GCCTCTGTTG TGTGCCTGCT GAATAACTTC TATCCCAGAG AGGCCAAAGT
501 ACAGTGGAAG GTGGATAACG CCCTCCAATC GGGTAACTCC CAGGAGAGTG
551 TCACAGAGCA GGACAGCAAG GACAGCACCT ACAGCCTCAG CAGCACCTG
601 ACGCTGAGCA AAGCAGACTA CGAGAAACAC AAAGTCTACG CCTGCGAAGT
651 CACCCATCAG GGCCTGAGCT CGCCCGTCAC AAAGAGCTTC AACAGGGGAG
701 AGTGT (配列番号 344)

10

【0334】

重鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-23 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

20

【化203】

1 EVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGFTFT **DYIMHWVRQA** PGQGLEWMGY
51 **INPYNDDTEY NEKFKGRVTI** TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARSI
101 **YYIDAPEAYW** GQGLVTVSS **ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK**
151 **DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT**
201 **YTCNVDPHKPS NTKVDKTVR KCCVECPCP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL**
251 **MISRTPEVTC VVDVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTFR**
301 **VSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL**
351 **PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPMLDSD**
401 **GSFFLYSKLT VDKSRWQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK** (配列番号
345)

30

【0335】

カルボキシ末端のリジンを含まない成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-23 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化204】

1 EVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGFTFT **DYIMHWVRQA** PGQGLEWMGY
51 **INPYNDDTEY NEKFKGRVTI** TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARSI
101 **YYIDAPEAYW** GQGLVTVSS **ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK**
151 **DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT**
201 **YTCNVDPHKPS NTKVDKTVR KCCVECPCP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL**
251 **MISRTPEVTC VVDVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTFR**
301 **VSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL**
351 **PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPMLDSD**
401 **GSFFLYSKLT VDKSRWQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPG** (配列番号
396)

40

【0336】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-23 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

50

【化 2 0 5】

1 GAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAGC CTGGGTCCTC
 51 GGTGAAGGTC TCCTGCAAGG CTTCTGGTTT TACCTTCACC GACTATATTA
 101 TGCAC TGGGT GCGTCAGGCC CCTGGTCAAG GGCTTGAGTG GATGGGCTAT
 151 ATCAACCCTT ATAATGATGA CACCGAATAC AACGAGAAGT TCAAGGGCCG
 201 TGTCACGATT ACCGCGGACA AATCCACGAG CACAGCCTAC ATGGAGCTGA
 251 GCAGCCTGCG CTCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GCGTTCGATT
 301 TATTACTACG ATGCCCCGTT TGCTTACTGG GGCCAAGGGA CTCTGGTCAC
 351 CGTCTCTAGT GCCTCCACCA AGGGCCCATC GGTCTTCCCC CTGGCGCCCT
 401 GCTCCAGGAG CACCTCCGAG AGCACAGCGG CCCTGGGCTG CCTGGTCAAG
 451 GACTACTTCC CCGAACCGGT GACGGTGTCTG TGGAACTCAG GCGCTCTGAC
 501 CAGCGGCGTG CACACCTTCC CAGCTGTCTT ACAGTCCTCA GGACTCTACT
 551 CCCTCAGCAG CGTGGTGACC GTGCCCTCCA GCAACTTCGG CACCCAGACC
 601 TACACCTGCA ACGTAGATCA CAAGCCCAGC AACACCAAGG TGGACAAGAC
 651 AGTTGAGCGC AAATGTTGTG TCGAGTGCCC ACCGTGCCCC GCACCACCTG
 701 TGGCAGGACC GTCAGTCTTC CTCTTCCCCC CAAAACCCAA GGACACCCTC
 751 ATGATCTCCC GGACCCCTGA GGTACGTGC GTGGTGGTGG ACGTGAGCCA
 801 CGAAGACCCC GAGGTCCAGT TCAACTGGTA CGTGGACGGC GTGGAGGTGC
 851 ATAATGCCAA GACAAAGCCA CGGGAGGAGC AGTTCAACAG CACGTTCCTG
 901 GTGGTCAGCG TCCTCACCGT TGTGCACCAG GACTGGCTGA ACGGCAAGGA
 951 GTACAAGTGC AAGGTCTCCA ACAAAGGCCT CCCAGCCCCC ATCGAGAAAA
 1001 CCATCTCCAA AACCAAAGGG CAGCCCCGAG AACCACAGGT GTACACCCTG
 1051 CCCCCATCCC GGGAGGAGAT GACCAAGAAC CAGGTCAGCC TGACCTGCCT
 1101 GGTCAAAGGC TTCTACCCCA GCGACATCGC CGTGGAGTGG GAGAGCAATG
 1151 GGCAGCCGGA GAACAAC TAC AAGACCACAC CTCCCATGCT GGACTCCGAC
 1201 GGCTCCTTCT TCCTCTACAG CAAGCTCACC GTGGACAAGA GCAGGTGGCA
 1251 GCAGGGGAAC GTCTTCTCAT GCTCCGTGAT GCATGAGGCT CTGCACAACC
 1301 ACTACACGCA GAAGAGCCTC TCCCTGTCTC CGGGTAAA (配列番号 346)

10

20

【 0 3 3 7】

シグナルペプチドを含めたAb-23 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 2 0 6】

1 MDWTWRILFL VAAATGAHSE VQLVQSGAEV KKPSSSVKVS CKASGFTFTD
 51 YIMHWVRQAP GQGLEWMGYI NPYNDDETEYN EKFKGRVTIT ADKSTSTAYM
 101 ELSSLRSEDV AVYYCARSY YYDAPFAYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL
 151 APCSRSTSES TAALGCLVKD YFPEPVTISW NSGALTSGVH TFPVQLQSSG
 201 LYSLSSTVTV PSSNFGTQTY TCNVDHKPSN TKVDKTVKRC CCVECPPEA
 251 PPVAGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VQFNWYVDGV
 301 EVHNAKTKPR EEQFNSTFRV VSVLTVVHQD WLNGKEYKCK VSNKGLPAPI
 351 EKTISKTKGQ PREPQVYTL PSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE
 401 SNGQPENNYK TTPMMLDSG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL
 451 HNHYTQKSL LSPGK (配列番号 347)

40

【 0 3 3 8】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-23 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 2 0 7】

1 ATGGACTGGA CCTGGAGGAT CCTCTTCTTG GTGGCAGCAG CCACAGGAGC
 51 CCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGCAGTCTGG GGCTGAGGTG AAGAAGCCTG
 101 GGTCCTCGGT GAAGGTCTCC TGCAAGGCTT CTGGTTTTAC CTTACCGAC
 151 TATATTATGC ACTGGGTGCG TCAGGCCCCCT GGTCAAGGGC TTGAGTGGAT
 201 GGGCTATATC AACCCCTTATA ATGATGACAC CGAATACAAC GAGAAGTTCA
 251 AGGGCCGTGT CACGATTACC GCGGACAAAT CCACGAGCAC AGCCTACATG
 301 GAGCTGAGCA GCCTGCGCTC TGAGGACACG GCCGTGTATT ACTGTGCGCG
 351 TTCGATTAT TACTACGATG CCCCCTTTCG TTAAGGGGC CAAGGGACTC
 401 TGGTCACCGT CTCTAGTGCC TCCACCAAGG GCCCATCGGT CTTCCCCCTG
 451 GCGCCCTGCT CCAGGAGCAC CTCCGAGAGC ACAGCGGCCC TGGGCTGCCT
 501 GGTCAAGGAC TACTTCCCCG AACCGGTGAC GGTGTCGTGG AACTCAGGCG
 551 CTCTGACCAG CGGCGTGCAC ACCTTCCCAG CTGTCCTACA GTCCTCAGGA
 601 CTCTACTCCC TCAGCAGCGT GGTGACCGTG CCCTCCAGCA ACTTCGGCAC
 651 CCAGACCTAC ACCTGCAACG TAGATCACAA GCCCAGCAAC ACCAAGGTGG
 701 ACAAGACAGT TGAGCGCAAA TGTGTGTGTC AGTGCCCACC GTGCCCAGCA
 751 CCACCTGTGG CAGGACCGTC AGTCTTCCTC TTCCCCCCAA AACCCAAGGA
 801 CACCCTCATG ATCTCCCGGA CCCCTGAGGT CACGTGCGTG GTGGTGGACG
 851 TGAGCCACGA AGACCCCGAG GTCCAGTTCA ACTGGTACGT GGACGGCGTG
 901 GAGGTGCATA ATGCCAAGAC AAAGCCACGG GAGGAGCAGT TCAACAGCAC
 951 GTTCCGTGTG GTCAGCGTCC TCACCGTTGT GCACCAGGAC TGGCTGAACG
 1001 GCAAGGAGTA CAAGTGCAAG GTCTCCAACA AAGGCCTCCC AGCCCCCATC
 1051 GAGAAAACCA TCTCCAAAAC CAAAGGGCAG CCCCAGAGAAC CACAGGTGTA
 1101 CACCCTGCCC CCATCCCGGG AGGAGATGAC CAAGAACCAG GTCAGCCTGA
 1151 CCTGCCTGGT CAAAGGCTTC TACCCAGCG ACATCGCCGT GGAGTGGGAG
 1201 AGCAATGGGC AGCCGGAGAA CAACTACAAG ACCACACCTC CCATGCTGGA
 1251 CTCCGACGGC TCCTTCTTCC TCTACAGCAA GCTCACCCTG GACAAGAGCA
 1301 GGTGGCAGCA GGGGAACGTC TTCTCATGCT CCGTGATGCA TGAGGCTCTG
 1351 CACAACCACT ACACGCAGAA GAGCCTCTCC CTGTCTCCGG GTAAA (配列番
 号 348)

10

20

30

【 0 3 3 9】

Ab-23の重鎖の可変領域にあるCDR (相補性決定領域)配列 は以下の通りである：
 CDR-H1:DYIMH (配列番号269)
 CDR-H2:YINPYNDTEYNEKFKG (配列番号270)
 CDR-H3:SIYYDAPFAY (配列番号271)

【 0 3 4 0】

Ab-23の軽鎖可変領域CDR配列は以下のとおりである：
 CDR-L1:RASQDISSYLN (配列番号239)
 CDR-L2:STSRLNS (配列番号240)
 CDR-L3:QQDIKHPT (配列番号241)

40

【 0 3 4 1】

Ab-23 可変ドメイン：

Ab-23軽鎖の可変ドメインのアミノ酸配列(シグナル配列ナシ)：

【化 2 0 8】

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYS
 TSRLNSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ DIKHPTFGQG
 TKVEIK (配列番号 364)

【 0 3 4 2】

Ab-23軽鎖の可変ドメインのDNA配列(シグナル配列ナシ)：

50

【化 2 0 9】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGTGACCGTGTC
ACC ATCACTTGCC GCGCAAGTCA GGATATTAGC AGCTATTTAAATTGGTATCA
GCAGAAACCA GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATTCTACTTCCCGTT
TGAATAGTGG GGTCCCATCA CGCTTCAGTG GCAGTGGCTCTGGGACAGAT
TTCCTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT GAAGATTTTGCAACTTACTA
CTGTCAACAG GATATTAAAC ACCCTACGTT CGGTCAAGGCACCAAGGTGG
AGATCAAA (配列番号 365)

【 0 3 4 3】

10

Ab-23重鎖の可変ドメインのアミノ酸配列(シグナル配列ナシ)：

【化 2 1 0】

EVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGFTFT DYIMHWVRQA
PGQGLEWMGYINPYNDDTEY NEKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED
TAVYYCARSIIYYDAPFAYW GQGTLVTVSS (配列番号 366)

【 0 3 4 4】

Ab-23重鎖の可変ドメインのDNA配列(シグナル配列ナシ)：

【化 2 1 1】

20

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAA
GGTC TCCTGCAAGG CTTCTGGTTT TACCTTCACC GACTATATTATGCACTGGGT
GCGTCAGGCC CCTGGTCAAG GGCTTGAGTG GATGGGCTATATCAACCCTT
ATAATGATGA CACCGAATAC AACGAGAAGT TCAAGGGCCGTGTCACGATT
ACCGCGGACA AATCCACGAG CACAGCCTAC ATGGAGCTGAGCAGCCTGCG
CTCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GCGTTCGATTTATTACTACG
ATGCCCCGTT TGCTTACTGG GGCCAAGGGACTCTGGTCACCGTCTCTAGT (配列番号
367)

【 0 3 4 5】

30

Ab-21

シグナルペプチドを含むAb-21 LCのアミノ酸配列：

【化 2 1 2】

MKSQTQVFVYMLLWLSGVEGDIVMTQSHKFMSTSVGDRVITITCKASQDVFTAVAWYQ
QKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDFLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPLT
FGAGTKLELKR (配列番号 315)

【 0 3 4 6】

シグナルペプチドを含むAb-21 LCの核酸配列：

【化 2 1 3】

40

ATGAAGTCACAGACCCAGGTCTTTGTATACATGTTGCTGTGGTTGTCTGGTGTTGAA
GGAGACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACGTCAGTAGGAGACAG
GGTCACCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTCTTTACTGCTGTAGCCTGGTATCA
ACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGGGCATCCACCCGGCACA
CTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA
TTAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGATTATTTCTGTCAACAATATAGCAGCT
ATCCTCTCACGTTTCGGTGCTGGGACCAAGTTGGAGCTGAAACGT (配列番号 316)

【 0 3 4 7】

シグナルペプチドを含むAb-21 HCのアミノ酸配列：

【化 2 1 4】

MGWNWIIFFLMAVVTGVNSEVOLQOSGAELVRPGALVKLSCKASGFNIKDY¹Y²MHWV
KORPEQGLEWIGRIDPENGDIIYDPKFQ³GKASITTD⁴TSSNTAYLQLSSLTSED⁵TAVYYCA
YDAGDPAW⁶FETYWGQGT⁷LVTVSS (配列番号 317)

【0 3 4 8】

シグナルペプチドを含むAb-21 HCの核酸配列：

【化 2 1 5】

ATGGGATGGA¹ACTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCA
GAGGTT²CAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTTGTGAGGCCAGGGGCCTTAGTCAA
GTTGTCCTGCAAAGCTTCTGGCTTCAATATTAAAGACTACTATATGCACTGGGTGAA
GCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGAAGGATTGATCCTGAGAATGGTG
ATATTATATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAAGGCCAGTATAACAACAGACACATCC
TCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACGTCTGAGGACACTGCCGTCTAT
TACTGTGCTTACGATGCTGGTGACCCCGCCTGGTTTACTTACTGGGGCCAAGGGACT
CTGGTCACCGTCTCGAGC (配列番号 318)

10

【0 3 4 9】

Ab-21をヒト化して、Ab-22を得た。

Ab-22

20

シグナルペプチドを含むAb-22 LCのアミノ酸配列：

【化 2 1 6】

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRV¹TITCKASQDV²FTAVAW
YQKPGKAPKLLIYWASTRH³IGVPSRFSGSGSGTDFTLT⁴ISS⁵LQPEDFATYYCQ⁶QYSSYP
LTFGGG⁷TKVEIKR (配列番号 319)

【0 3 5 0】

シグナルペプチドを含むAb-22 LCの核酸配列：

【化 2 1 7】

ATGGATATGCGCGTGCCGGCGCAGCTGCTGGGCCTGCTGCTGCTGTGGCTGCGCGG
CGCGCGCTGCGATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCGAGCGTG
GCGATCGCGTGACCATTACCTGCAAAGCGAGCCAGGATGTGTTTACCGCGGTGGCG
TGGTATCAGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAAACTGCTGATTTATTGGGCGAGCAC
CCGCCATACCGGCGTGCCGAGTCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTA
CCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATTTTGC¹GACCTATTATTGCCAGCAGT
ATAGCAGCTATCCGCTGACCTTTGGCGGCGGCACCAAAGTGGAAATTAAACGT (配
列番号 320)

30

【0 3 5 1】

シグナルペプチドを含むAb-22 HCのアミノ酸配列：

【化 2 1 8】

MDWTWSILFLVAAPTGAHSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDY¹Y²MHWV
RQAPGQGLEWIGRIDPENGDIIYDPKFQ³GRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC
AYDAGDPAW⁶FETYWGQGT⁷LVTVSS (配列番号 321)

40

【0 3 5 2】

シグナルペプチドを含むAb-22 HCの核酸配列：

【化 2 1 9】

ATGGATTGGACCTGGAGCATTCTGTTTCTGGTGGCGGGCGCCGACCGGGCGCGCATAG
CGAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTG
AAAGTGAGCTGCAAAGCGAGCGGCTTTAACATTAAAGATTATTATATGCATTGGGT
GCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCCGCATTGATCCGGAAC
GGCGATATTATTTATGATCCGAAATTTACAGGGCCGCGTGACCATGACCACCGATACC
AGCACCAGCACCGCGTATATGGAAGTGCAGCAGCCTGCGCAGCGATGATACCGCGGT
GTATTATTGCGCGTATGATGCGGGCGATCCGGCGTGGTTTACCTATTGGGGCCAGGG
CACCTGGTGACCGTCTCGAGC (配列番号 322)

10

【0 3 5 3】

Ab-22軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列（シグナル配列ナシ）：

【化 2 2 0】

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVF TAVAWYQQKP GKAPKLLIYW
ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YSSYPLTFGG
GTKVEIKR (配列番号 336)

【0 3 5 4】

Ab-22軽鎖可変ドメインのDNA配列（シグナル配列ナシ）：

【化 2 2 1】

20

GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGCGAGCGTGCGGCGATCGCGT
GACCATTACCTGCAAAGCGAGCCAGGATGTGTTTACCGCGGTGGCGTGGTATCAGC
AGAAACCGGGCAAAGCGCCGAACTGCTGATTTATTGGGCGAGCACCCGCCATACC
GGCGTGCCGAGTCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCAT
TAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATTTTTCGACCTATTATTGCCAGCAGTATAGCAGCT
ATCCGCTGACCTTTGGCGGCGGCACCAAAGTGGAATTAACG (配列番号 337)

【0 3 5 5】

Ab-22重鎖可変ドメインのアミノ酸配列（シグナル配列ナシ）：

【化 2 2 2】

30

EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGFNIK DYVMHWVRQA
PGQGLEWIGRIDPENGDIY DPKFQGRVTM TTDSTSTAY MELRSLRSD
TAVYYCAYDAGDPAWFTYWG QGTLVTVSS (配列番号 338)

【0 3 5 6】

Ab-22重鎖可変ドメインのDNA配列（シグナル配列ナシ）：

【化 2 2 3】

40

GAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTGA
AAGTGAGCTGCAAAGCGAGCGGCTTTAACATTAAAGATTATTATATGCATTGGGTG
CGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATCGGCCGCATTGATCCGGAACG
GCGATATTATTTATGATCCGAAATTTACAGGGCCGCGTGACCATGACCACCGATACCA
GCACCAGCACCGCGTATATGGAAGTGCAGCAGCCTGCGCAGCGATGATACCGCGGTG
TATTATTGCGCGTATGATGCGGGCGATCCGGCGTGGTTTACCTATTGGGGCCAGGGC
ACCCTGGTGACCGTCTCGAGC (配列番号 339).

【0 3 5 7】

Ab-18, Ab-20およびAb-22について、軽鎖ヒトκ定常領域は以下の通りである：

【化 2 2 4】

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (配列番号 325)

【0 3 5 8】

および重鎖ヒト γ -4定常領域は以下の通りである：

【化 2 2 5】

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR
WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK* (配列番号 326)

10

【0 3 5 9】

ヒンジー領域はヒンジーの安定性を改善するためのSer-241-Pro 変異を含む(Angal S e
t al, (1993), Mol Immunol, 30(1), 105-108)。

【0 3 6 0】

Ab-24

抗体24(本明細書ではAb-24とも称される)のLCおよびHCの配列は以下の通りである。

20

【0 3 6 1】

軽鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-24 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 2 2 6】

1 DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT IACKASQSVD YDGTSMNHWY QOKPGQPPKL
51 LIYAASNLES EIPARFSGTG SGTDFILNIH PVEEEDITTY YCQQSNEDEP
101 IFGGGKLEI KRADAAPTVS IFPPSSEQLT SGGASVVCFL NNFYPKDINV
151 KWKIDGSEKQ NGVLNSWTDQ DSKDSTYSMS STLTLTKDEY ERHNSYTCEA
201 THKTSTSPIV KSFNRNEC (配列番号 350)

30

【0 3 6 2】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-24 LCをコードしている核酸配列は以下の通りであ
る：

【化 2 2 7】

1 GACATTGTGT TGACCCAGTC TCCAGCTTCT TTGGCTGTGT CTCTAGGGCA
51 GAGGGCCACC ATCGCCTGCA AGGCCAGCCA AAGTGTTGAT TATGATGGTA
101 CTAGTTATAT GAATTGGTAC CAACAGAAAC CAGGACAGCC ACCCAAACCTC
151 CTCATCTATG CTGCATCCAA TCTAGAATCT GAGATCCCAG CCAGGTTTAG
201 TGGCACTGGG TCTGGGACAG ACTTCACCCT CAACATCCAT CCTGTGGAGG
251 AGGAGGATAT CACAACCTAT TACTGTCAGC AAAGTAATGA GGATCCGTTT
301 ACGTTCGGAG GGGGGACCAA GTTGGAAATA AAACGGGCTG ATGCTGCACC
351 AACTGTATCC ATCTTCCCAC CATCCAGTGA GCAGTTAACA TCTGGAGGTG
401 CCTCAGTCGT GTGCTTCTTG AACAACTTCT ACCCCAAAGA CATCAATGTC
451 AAGTGGAAGA TTGATGGCAG TGAACGACAA AATGGCGTCC TGAACAGTTG
501 GACTGATCAG GACAGCAAAG ACAGCACCTA CAGCATGAGC AGCACCTTCA
551 CGTTGACCAA GGACGAGTAT GAACGACATA ACAGCTATAC CTGTGAGGCC
601 ACTCACAAGA CATCAACTTC ACCCATTGTC AAGAGCTTCA ACAGGAATGA
651 GTGTTAG (配列番号 354)

40

【0 3 6 3】

シグナルペプチドを含めたAb-24 LCのアミノ酸配列は以下の通りである：

50

【化 2 2 8】

1 METDTILLWV LLLWVPGSTG DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT IACKASQSVD
 51 YDGTSYMNWY QQKPGQPPKL LIYAASNLES EIPARFSGTG SGTDFTLNIH
 101 PVEEDITTY YCQQSNEDPF TFGGGTKLEI KRADAAPTIVS IFPPSSEQLT
 151 SGGASVVCFL NNFYPKDINV KWKIDGSERQ NGVLNSWTDQ DSKDSTYSMS
 201 STLTLTKDEY ERHNSYTCEA THKTSTSPIV KSFNRNEC (配列番号 355)

【0 3 6 4】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-24 LCの核酸配列は以下の通りである：

【化 2 2 9】

1 ATGGAGACAG ACACAATCCT GCTATGGGTG CTGCTGCTCT GGGTTCAGG
 51 CTCCACTGGT GACATTGTGT TGACCCAGTC TCCAGCTTCT TTGGCTGTGT
 101 CTCTAGGGCA GAGGGCCACC ATCGCCTGCA AGGCCAGCCA AAGTGTTGAT
 151 TATGATGGTA CTAGTTATAT GAATTGGTAC CAACAGAAAC CAGGACAGCC
 201 ACCCAAACCTC CTCATCTATG CTGCATCCAA TCTAGAATCT GAGATCCCAG
 251 CCAGGTTTAG TGGCACTGGG TCTGGGACAG ACTTCACCCT CAACATCCAT
 301 CCTGTGGAGG AGGAGGATAT CACAACCTAT TACTGTCAGC AAAGTAATGA
 351 GGATCCGTTT ACGTTCGGAG GGGGGACCAA GTTGGAATA AAACGGGCTG
 401 ATGCTGCACC AACTGTATCC ATCTTCCCAC CATCCAGTGA GCAGTTAACA
 451 TCTGGAGGTG CCTCAGTCGT GTGCTTCTTG AACAACTTCT ACCCAAAGA
 501 CATCAATGTC AAGTGGAAGA TTGATGGCAG TGAACGACAA AATGGCGTCC
 551 TGAACAGTTG GACTGATCAG GACAGCAAAG ACAGCACCTA CAGCATGAGC
 601 AGCACCTCA CGTTGACCAA GGACGAGTAT GAACGACATA ACAGCTATAC
 651 CTGTGAGGCC ACTCACAAGA CATCAACTTC ACCCATTGTC AAGAGCTTCA
 701 ACAGGAATGA GTGTTAG (配列番号 356)

【0 3 6 5】

Ab-24 重鎖：

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-24 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

【化 2 3 0】

1 QVQLQQPGTE LVRPGTSVKL SCKASGYIFT **TYWMN**WVKQR PGQGLEWIGM
 51 **I**HPSASEIRL **DQKFKDK**ATL TLDKSSSTAY MHL SGPTSVD SAVYYCARSG
 101 **EWGSMDYWGQ** GTSVTVSS**AK** **TTPPSVYPLA** **PGSAAQ**TNSM **VTLGCLVKGY**
 151 **FPEPVTVTWN** **SGSLSSGVHT** **FPAVLQSDLY** **TLSSSVTVPS** **STWPSETVTC**
 201 **NVAHPASSTK** **VDKKIVPRDC** **GCKPCICTVP** **EVSSVFIFPP** **KPKDVLITL**
 251 **TPKVT**CVVD **ISKDDPEVQF** **SWFVDDVEVH** **TAQTQPREEQ** **FNSTFRSVSE**
 301 **LPIMHQDWLN** **GKEFKCRVNS** **AAFPAPIEKT** **ISKTKGRPKA** **PQVYTIPPPK**
 351 **EQMAKDKVSL** **TCMITDFFPE** **DITVEWQWNG** **QPAENYKNTQ** **PIMDTDGSYF**
 401 **IYSKLVQKS** **NWEAGNTFTC** **SVLHEGLHNH** **HTEKSLSHSP** **GK** (配列番号 357)

【0 3 6 6】

成熟型(シグナルペプチド除去)のAb-24 HCをコードしている核酸配列は以下の通りである：

10

20

30

40

【化 2 3 1】

1 CAGGTCCAAC TACAGCAGCC TGGGACTGAG CTGGTGAGGC CTGGAACTTC
 51 AGTGAAGTTG TCCTGTAAGG CTTCTGGCTA CATCTTCACC ACCTACTGGA
 101 TGAAGTGGGT GAAACAGAGG CCTGGACAAG GCCTTGAGTG GATTGGCATG
 151 ATTCATCCTT CCGCAAGTGA AATTAGGTTG GATCAGAAAT TCAAGGACAA
 201 GGCCACATTG ACTCTTGACA AATCCTCCAG CACAGCCTAT ATGCACCTCA
 251 GCGGCCCGAC ATCTGTGGAT TCTGCGGTCT ATTACTGTGC AAGATCAGGG
 301 GAATGGGGGT CTATGGACTA CTGGGGTCAA GGAACCTCAG TCACCGTCTC
 351 CTCAGCCAAA ACGACACCCC CATCTGTCTA TCCACTGGCC CCTGGATCTG
 401 CTGCCCAAAC TAACTCCATG GTGACCCTGG GATGCCTGGT CAAGGGCTAT
 451 TTCCCTGAGC CAGTGACAGT GACCTGGAAC TCTGGATCCC TGTCCAGCGG
 501 TGTGCACACC TTCCAGCTG TCCTGCAGTC TGACCTCTAC ACTCTGAGCA
 551 GCTCAGTGAC TGTCCCCTCC AGCACCTGGC CCAGCGAGAC CGTCACCTGC
 601 AACGTTGCC ACCCGGCCAG CAGCACCAAG GTGGACAAGA AAATTGTGCC
 651 CAGGGATTGT GGTGTGAAGC CTTGCATATG TACAGTCCCA GAAGTATCAT
 701 CTGTCTTCAT CTTCCCCCA AAGCCCAAGG ATGTGCTCAC CATTACTCTG
 751 ACTCCTAAGG TCACGTGTGT TGTGGTAGAC ATCAGCAAGG ATGATCCCGA
 801 GGTCCAGTTC AGCTGGTTTG TAGATGATGT GGAGGTGCAC ACAGCTCAGA
 851 CGCAACCCCG GGAGGAGCAG TTCAACAGCA CTTCCGCTC AGTCAGTGAA
 901 CTTCCCATCA TGCACCAGGA CTGGCTCAAT GGCAAGGAGT TCAAATGCAG
 951 GGTCAACAGT GCAGCTTCC CTGCCCCCAT CGAGAAAACC ATCTCCAAAA
 1001 CCAAAGGCAG ACCGAAGGCT CCACAGGTGT ACACCATTCC ACCTCCCAAG
 1051 GAGCAGATGG CCAAGGATAA AGTCAGTCTG ACCTGCATGA TAACAGACTT
 1101 CTTCCCTGAA GACATTACTG TGGAGTGGCA GTGGAATGGG CAGCCAGCGG
 1151 AGAACTACAA GAACACTCAG CCCATCATGG ACACAGATGG CTCTTACTTC
 1201 ATCTACAGCA AGCTCAATGT GCAGAAGAGC AACTGGGAGG CAGGAAATAC
 1251 TTTACCTGC TCTGTGTTAC ATGAGGGCCT GCACAACCAC CATACTGAGA
 1301 AGAGCCTCTC CCACTCTCCT GGTAAATGA (配列番号 361)

10

20

【 0 3 6 7】

シグナルペプチドを含めたAb-24 HCのアミノ酸配列は以下の通りである：

30

【化 2 3 2】

1 MGWSSILFL VATATGVHSQ VQLQQPGTEL VRPGTSVKLS CKASGYIFTT
 51 YWMNWVKQRP GQGLEWIGMI HPSASEIRLD QKFKDKATLT LDKSSSTAYM
 101 HLSGPTSVDS AVYYCARSGE WGSMDYWGQG TSVTVSSAKT TPPSVYPLAP
 151 GSAAQTNSMV TLGCLVKGYF PEPVTVTWNS GSLSSGVHTF PAVLQSDLYT
 201 LSSSVTVPS TWPSETVTN VAHPASSTKV DKKIVPRDCG CKPCICTVPE
 251 VSSVFIFPPK PKDVLITLT PKVTCVVVDI SKDDPEVQFS WFVDDVEVHT
 301 AQTQPREEQF NSTFRSVSEL PIMHQDWLNG KEFKCRVNSA AFPAPIEKTI
 351 SKTKGRPKAP QVYTIPPPKE QMAKDKVSLT CMITDFFPED ITVEWQWNGQ
 401 PAENYKNTQP IMDTDGSYFI YSKLNVQKSN WEAGNTFTCS VLHEGLHNHH
 451 TEKSLSHSPG K (配列番号 362)

40

【 0 3 6 8】

シグナルペプチドコード配列を含めたAb-24 HCの核酸配列は以下の通りである：

【化 2 3 3】

1 ATGGGATGGA GCTCTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGTGT
 51 CCACTCCCAG GTCCAACACTAGCAGCCTGG GACTGAGCTG GTGAGGCCTG
 101 GAACTTCAGT GAAGTTGTCC TGTAAGGCTT CTGGCTACAT CTTACCACC
 151 TACTGGATGA ACTGGGTGAA ACAGAGGCCT GGACAAGGCC TTGAGTGGAT
 201 TGGCATGATT CATCCTTCCG CAAGTGAAAT TAGGTTGGAT CAGAAATTCA
 251 AGGACAAGGC CACATTGACT CTTGACAAAT CCTCCAGCAC AGCCTATATG
 301 CACCTCAGCG GCCCGACATC TGTGGATTCT GCGGTCTATT ACTGTGCAAG
 351 ATCAGGGGAA TGGGGGTCTA TGGACTACTG GGGTCAAGGA ACCTCAGTCA
 401 CCGTCTCCTC AGCCAAAACG ACACCCCAT CTGTCTATCC ACTGGCCCCT
 451 GGATCTGCTG CCCAACTAA CTCCATGGTG ACCCTGGGAT GCCTGGTCAA
 501 GGGCTATTTT CCTGAGCCAG TGACAGTGAC CTGGAAGTCT GGATCCCTGT
 551 CCAGCGGTGT GCACACCTTC CCAGCTGTCC TGCAGTCTGA CCTCTACACT
 601 CTGAGCAGCT CAGTGACTGT CCCCTCCAGC ACCTGGCCCA GCGAGACCGT
 651 CACCTGCAAC GTTGCCCACC CGGCCAGCAG CACCAAGGTG GACAAGAAAA
 701 TTGTGCCCAG GGATTGTGGT TGTAAGCCTT GCATATGTAC AGTCCCAGAA
 751 GTATCATCTG TCTTCATCTT CCCCCAAAG CCCAAGGATG TGCTCACCAT
 801 TACTCTGACT CTAAGGTCA CGTGTGTTGT GGTAGACATC AGCAAGGATG
 851 ATCCCGAGGT CCAGTTCAGC TGGTTTGTAG ATGATGTGGA GGTGCACACA
 901 GCTCAGACGC AACCCCGGGA GGAGCAGTTC AACAGCACTT TCCGCTCAGT
 951 CAGTGAAGT CCAATCATGC ACCAGGACTG GCTCAATGGC AAGGAGTTCA
 1001 AATGCAGGGT CAACAGTGCA GCTTTCCTTG CCCCCATCGA GAAAACCATC
 1051 TCCAAAACCA AAGGCAGACC GAAGGCTCCA CAGGTGTACA CCATTCCACC
 1101 TCCCAAGGAG CAGATGGCCA AGGATAAAGT CAGTCTGACC TGCATGATAA
 1151 CAGACTTCTT CCCTGAAGAC ATTACTGTGG AGTGGCAGTG GAATGGGCAG
 1201 CCAGCGGAGA ACTACAAGAA CACTCAGCCC ATCATGGACA CAGATGGCTC
 1251 TTAATTCATC TACAGCAAGC TCAATGTGCA GAAGAGCAAC TGGGAGGCAG
 1301 GAAATACTTT CACCTGCTCT GTGTTACATG AGGGCCTGCA CAACCACCAT
 1351 ACTGAGAAGA GCCTCTCCCA CTCTCCTGGT AAATGA (配列番号 363)

10

20

【 0 3 6 9】

30

Ab-24の軽鎖の可変領域にあるCDR配列は以下の通りである：

CDR-L1: KASQSVDDYDGTSMN (配列番号351)

CDR-L2: AASNLES (配列番号352)

CDR-L3: QQSNEPFT (配列番号353)

【 0 3 7 0】

Ab-24の重鎖の可変領域にあるCDR配列は以下の通りである：

CDR-H1: TYWMN (配列番号358)

CDR-H2: MIHPSASEIRLDQKFKD (配列番号359)

CDR-H3: SGEWGSMDY (配列番号360)

【 0 3 7 1】

40

以下のTable 1に、配列番号とAb-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23およびAb-24のアミノ酸配列を示す。カバット付番方式(Kabat et al., 1987 in Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services, NIH, USA)にしたがい、L1、L2およびL3は軽鎖CDR 1、2、および 3を示し、H1、H2およびH3は重鎖CDR 1、2、および 3を示す。

【表 1】

Table 1		
SEQ ID NO	内容	アミノ酸配列
54	Ab-AおよびAb-1 CDR-L1	QSSQSVYDNNWLA
55	Ab-AおよびAb-1 CDR-L2	DASDLAS
56	Ab-AおよびAb-1 CDR-L3	QGAYNDVIYA
51	Ab-AおよびAb-1 CDR-H1	SYWMN
52	Ab-AおよびAb-1 CDR-H2	TIDSGGRTDYASWAKG
53	Ab-AおよびAb-1 CDR-H3	NWNL
60	Ab-B CDR-L1	SASSSVSFVD
61	Ab-B CDR-L2	RTSNLGF
62	Ab-B CDR-L3	QQRSTYPPT
57	Ab-B CDR-H1	TSGMGVG
58	Ab-B CDR-H2	HIWWDDVKRYNPVLKS
59	Ab-B CDR-H3	EDFDYDEEYYAMDY
48	Ab-C CDR-L1	KASQSVDYDGDSYMN
49	Ab-C CDR-L2	AASNLES
50	Ab-C CDR-L3	QQSNEDPWT
45	Ab-C CDR-H1	DCYMN
46	Ab-C CDR-H2	DINPENGTTYNQKFKG
47	Ab-C CDR-H3	SHYYFDGRVPWDAMDY
42	Ab-D CDR-L1	QASQGTSINLN
43	Ab-D CDR-L2	GSSNLED
44	Ab-D CDR-L3	LQHSYLPYT
39	Ab-D CDR-H1	DHYMS
40	Ab-D CDR-H2	DINPYSGETTYNQKFKG
41	Ab-D CDR-H3	DDYDASPFAY
275	Ab-2 CDR-L1	RASSSVYYMH
276	Ab-2 CDR-L2	ATSNLAS
277	Ab-2 CDR-L3	QQWSSDPLT
287	Ab-2 CDR-H1	DYFIH
288	Ab-2 CDR-H2	RLDPEDGESDYAPKFQD
289	Ab-2 CDR-H3	EDYDGTYTFFPY
278	Ab-3およびAb-15 CDR-L1	SVSSTISSNHLH
279	Ab-3およびAb-15 CDR-L2	GTSNLAS
280	Ab-3およびAb-15 CDR-L3	QQWSSYPLT
290	Ab-3およびAb-15 CDR-H1	DFYLH
291	Ab-3およびAb-15 CDR-H2	RIDPENGDTLYDPKFQD
292	Ab-3およびAb-15 CDR-H3	EADYFHDGTSYWFYFDV
78	Ab-4およびAb-5 CDR-L1	RASQDISNYLN
79	Ab-4およびAb-5 CDR-L2	YTSRLLS
80	Ab-4およびAb-5 CDR-L3	QQGDTLPYT
245	Ab-4およびAb-5 CDR-H1	DYNMH
246	Ab-4およびAb-5 CDR-H2	EINPNSGGAGYNQKFKG
247	Ab-4およびAb-5 CDR-H3	LGYDDIYDDWYFDV
81	Ab-6 CDR-L1	RASQDISNYLN
99	Ab-6 CDR-L2	YTSRLHS
100	Ab-6 CDR-L3	QQGDTLPYT
248	Ab-6 CDR-H1	DYNMH
249	Ab-6 CDR-H2	EINPNSGGSGYNQKFKG
250	Ab-6 CDR-H3	LVYDGSYEDWYFDV

Table 1		
SEQ ID NO	内容	アミノ酸配列
101	Ab-7 CDR-L1	RASQVITNYLY
102	Ab-7 CDR-L2	YTSRLHS
103	Ab-7 CDR-L3	QQGDTLPYT
251	Ab-7 CDR-H1	DYNMH
252	Ab-7 CDR-H2	EINPNSGGAGYNQQFKG
253	Ab-7 CDR-H3	LGYVGNYEDWYFDV
104	Ab-8 CDR-L1	RASQDISNYLN
105	Ab-8 CDR-L2	YTSRLLS
106	Ab-8 CDR-L3	QQGDTLPYT
254	Ab-8 CDR-H1	DYNMH
255	Ab-8 CDR-H2	EINPNSGGAGYNQKFKG
256	Ab-8 CDR-H3	LGYDDIYDDWYFDV
107	Ab-9 CDR-L1	RASQDISNYLN
108	Ab-9 CDR-L2	YTSRLFS
109	Ab-9 CDR-L3	QQGDTLPYT
257	Ab-9 CDR-H1	DYNMH
258	Ab-9 CDR-H2	EINPNSGGAGYNQKFKG
259	Ab-9 CDR-H3	LGYDDIYDDWYFDV
110	Ab-10 CDR-L1	RASQDISNYLN
111	Ab-10 CDR-L2	YTSRLLS
112	Ab-10 CDR-L3	QQGDTLPYT
260	Ab-10 CDR-H1	DYNMH
261	Ab-10 CDR-H2	EINPNSGGAGYNQKFKG
262	Ab-10 CDR-H3	LGYDDIYDDWYFDV
281	Ab-11およびAb-16 CDR-L1	RASSSISYIH
282	Ab-11およびAb-16 CDR-L2	ATSNLAS
283	Ab-11およびAb-16 CDR-L3	QQWSSDPLT
293	Ab-11およびAb-16 CDR-H1	DYYIH
294	Ab-11およびAb-16 CDR-H2	RVDPDNGETEFAPKFPG
295	Ab-11およびAb-16 CDR-H3	EDYDGTYTTFPY
113	Ab-12 CDR-L1	RASQDISNYLN
114	Ab-12 CDR-L2	YTSTLQS
115	Ab-12 CDR-L3	QQGDTLPYT
263	Ab-12 CDR-H1	DYNMH
264	Ab-12 CDR-H2	EINPNSGGSGYNQKFKG
265	Ab-12 CDR-H3	LGYYGNYEDWYFDV
284	Ab-13およびAb-14 CDR-L1	RASSSVTSSYLN
285	Ab-13およびAb-14 CDR-L2	STSNLAS
286	Ab-13およびAb-14 CDR-L3	QQYDEFPST
296	Ab-13およびAb-14 CDR-H1	DYYMN
297	Ab-13およびAb-14 CDR-H2	DINPYNDDTTYNHKFKG
298	Ab-13およびAb-14 CDR-H3	ETAVITTNAMD
116	Ab-17およびAb-18 CDR-L1	SVSSSISSSNLH
237	Ab-17およびAb-18 CDR-L2	GTSNLAS
238	Ab-17およびAb-18 CDR-L3	QQWTTTYT
266	Ab-17およびAb-18 CDR-H1	DYYIH
267	Ab-17およびAb-18 CDR-H2	RIDPDNGESTYVPKFQG
268	Ab-17およびAb-18 CDR-H3	EGLDYGDYYAVDY

Table 1		
SEQ ID NO	内容	アミノ酸配列
239	Ab-19, Ab-20およびAb-23 CDR-L1	RASQDISSYLN
240	Ab-19, Ab-20およびAb-23 CDR-L2	STSRLLNS
241	Ab-19, Ab-20およびAb-23 CDR-L3	QQDIKHPT
269	Ab-19, Ab-20およびAb-23 CDR-H1	DYIMH
270	Ab-19, Ab-20およびAb-23 CDR-H2	YINPYNDDTEYNEKFKG
271	Ab-19, Ab-20およびAb-23 CDR-H3	SIYYDAPFAY
242	Ab-21およびAb-22 CDR-L1	KASQDVFTAVA
243	Ab-21およびAb-22 CDR-L2	WASTRHT
244	Ab-21およびAb-22 CDR-L3	QQYSSYPLT
272	Ab-21およびAb-22 CDR-H1	DYYMH
273	Ab-21およびAb-22 CDR-H2	RIDPENGDIIYDPKFQG
274	Ab-21およびAb-22 CDR-H3	DAGDPAWFTY
351	Ab-24 CDR-L1	KASQSVDDYDGTSMN
352	Ab-24 CDR-L2	AASNLES
353	Ab-24 CDR-L3	QQSNEDPFT
358	Ab-24 CDR-H1	TYWMN
359	Ab-24 CDR-H2	MIHPSASEIRLDQKFKD
360	Ab-24 CDR-H3	SGEWGSMDY

10

20

【0374】

オリゴペプチドまたはポリペプチドは、上記の表1のCDRのうちの少なくとも1つ;および/または抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つがスクレロスチンに結合することを交差阻止し、かつ/または抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つによりスクレロスチンに結合することが交差阻止されるスクレロスチン結合作用物質のCDR;および/または細胞に基づく石灰化アッセイでスクレロスチンの抑制作用を遮断することができるスクレロスチン結合作用物質(すなわち、スクレロスチン中和結合作用物質)のCDR;および/またはループ2にエピトープに結合するスクレロスチン結合作用物質のCDR;および/またはT20.6エピトープに結合するスクレロスチン結合作用物質のCDR;および/または「T20.6誘導体(シスチンノット+アーム4本)」エピトープに結合するスクレロスチン結合作用物質のCDRと少なくとも75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列を有する場合は本発明の範囲内にある。

30

【0375】

スクレロスチン結合作用物質ポリペプチドおよび抗体は、抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つの可変領域と少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列を有し、抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つがスクレロスチンに結合することを交差阻止し、かつ/または抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つに

40

50

よりスクレロスチンに結合することが交差阻止され;かつ/または細胞に基づく石灰化アッセイでスクレロスチンの抑制作用を遮断することができ(すなわち、スクレロスチン中和結合作用物質);かつ/またはループ2エピトープに結合し;かつ/またはT20.6エピトープに結合し;かつ/または「T20.6誘導体(シスチンノット+アーム4本)」エピトープに結合する場合は本発明の範囲内にある。

【0376】

スクレロスチン結合作用物質をコードしているポリヌクレオチドは、抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つの可変領域をコードしているポリヌクレオチドと少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリヌクレオチド配列を有し、およびコードされるこのスクレロスチン結合作用物質は、抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つがスクレロスチンに結合することを交差阻止し、かつ/または抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、Ab-1、Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6、Ab-7、Ab-8、Ab-9、Ab-10、Ab-11、Ab-12、Ab-13、Ab-14、Ab-15、Ab-16、Ab-17、Ab-18、Ab-19、Ab-20、Ab-21、Ab-22、Ab-23、およびAb-24のうちの少なくとも1つによりスクレロスチンに結合することが交差阻止され;かつ/または細胞に基づく石灰化アッセイでスクレロスチンの抑制作用を遮断することができ(すなわち、スクレロスチン中和結合作用物質);かつ/またはループ2エピトープに結合し;かつ/またはT20.6エピトープに結合し;かつ/または「T20.6誘導体(シスチンノット+アーム4本)」エピトープに結合する場合は本発明の範囲内にある。

【0377】

本発明による抗体は、ヒトスクレロスチンに対して $1 \times 10^{-7} \text{M}$ 以下、 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 以下、 $1 \times 10^{-9} \text{M}$ 以下、 $1 \times 10^{-10} \text{M}$ 以下、 $1 \times 10^{-11} \text{M}$ 以下、または $1 \times 10^{-12} \text{M}$ 以下の結合親和性を有してよい。

【0378】

抗体または結合パートナーなどの結合作用物質の親和性、ならびに結合作用物質(抗体など)が結合を阻害する程度は、従来の技術、例えば、Scatchardら(Ann. N.Y. Acad. Sci. 51:660~672頁(1949))によって記載されているものを使用して、または表面プラズモン共鳴(SPR;BIAcore、Biosensor、Piscataway社、ニュージャージー州)により当業者によって決定することができる。表面プラズモン共鳴については、標的分子が固相に固定化され、フローセルに流れる移動相中でリガンドに曝露される。固定化された標的に対するリガンド結合が起こると、局所屈折率が変化し、したがってSPR角度の変化がもたらされ、この変化は、反射した光の強度の変化を検出することによりリアルタイムでモニタリングすることができる。SPRシグナルの変化速度を分析して、結合反応の会合および解離段階についての見かけの速度定数を得ることができる。こうした値の比から見かけの平衡定数(親和性)が得られる(例えば、Wolffら、Cancer Res. 53:2560~65頁(1993)を参照されたい)。

【0379】

本発明による抗体は、任意の免疫グロブリンクラス、例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、またはIgAに属するものであってよい。この抗体は、動物、例えば、家禽(例えば、ニワトリ)および哺乳動物から得られるかまたはそれに由来するものであってよく、これには、それだけには限定されないが、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、もしくは他のげっ歯類、ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ラクダ、ヒト、または他の霊長類が含まれる。この抗体は、インターナライズ抗体であってよい。抗体の作製は概して米国特許出願公開第2004/0146888A1号で開示されている。

【0380】

(特性決定アッセイ)

10

20

30

40

50

特異的なAb-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、および抗体1～24(Ab-1からAb-24)のCDRを、新規のフレームワークおよび/または定常領域中へと操作することを含めた、本発明に従って抗体を生成する上述の方法では、所望の抗体または結合作用物質を選択するのに、適切なアッセイが利用可能である(すなわち、スクレロスチンへの結合親和性を測定するアッセイ; 交差阻止アッセイ;Biacoreに基づく「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ」;MC3T3-E1細胞に基づくアッセイ;in vivoアッセイ)。

【0381】

(エピトープ結合アッセイ)

成熟型ヒトスクレロスチンは、シスチンノット構造を有する190アミノ酸糖タンパク質である(図8および9)。このタンパク質は、シスチンノット構造に加えて、ループ1、ループ2、およびループ3と命名された3本のループを有することを特徴としている。断片を産生するために、ヒトスクレロスチンにタンパク質分解消化を施した。簡潔には、トリプシン、aspN、およびlysCを含めた様々なプロテアーゼを用いて、様々な切断部位およびサイズの断片を生成させた。様々なヒトスクレロスチンペプチドの配列および質量を測定した。タンパク質分解のための到達性に対する影響を決定するために、切断部位マスキング(clipped site masking)およびペプチドシフト法(peptide shifting)を含めた抗体防御を評価した。最後に、BIAcoreに基づく「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合アッセイ」を行った。

【0382】

スクレロスチンをトリプシン切断に曝露することによって、図13に概要が示されている、ペプチド断片のパターンがもたらされた。これらの断片はT19.2、T20、T20.6、およびT21-22と呼ばれる。図19Bに模式的に示されているように、T20.6エピトープは、シスチンノット領域の3本のジスルフィド結合によって連結された4種の別々のペプチド配列の複合体である。これらのペプチドのうち2種が2本のジスルフィド結合によって連結されている。他の2種のペプチドが最初の2種のポリペプチドを模式的に二分する1本のジスルフィド結合によって連結されている。

【0383】

トリプシン消化によって生成されるT20.6エピトープは、天然ポリペプチドのシスチンノット構造を保持し、Ab-CおよびAb-D抗体によって認識される。エピトープT20.6の誘導体は、シスチンノット領域と、配列番号1を基準とした配列位置におけるアミノ酸58～64位、73～81位、112～117位、および138～141位とからなる。この誘導体エピトープを図21に示す。シスチンノットの領域を含むエピトープは、T20.6エピトープ(図19B)中に存在しているが上記T20.6誘導体エピトープ(図21)中に存在しない1つまたは複数のアミノ酸を有してもよい。

【0384】

別のエピトープ含有領域は、ヒトスクレロスチンのループ2領域と同定され(図19A)抗体Ab-AおよびAb-Bによって認識される。ループ2エピトープは、配列番号1のアミノ酸86～111位(C4GPARLLPNAIGRGKWWRPSPDFRC5、配列番号6)を含む。ループ2含有構造は、立体的には、配列番号1の完全長スクレロスチンを基準にして、一端が86位(C4)のシステインと144位(C8)のシステインとの間におけるジスルフィド結合によって、もう一端が111位(C5)のシステインと57位(C1)のシステインとの間のジスルフィド結合によって定義されている。

【0385】

ヒトスクレロスチンのaspN切断によって生成されたペプチドを図12に示す。図中、これらのペプチドは、AspN14.6、AspN18.6、およびAspN22.7-23.5と命名されており、また、本明細書ではそれぞれN14.6、N18.6、およびN22.7-23.5とも呼ばれる。

【0386】

1群の抗体は、Biacoreに基づく「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ」によって証明される特定のエピトープへの、特定パターンの結合を示す。簡潔には、上記抗体を、抗体表面のエピトープ結合部位を飽和させる濃度の、試験されるエピトープと共にプレインキュベートする。その後、この抗体を、チップ表面に結合したスクレロ

10

20

30

40

50

スチンに曝露する。適切なインキュベーション手順および洗浄手順の後に、競合的結合のパターンを確定する。図18に示す通り、例示的抗体であるAb-Dは、チップ表面に付着したスクレロスチン分子に結合した。抗体Ab-Dをスクレロスチンと共にプレインキュベーションすることによって、チップ上のスクレロスチンへの抗体の結合がほぼゼロにまで減少した。エピトープT19.2からなるペプチドとのプレインキュベーションは、T19.2が抗体結合に関してスクレロスチンと競合しなかったことを示した。しかし、T20、T20.6、T21-22、またはN22.7-23.5と命名されたエピトープのうちのいずれか1つとのプレインキュベーションによって、チップ上のスクレロスチンへの抗体結合の大部分が失われた。対照的に、T19.2、N14.6またはN18.6と命名されたエピトープのうちのいずれか1つとのプレインキュベーションによって、上記抗体がスクレロスチンに結合する能力は失われなかった。この結合プロフィール(図17)を有する第2の例示的抗体がAb-Cである。

10

【0387】

したがって、抗体Ab-Dは、スクレロスチンに結合する抗体を阻止する能力によって測定した際、エピトープT20、T20.6、T21-22、およびN22.7-23.5に結合するが、エピトープT19.2、N14.6、およびN18.6への検出可能な結合が最小限である抗体の一群の典型および代表である。この独特の結合パターンを有する抗体は、抗体分子の1つまたは複数の領域でアミノ酸配列を共有している可能性もあれば、そうでない可能性もある。抗体の類似性は、上述のエピトープのそれぞれと共にプレインキュベーションした後における、スクレロスチンに結合する能力などによって、機能的に測定する。本発明は、抗体Ab-Dの結合パターンに類似または同一の結合パターンを示す抗体を包含する。「類似」とは、例えば、上記抗体は、ポリペプチドT20、T20.6、T21-22、およびN22.7-23.5のそれぞれへの結合を示し、それによって、この結合は、そうでなければスクレロスチンまたはスクレロスチンペプチドとのプレインキュベーションの非存在下で起こるであろう、スクレロスチンへの上記抗体の結合の少なくとも50%を競合によって特異的に排除するであろうことを意味する。また、上記抗体は、ポリペプチドT19.2、N14.6、およびN18.6に、検出可能な結合をほとんど示さないか、全く示さないであろう、その結果、スクレロスチンまたはスクレロスチンペプチドとのプレインキュベーションの非存在下で起こるであろう結合の減少が30%以下となる。

20

【0388】

例えば、特定の機構に拘泥するものではないが、図18の抗体結合パターンは、抗体Ab-D、およびAb-Dのエピトープ結合パターンを有する他の抗体が結合するエピトープ空間が、スクレロスチンのシスチンノット領域を含むポリペプチドからなることを示している。

30

【0389】

したがって、本明細書において、そして図19Bを参照して開示される通り、例示的T20.6エピトープは、3本の別々のジスルフィド結合を通して結合した4本のペプチド鎖を含む。ペプチド鎖SAKPVTELVC3SGQC4GPAR(配列番号3)は、ペプチド鎖LVASC7KC8KRLTR(配列番号5)に、C3からC7、およびC4からC8のジスルフィド結合によって結合している。ペプチド鎖DVSEYSC1RELHFTR(配列番号2)は、ペプチド鎖WWRPSGPDFRC5IPDRYR(配列番号4)に、C1からC5のジスルフィド結合によって結合している。図19Bに図示する通り、配列番号3および5のポリペプチドは、立体的接触を介して配列番号2および4のポリペプチドとの会合を維持しており、C1-C5結合がC4-C8結合およびC3-C7結合の平面を横切り、それらの間に位置している。

40

【0390】

本明細書において、そして図21を参照して開示される通り、T20.6の例示的誘導体エピトープは、3本の別々のジスルフィド結合を通して結合した4本のペプチド鎖を含む。ペプチド鎖SAKPVTELVC3SGQC4(配列番号70)は、ペプチド鎖LVASC7KC8(配列番号71)に、C3からC7およびC4からC8のジスルフィド結合によって結合している。ペプチド鎖C1RELHFTR(配列番号72)は、ペプチド鎖C5IPDRYR(配列番号73)に、C1からC5のジスルフィド結合によって結合している。図21に図示する通り、配列番号70および71のポリペプチドは、立体的接触を介して配列番号72および73のポリペプチドとの会合を維持しており、C1-C5結合がC4-C8

50

結合およびC3-C7結合の平面を横切り、それらの間に位置している。

【0391】

抗体Ab-Aは、ヒトスクレロスチンペプチドへの、抗体Ab-CおよびAb-Dに関して得られたものとは異なる独特の結合パターンを有する抗体の第2の群の典型および代表である。Ab-A、およびそれが代表する抗体の群は、スクレロスチンへの抗体結合を遮断する能力によって測定した際、N22.7-23.5エピトープに結合し、エピトープT19.2、T20、T20.6、T21-22、N14.6、またはN18.6への検出可能な結合が最小限である(図15)。この結合プロフィール(図16)を有する第2の例示的抗体がAb-Bである。この独特の結合パターンを有する抗体は、抗体分子の1つまたは複数の領域でアミノ酸配列を共有している可能性もあれば、そうでない可能性もある。抗体の類似性は、上述のエピトープのそれぞれと共にブレインキュベーションした後における、スクレロスチンに結合する能力などによって、機能的に測定する。本発明は、抗体Ab-Aの結合パターンに類似または同一の結合パターンを示す抗体を包含する。「類似」によって、例えば、上記抗体は、ポリペプチドN22.7-23.5への結合を示し、それによって、この結合は、そうでなければスクレロスチンまたはスクレロスチンペプチドとのブレインキュベーションの非存在下で起こるであろう、スクレロスチンへの上記抗体の結合の少なくとも50%を競合によって特異的に排除するであろう。また、上記抗体は、ポリペプチドT19.2、T20、T20.6、T21-22、N14.6、およびN18.6に、検出可能な結合をほとんど示さないか、全く示さないであろう、その結果、スクレロスチンまたはスクレロスチンペプチドとのブレインキュベーションの非存在下で起こるであろう結合の減少が30%以下となる。

【0392】

例えば、特定の機構に拘泥するものではないが、図15の抗体結合パターンは、抗体Ab-A、およびAb-Aのエピトープ結合パターンを有する他の抗体が結合するエピトープ空間が、スクレロスチンのループ2領域を含むポリペプチドからなることを示している。したがって、本明細書において、そして図19Aを参照して開示される通り、ループ2領域は、線形ペプチドとして記述できるが、それは、それが天然スクレロスチン、または天然のジスルフィド結合構造が維持されている、スクレロスチンのシスチンノット含有部分中に存在する場合には三次構造をとる。ループ2エピトープの線形または三次構造は、実施例で論じる通り、それへの抗体結合に影響を与え得る。ループ2領域は、以下のアミノ酸配列、すなわちC4GPARLLPNAIGRGKWWRPSGPDFRC5(配列番号6)を含み得る。「C4」は、配列番号1を基準にして、位置86に位置するシステイン残基を示す。「C5」は、配列番号1を基準にして、位置111に位置するシステイン残基を示す。天然スクレロスチンタンパク質中では、C4は位置144(C8)のシステインにジスルフィド結合によって連結し、C5は位置57(C1)のシステインにジスルフィド結合によって連結している。ループ2領域に由来するエピトープにはC4GPARLLPNAIGRGKWWRPS(配列番号63); GPARLLPNAIGRGKWWRPSG(配列番号64); PARLLPNAIGRGKWWRPSGP(配列番号65); ARLLPNAIGRGKWWRPSGPD(配列番号66); RLLPNAIGRGKWWRPSGPDF(配列番号67); LLPNAIGRGKWWRPSGPDFR(配列番号68);およびLPNAIGRGKWWRPSGPDFRC(配列番号69)が含まれる。

【0393】

(交差阻止アッセイ)

「交差阻止する」、「交差阻止した」、および「交差阻止」という用語は、本明細書では同義的に使用され、それによって、抗体または他の結合作用物質が、他の抗体または結合作用物質の、スクレロスチンへの結合を妨害することを意味する。

【0394】

抗体または他の結合作用物質が、別のものの、スクレロスチンへの結合を妨害できる程度、そして、したがってそれが、本発明に従って交差阻止すると言えるかどうかは、競合結合アッセイを用いて決定することができる。1つの特に適した定量的アッセイは、表面プラズモン共鳴技術を用いて相互作用の程度を測定できるBiacore器械を用いるものである。別の適した定量的交差阻止アッセイは、ELISAに基づくアプローチを用いて、抗体または他の結合作用物質相互の、スクレロスチンへのそれらの結合に関する競合を測定する

。

【0395】

(BIACORE交差阻止アッセイ)

概ね、以下は、抗体または他の結合作用物質が交差阻止するかどうか、あるいは本発明に従った交差阻止が可能であるかどうかを決定するのに適したBiacoreアッセイについて説明する。便宜のために2種の抗体について言及するが、本明細書に記載のスクレロスチン結合作用物質のいずれのものをを用いたアッセイも使用できることが理解されよう。Biacore器械(例えば、Biacore3000)は製造会社の推奨に従って操作する。

【0396】

したがって、ある交差阻止アッセイでは、標準的なアミンカップリング化学を用いて、スクレロスチンをCM5 Biacoreチップに結合させ、スクレロスチンコーティングされた表面を作製する。通常、200~800共鳴単位のスクレロスチンがチップと結合されるであろう(容易に測定可能なレベルの結合を与えるが、使用される試験試薬の濃度によって容易に飽和できる量)。

【0397】

相互に交差阻止するそれらの能力を評価すべき2種の抗体(A*およびB*と呼ばれる)を、試験混合物を生成するのに適した緩衝剤中で、結合部位のモル比が1対1となるように混合する。結合部位ベースで濃度を計算する場合、抗体の分子量は、その抗体上のスクレロスチン結合部位の数で、抗体の総分子量を割ったものであると想定する。

【0398】

試験混合物中の各抗体は、Biacoreチップ上に捕捉されたスクレロスチン分子上にある、その抗体の結合部位を容易に飽和するのに十分に高い濃度であるべきである。混合物中の抗体は、相互に同じモル濃度(結合ベースで)であり、その濃度は通常、1.00~1.5マイクロモラー(結合部位ベースで)であろう。

【0399】

抗体A*のみを含有する溶液および抗体B*のみを含有する溶液も別々に調製する。これらの溶液中の抗体A*および抗体B*は、同じ緩衝剤中にあり、かつ試験混合物中と同じ濃度であるべきである。

【0400】

試験混合物に、スクレロスチンコーティングされたBiacoreチップ上を通過させ、結合した総量を記録する。その後、チップに結合したスクレロスチンがダメージを受けずに結合抗体が除去されるようにチップを処理する。通常これは、チップを30秒間、30mMのHClで処理することによって行う。

【0401】

その後、抗体A*のみの溶液に、スクレロスチンコーティングされた表面上を通過させ結合した総量を記録する。チップに結合したスクレロスチンがダメージを受けずにすべての結合抗体が除去されるように、再度チップを処理する。

【0402】

その後、抗体B*のみの溶液に、スクレロスチンコーティングされた表面上を通過させ、結合した総量を記録する。

【0403】

次に、抗体A*および抗体B*の混合物の理論上の最大の結合量を計算する。これが、スクレロスチン表面を単独で通過した場合における、各抗体結合の合計である。実際に記録された混合物の結合量が、この理論上の最大量より少ない場合上記2種の抗体は相互に交差阻止するものである。

【0404】

したがって、本発明による交差阻止抗体または他の結合作用物質は、上記Biacore交差阻止アッセイでスクレロスチンに結合しそれによってアッセイ中および本発明の第2の抗体または他の結合作用物質の存在下で記録される結合が、併せて、2種の抗体または結合作用物質の理論上の最大結合の80%と0.1%との間(例えば80%から4%)、詳細には理論上の最

10

20

30

40

50

大結合の75%と0.1%との間(例えば75%から4%)、より詳細には理論上の最大結合の70%と0.1%との間(例えば70%から4%)(上記にちょうど定義した通り)となるものである。

【0405】

上述したBiacoreアッセイは、本発明に従って、抗体または他の結合作用物質が相互に交差阻止するかどうか決定するのに使用される主要アッセイである。まれにアミン化学を介してCM5 Biacoreチップに結合させたスクレロスチンに、特定の抗体または他の結合作用物質が結合しないことがある(これは通常、チップへのカップリングによって、スクレロスチン上の適切な結合部位がマスクされるか、破壊される場合に起こる)。そのような場合スクレロスチンのタグ付きバージョン、例えばN末端Hisタグ付きのスクレロスチン(R&D Systems社、米国ミネソタ州ミネアポリス;2005年カタログ番号1406-ST-025)を用いて交差阻止を測定することができる。この特定のフォーマットでは、抗His抗体をBiacoreチップ上に結合させる。そしてその後、Hisタグ付きのスクレロスチンにチップ表面上を通過させ、抗His抗体によって捕捉させる。この交差阻止分析は、各チップ再生サイクルの後に、新規のHisタグ付きスクレロスチンが抗His抗体コーティングされた表面に再添加されるであろうことを除いて本質的には上述の通りに実行される。N末端Hisタグ付きのスクレロスチンを用いる行われる例に加えて、代わりに、C末端Hisタグ付きのスクレロスチンを用いることもできよう。さらに、当技術分野で知られている他の様々なタグおよびタグ結合タンパク質の組合せ(例えば、HAタグと抗HA抗体;FLAGタグと抗FLAG抗体;ビオチンタグとストレプトアビジン)を、そのような交差阻止分析に用いることができよう。

【0406】

(ELISAに基づく交差阻止アッセイ)

概ね、以下は、抗スクレロスチン抗体または他のスクレロスチン結合作用物質が交差阻止するかどうか、あるいは本発明に従った交差阻止が可能であるかどうかを決定するのに適したELISAアッセイについて説明する。便宜のために、2種の抗体(Ab-XおよびAb-Y)について言及するが、本明細書に記載のスクレロスチン結合作用物質のいずれのものを用いたアッセイも使用できることが理解されよう。

【0407】

このアッセイの一般原理は、ELISAプレートのウェルを抗スクレロスチン抗体でコーティングすることである。潜在的に交差阻止する第2の抗スクレロスチン抗体を溶液中に過剰量添加する(すなわちELISAプレートに結合させない)。その後、限定量のスクレロスチンをウェルに添加する。コーティングされた抗体と、溶液中の抗体が限定された数のスクレロスチン分子の結合に関して競合する。コーティングされた抗体と結合していないスクレロスチンを除去するため、そして、第2の溶液相抗体および第2の溶液相抗体とスクレロスチンとの間で形成されたいかなる複合体も除去するためにプレートを洗浄する。その後、適当なスクレロスチン検出試薬を用いて、結合したスクレロスチンの量を測定する。コーティングされた抗体を交差阻止することができる溶液中の抗体は、コーティングされた抗体が第2の溶液相抗体の非存在下で結合できるスクレロスチン分子の数と比較して、コーティングされた抗体が結合できるスクレロスチン分子の数の減少を引き起こすことができよう。

【0408】

このアッセイは、Ab-XおよびAb-Yに関して、さらに後でより詳細に説明する。Ab-Xが固定抗体となるように選択されている場合、それをELISAプレートのウェルにコーティングし、その後、続いて添加される試薬の非特異的結合を最小にするために、適当なブロッキング溶液でプレートのブロッキングを行う。その後、1ウェルあたりのAb-Yスクレロスチン結合部位のモル数が、ELISAプレートのコーティング中に使用されたAb-Xスクレロスチン結合部位の1ウェルあたりのモル数より少なくとも10倍高くなるように、過剰量のAb-YをELISAプレートに添加する。その後、1ウェルあたりの、添加されたスクレロスチンのモル数が、各ウェルをコーティングするのに使用されたAb-Xスクレロスチン結合部位のモル数より少なくとも25倍低くなるようにスクレロスチンを添加する。適当なインキュベーション時間の後に、ELISAプレートを洗浄し、スクレロスチン検出試薬を添加して、コーテ

ィングされた抗スクレロスチン抗体(この場合Ab-X)が特異的に結合したスクレロスチンの量を測定する。アッセイのバックグランドシグナルは、コーティングされた抗体(この場合Ab-X)、第2の溶液相抗体(この場合Ab-Y)、スクレロスチン緩衝剤のみ(すなわちスクレロスチンなし)、およびスクレロスチン検出試薬を含有するウェルで得られたシグナルと定義する。アッセイの陽性対照シグナルは、コーティングされた抗体(この場合Ab-X)、第2の溶液相抗体緩衝剤のみ(すなわち第2の溶液相抗体なし)、スクレロスチン、およびスクレロスチン検出試薬を含有するウェルで得られたシグナルと定義する。ELISAアッセイは、陽性対照シグナルがバックグランドシグナルの少なくとも6倍となるような方法で行う必要がある。

【0409】

コーティング抗体としてどの抗体を用いるか、そして第2の(競合体)抗体としてどの抗体を用いるかに関する選択の結果として生じるいかなる人為的結果(例えば、Ab-XとAb-Yとの間で有意に異なる、スクレロスチンへの親和性)も回避するために、交差阻止アッセイは、以下の2通りのフォーマットで行う必要がある。

【0410】

1)フォーマット1は、Ab-Xが、ELISAプレートにコーティングされる抗体であり、Ab-Yが、溶液中にある競合体抗体である場合である

そして、

2)フォーマット2は、Ab-Yが、ELISAプレートにコーティングされる抗体であり、Ab-Xが、溶液中にある競合体抗体である場合である。

【0411】

Ab-XおよびAb-Yは、フォーマット1またはフォーマット2において、溶液相抗スクレロスチン抗体が、溶液相抗スクレロスチン抗体の非存在下で得られたスクレロスチン検出シグナル(すなわち陽性対照ウェル)と比較して、スクレロスチン検出シグナル(すなわちコーティングされた抗体が結合したスクレロスチンの量)の60%から100%、詳細には70%から100%の間、そしてより特異的には80%から100%の間の減少を引き起こすことができる場合、交差阻止すると定義する。

【0412】

そのようなELISAに基づく交差阻止アッセイの例は、実施例7(「ELISAに基づく交差阻止アッセイ」)に見出すことができる。

【0413】

(細胞に基づく中和アッセイ)

初代細胞でも株化細胞でも、培養中での骨芽細胞系細胞による石灰化が、骨形成のin vitroモデルとして使用されている。石灰化は、1つまたは複数の分化薬剤による骨芽細胞系細胞分化の誘導で始まり、起こるまでに約1~6週間かかる。事象の全体的筋道には、細胞増殖、分化、細胞外マトリックス産生、マトリックス成熟、および最後にミネラルの沈着が含まれる、ミネラルの沈着は、リン酸カルシウムの結晶化および/または沈着を指す。細胞増殖および分化から始まり、ミネラルの沈着で終わる事象のこの筋道は、本明細書では石灰化という。カルシウム(ミネラル)の測定がこのアッセイの結果である。

【0414】

MC3T3-E1細胞(Sudo H, Kodama H-A, Amagai Y, Yamamoto S, Kasai S. 1983. In vitro differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria. J. Cell Biol. 96:191~198頁)、およびオリジナルの細胞系のサブクローンは、分化薬剤の存在下における増殖の際、培養中でミネラルを形成することができる。そのようなサブクローンには、MC3T3-E1-BFが含まれる(Smith E, Redman R, Logg C, Coetzee G, Kasahara N, Frenkel B. 2000. Glucocorticoids inhibit developmental stage-specific osteoblast cell cycle. J. Biol. Chem. 275:19992~20001頁)。オリジナルのMC3T3-E1細胞、およびMC3T3-E1-BFサブクローンの両方に関して、スクレロスチンは、ミネラル沈着に至るまで事象およびミネラル沈着を含めた事象のうちの1つまたは複数を阻害することができる(すなわちスクレロスチンは石灰化を阻害する)。ス

10

20

30

40

50

クレロスチンの阻害活性を中和できる抗スクレロスチン抗体は、スクレロスチン存在下での培養の石灰化を可能にしそのためスクレロスチンのみ(すなわち抗体なし)の処置群で測定されたカルシウム量と比較して、リン酸カルシウム(カルシウムとして測定)の沈着の統計的に有意な増大がある。図22、23、および24に示す、細胞に基づく石灰化アッセイで使用される抗体は、約145Kdの分子量を有し、そして抗体分子あたり2カ所のスクレロスチン結合部位を有する。

【0415】

特定の抗スクレロスチン抗体または抗スクレロスチン結合作用物質がスクレロスチンを中和できるかどうか(すなわち、スクレロスチン中和抗体またはその誘導体であるかどうか、あるいはスクレロスチン中和結合作用物質であるかどうか)決定する目的で上記アッセイを行う場合、アッセイで使用されるスクレロスチンの量は、スクレロスチンなしの群で測定されたカルシウムの量と比較して、スクレロスチンのみの群におけるリン酸カルシウム(カルシウムとして測定される)の沈着の少なくとも70%の統計的に有意な減少を引き起こすスクレロスチンの最小量である必要がある。抗スクレロスチン中和抗体または抗スクレロスチン中和結合作用物質は、スクレロスチンのみ(すなわち抗体なし、結合作用物質なし)の処置群で測定されたカルシウムの量と比較して、リン酸カルシウム(カルシウムとして測定される)の沈着の統計的に有意な増大を引き起こすものとして定義する。抗スクレロスチン抗体または抗スクレロスチン結合作用物質が中和するか否かを決定するには、アッセイで使用される抗スクレロスチン抗体または抗スクレロスチン結合作用物質の量が、1ウェルあたりのスクレロスチンのモル数と比較して、1ウェルあたりのスクレロスチン結合部位が過剰なモル数となるような量である必要がある。抗体の力価に応じて、必要とされる過剰倍数は、24、18、12、6、3、または1.5でありえ、当業者であれば、複数の濃度の結合作用物質を試験する日常的操作に精通している。例えば、非常に高力価な抗スクレロスチン中和抗体または抗スクレロスチン中和結合作用物質は、1ウェルあたりのスクレロスチンのモル数と比較して、1ウェルあたりのスクレロスチン結合部位のモル数が6倍過剰未満である場合さえスクレロスチンを中和することができるであろう。より力価の低い抗スクレロスチン中和抗体または抗スクレロスチン中和結合作用物質は、12、18、または24倍過剰でのみスクレロスチンを中和できるであろう。力価がこの全域内にあるスクレロスチン結合作用物質は、中和スクレロスチン結合作用物質として適している。例示的な細胞に基づく石灰化アッセイについては、実施例8で詳細に記述する。

【0416】

ヒトスクレロスチンを中和できる抗スクレロスチン抗体およびそれらの誘導体、ならびにヒトスクレロスチンを中和できるスクレロスチン結合作用物質低骨形成、低骨密度、低骨塩量、低骨量、低骨質、および低骨強度のうち少なくとも1つによって引き起こされるか、これに関連するか、あるいはこれをもたらすヒトの状態/障害の治療に有用であり得る。

【0417】

(IN VIVO中和アッセイ)

スクレロスチンを中和でき、それによって新骨形成の刺激を引き起こすことができる結合作用物質を同定するために、新骨形成の刺激に関連する様々のパラメータの増大、またはその結果に生じる様々のパラメータの増大を、スクレロスチン結合作用物質のin vivo試験の結果として測定できる。そのようなパラメータには、様々な血清同化マーカー[例えば、オステオカルシン、PINP(1型プロコラーゲンのn末端プロペプチド)]、骨形成の組織形態計測的マーカー(例えば、骨芽細胞表面/骨表面;骨形成速度/骨表面;小柱骨組織厚)、骨密度、骨塩量、骨質量、骨質、および骨強度が含まれる。スクレロスチン中和結合作用物質は、媒体で処置された動物との比較における、新骨形成の刺激と関連するか、あるいはそれから生じる任意のパラメータの統計的に有意な増大を引き起こすことができるものとして定義する。そのような試験は、任意の適した哺乳動物(例えば、マウス、ラット、サル)においても、in vivoで行うことができる。そのようなin vivo試験の例は、実施例5(「抗スクレロスチンモノクローナル抗体のin vivo試験」)に見出すことができる。

【0418】

スクレロスチンのアミノ酸配列は、哺乳動物諸種全体で100%同一ではない(例えば、マウススクレロスチンはヒトスクレロスチンと100%同一ではない)が、当業者であれば、特定の種(例えばマウス)のスクレロスチンをin vivoで中和でき、かつin vitroでヒトスクレロスチンにも結合できるスクレロスチン結合作用物質は、ヒトスクレロスチンin vivoを中和できる可能性が極めて高いことを理解するであろう。したがって、そのようなヒトスクレロスチン結合作用物質(例えば抗ヒトスクレロスチン抗体)は、低骨形成、低骨密度、低骨塩量、低骨量、低骨質、および低骨強度のうち少なくとも1つによって引き起こされるか、これに関連するか、あるいはこれをもたらすヒトの状態/障害の治療に有用であり得る。相同組換えを用いて、マウススクレロスチン遺伝子が除去され、かつその場所にヒトスクレロスチン遺伝子が挿入されているマウス(すなわち、ヒトスクレロスチン遺伝子ノックインマウスまたはヒトSOSTノックインマウス)は、別のin vivoシステムの例であろう。

10

【0419】

ヒトスクレロスチンに対する抗体Ab-A、Ab-B、Ab-C、Ab-D、およびAb-1からAb-24のうちの少なくとも1つなど、上述した結合作用物質の1つを、薬学的または生理的に許容できる担体、賦形剤、または希釈剤と共に含む医薬組成物を提供する。医薬組成物および治療方法は、米国特許出願第60/478977号に基づく優先権を主張する、2004年6月16日出願、同時係属の米国特許出願第10/868497号に開示されているこれらの両開示を参照により本明細書に組み込む。

20

【0420】

例えば、皮下、経口、非経口、静脈、鼻腔内、筋肉内投与および処方を含めた、様々な治療計画で、本明細書に記載の特定の組成物を使用するのに適した投与計画および治療計画の開発は、当技術分野でよく知られており、それらの一部は、例示の一般的目的において以下に簡潔に論じられている。

【0421】

特定の適用では、本明細書に開示された医薬組成物を、動物への経口投与を介して送達することができる。したがって、これらの組成物は、不活性な希釈剤と共に、または同化できる可食担体と共に処方してもよく、あるいはそれらを硬殻または軟殻ゼラチンカプセル中に封入してもよく、あるいはそれらを錠剤に圧縮してもよく、あるいはそれらを食物と共に直接的に取り込んでもよい。

30

【0422】

特定の状況では本明細書に開示の医薬組成物を皮下送達、非経口送達、静脈内送達、筋肉内送達すること、または腹腔内送達することさえ望ましいであろう。そのようなアプローチは当業者に周知であり、それらの一部は、例えば、米国特許第5543158号、同第5641515号、および同第5399363号にさらに記載されている。特定の実施形態では、遊離塩基または薬理学的に許容できる塩としての活性化化合物の溶液を、ヒドロキシプロピルセルロースなどの界面活性物質と適切に混合された水の中に調製することができる。分散剤は、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、およびこれらの混合物、ならびに油中に調製することもできる。貯蔵および使用の通常の下では、通常、これらの調製物は、微生物の成長を阻止する保存剤を含有するであろう。

40

【0423】

注入可能な使用に適した例示的製薬形態には、無菌注射剤または分散剤の即時調製用の無菌水溶液または分散媒および無菌粉末が含まれる(例えば米国特許第5466468号を参照)。すべての場合において、剤形は無菌でなければならず、注入容易な程度に流動的でなければならない。それは製造および貯蔵の条件下で安定でなければならず、細菌および真菌などの微生物の混入作用に対抗して保存されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど)を含有する溶媒もしくは分散媒、それらの適した混合物、および/または植物油であり得る。適当な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングの使用によ

50

って、分散剤の場合には必要な粒径の維持によって、かつ/あるいは界面活性物質の使用によって維持することができる。微生物の作用の予防は、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサルなどの様々な抗菌薬および抗真菌薬によって容易にすることができる。多くの場合、等張剤、例えば、糖または塩化ナトリウムを含有することが好ましいであろう。注入可能組成物の長時間にわたる吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンの組成物中での使用によってもたらすことができる。

【0424】

一実施形態では、水溶液中での非経口投与には、必要に応じて、溶液に適した緩衝作用を与えるべきであり、液体希釈剤は、最初に十分な食塩水またはグルコースで等張性を与えるべきである。これらの特定の水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下、および腹腔内投与に特に適している。これに関連して、利用可能な無菌水性媒体は、本開示に照らして、当業者には既知であろう。例えば、1用量を1mlの等張NaCl溶液中に溶解させ1000mlの皮下注入液中に添加するか注入が提案されている部位に注入することができる、(例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th ed., 1035~1038頁および1570~1580頁を参照)。ある程度の用量の変動は、治療されている対象の状態に応じて必ず起こるであろう。さらに、ヒト投与用には、調製物は当然、FDA生物製剤部の基準によって要求される無菌性基準、発熱原性基準、ならびに一般的安全性および純度基準を満たすものであろう。

【0425】

本発明の別の実施形態では、本明細書に開示の組成物は、中性または塩の形態で処方することができる。薬学的に許容される例示的な塩には、酸添加塩(タンパク質の遊離アミノ基で形成される)が含まれ、これには、例えば、塩酸またはリン酸などの無機酸、あるいは酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸などの有機酸で形成される。遊離カルボキシル基で形成される塩は、例えば、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、または水酸化第二鉄などの無機塩基、ならびにイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、プロカインなどの有機塩基からも得ることができる。処方の際には、製剤と適合した方法、および治療上有効となる量で溶液を投与するであろう。

【0426】

担体はさらに、溶媒、分散媒、媒体、コーティング剤、希釈剤、抗菌薬および抗真菌薬、等張剤および吸収遅延剤、緩衝剤、担体溶液、懸濁液、コロイド、ならびに同様のもののうち任意のものおよびすべてを含むことができる。医薬品活性物質用のそのような媒体および薬剤の使用は当技術分野で周知である。従来のいかなる媒体もしくは薬剤も、活性成分と不適合でない限り、治療組成物中におけるその使用が企図されている。補足的活性成分も、組成物中に組み入れることができる。「薬学的に許容できる」という語句は、ヒトに投与された場合、アレルギー反応または類似の好ましくない反応を生み出さない分子実体および組成物を指す。

【0427】

特定の実施形態では、本発明の組成物を適した宿主細胞/生物内に導入するのに、リボソーム、ナノカプセル、マイクロ粒子、脂質粒子、ベシクルなどを用いる。詳細には、本発明の組成物は、脂質粒子、リボソーム、小胞、ナノスフェア、またはナノ粒子などの内部に封入して送達するために処方することができる。別法では、共有結合または非共有結合によって、本発明の組成物をそのような担体媒体の表面に結合させることができる。

【0428】

潜在的薬物担体としてのリボソームおよびリボソーム様調製物の形成および使用は、当業者には一般的に知られている(例えば、それぞれが参照により全体として本明細書に明白に組み込まれる、Lasic、Trends Biotechnol. 16(7):307~21頁、1998;Takakura、Nippon Rinsho 56(3):691~95頁、1998;Chandranら、Indian J. Exp. Biol. 35(8):801~09頁、1997;Margalit、Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 12(2-3):233~61頁、1995;米国特許第5567434号;米国特許第5552157号;米国特許第5565213号;米国特許第5738868号および米国特許第5795587号を参照のこと)。リボソームの使用は、全身送達の後で、自己免

10

20

30

40

50

疫応答または容認できない毒性を伴わないようである。特定の実施形態では、リボソームは、水溶媒中に分散したリン脂質から形成され、自然発生的に多重膜の同心的二重層小胞を形成する(多重膜小胞(MLV)とも呼ばれる)。

【0429】

あるいは、他の実施形態では、本発明は、本発明の組成物の薬学的に許容できるナノカプセル製剤を提供する。ナノカプセルは、通常、安定的かつ再現可能な方法で化合物を封入することができる(例えば、Quintanar-Guerreroら、Drug Dev. Ind. Pharm. 24(12):1113~28頁、1998を参照)。細胞内の重合体過負荷による副作用を回避するために、そのような超微粒子(約0.1 μ mの大きさ)は、in vivoで分解可能な重合体を用いるように設計することができる。そのような粒子は、Couvreurら、Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 5(1):1~20頁、1988; zur Muhlenら、Eur. J. Pharm. Biopharm. 45(2):149~55頁、1998; Zambauxら、J. Controlled Release 50(1-3):31~40頁、1998および米国特許第5145684号によって記載されている通りに作製することができる。

【0430】

加えて、本発明の医薬組成物は、そのような医薬組成物の使用に関する説明書を提供する包装材料と共に容器に入れることができる。通常、そのような説明書は、試薬濃度と、特定の実施形態の中では、医薬組成物を再構成するのに必要であり得る賦形剤成分または希釈剤(例えば、水、食塩水、またはPBS)の相対量とを記載する具体的な表現を含んでいるであろう。

【0431】

投与される用量は、0.01mg/kg体重から100mg/kg体重の範囲であり得る。当業者には明白であろうが、投与の量および頻度は当然ながら、治療される徴候の性質および重度、望ましい反応、患者の状態などの因子に依存するであろう。通常、上記組成物は、上述した様々な技法によって投与できる。

【0432】

骨塩量および/または骨密度の増大は、エックス線(例えば、二重エネルギーエックス線吸光分光分析すなわち「DEXA」)の使用を介して直接的に決定することも、1)限定されるものではないが、骨芽細胞特異的アルカリ性ホスファターゼ、オステオカルシン、1型プロコラーゲンC'プロペプチド(PICP)、総アルカリ性ホスファターゼ(Comier, Curr. Opin. in Rheu. 7:243(1995)を参照)、および血清プロコラーゲン1 N末端のプロペプチド(P1NP)などの骨形成および/または骨芽細胞活性のマーカーならびに/あるいは2)限定されるものではないが、ピリジノリン、デオキシピリジノリン、N-テロペプチド、尿中ヒドロキシプロリン、血漿酒石酸耐性酸性ホスファターゼ、およびガラクトシルヒドロキシリシン(Comier, 同上を参照)、血清TRAP5b(酒石酸耐性酸性ホスファターゼアイソフォーム5b)、および血清架橋C-テロペプタイド(sCTXI)を含めた骨吸収および/または破骨細胞活性のマーカーの測定を通じた推論によって決定することもできる。骨質量の量は、体重から計算しても、他の方法を用いることによって計算してもよい(Guinness-Hey, Metab. Bone Dis. Relat. Res. 5:177~181頁、1984を参照)。例えば、骨粗鬆症および骨減少症などのヒト疾患の状態を模倣する骨量減少、骨吸収、骨形成、骨強度、または骨石灰化のパラメータへの、本発明の組成物および方法の影響を試験するために、当技術分野では、動物および特定の動物モデルを用いる。そのようなモデルの例には、卵巣切除ラットモデル(Kalu, D.N., The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. Bone and Mineral 15:175~192頁(1991); Frost, H.M.およびJee, W.S.S. On the rat model of human osteopenias and osteoporosis. Bone and Mineral 18:227~236頁(1992); およびJee, W.S.S. およびYao, W., Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis. J. Musculoskel. Neuron. Interact. 1:193~207頁(2001))が含まれる。

【0433】

本発明の組成物によって治療し得る特定の状態には、骨の成長または発生が異常である異形成、ならびに骨減少症、骨粗鬆症、および骨喪失の様々な原因が含まれる。そのような状態の代表例には、軟骨無形成症、鎖骨頭蓋異骨症、内軟骨腫症、線維性骨異形成症、

ゴーシェ病、低リン血症性くる病、マルファン症候群、多発性遺伝性外骨症、神経線維腫症、骨形成不全症、大理石骨病、骨斑紋症、硬化性病変、偽関節、および化膿性骨髓炎、歯周病、抗てんかん薬誘発性骨量減少、原発性および二次性副甲状腺機能亢進症、家族性副甲状腺機能亢進症候群、無重力誘発性骨量減少、男性骨粗鬆症、閉経後骨量減少、骨関節炎、腎性骨異常栄養症、骨浸潤性障害、口腔骨量減少、顎骨壊死、若年性パジェット病、メロレオストーシス、代謝性骨疾患、肥満細胞症、鎌状赤血球貧血/鎌状赤血球症、臓器移植関連骨量減少、腎移植関連骨量減少、全身性エリテマトーデス、強直性脊椎炎、てんかん、若年性関節炎、サラセミア、ムコ多糖症、ファブリー病、ターナー症候群、ダウン症候群、クライنفelter症候群、ハンセン病、ペルテス病、思春期特発性側弯症、乳児期発症多臓器性炎症性疾患、ウィンチェスター症候群、メンケス病、ウィルソン病、虚血性骨疾患(レッグ・カルベ・ペルテス病、局所性移動性骨粗鬆症など)、貧血状態、ステロイドによって引き起こされる状態、グルココルチコイド誘発性骨量減少、ヘパリン誘発性骨量減少、骨髄障害、壊血病、栄養不良、カルシウム欠乏、突発性骨粗鬆症または骨粗鬆症、先天性骨減少症または骨減少症、アルコール症、慢性肝疾患、閉経後状態、慢性炎症性状態、関節リウマチ、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、炎症性大腸炎、クローン病、希発月経、無月経、妊娠、真性糖尿病、甲状腺機能亢進症、甲状腺障害、副甲状腺障害、クッシング病、先端巨大症、性腺機能低下症、運動不足または非活動 (immobilization or disuse)、反射性交感神経性ジストロフィー、局所性骨粗鬆症、骨軟化症、関節置換に伴う骨量減少、HIVに伴う骨量減少、成長ホルモンの減少に伴う骨量減少、嚢胞性線維症に伴う骨量減少、線維性異形成化学療法に伴う骨量減少、腫瘍誘発性骨量減少、癌関連骨量減少、ホルモン遮断による骨量減少、多発性骨髄腫、薬物誘発性骨量減少、神経性食欲不振症、疾患に伴う顔面骨量減少、疾患に伴う頭蓋骨量減少、疾患に伴う顎骨量減少、疾患に伴う頭骨量減少、および宇宙旅行に伴う骨量減少が含まれる。さらなる状態は、加齢に伴う顔面骨量減少、加齢に伴う頭蓋骨量減少、加齢に伴う顎骨量減少、および加齢に伴う頭骨量減少を含めた、加齢に伴う骨量減少に関する。

10

20

【0434】

本発明の組成物は、整形外科処置、歯科処置、インプラント手術、関節置換、骨移植、骨美容整形、ならびに骨折治癒、癒着不能治癒、遷延癒合、および顔の形成などの骨修復の結果を改善するのに有用であり得る。上記の処置、置換、移植、手術、または修復の前または後に、1つまたは複数の組成物を投与することができる。

30

【0435】

本発明は、本発明に記載の少なくとも1つの抗スクレロスチン結合作用物質を含む診断キットも提供する。上記結合作用物質は抗体でよい。加えて、そのようなキットは、以下のもののうち1つまたは複数の任意選択で含み得る。

【0436】

(1)スクリーニング、診断、予後、治療モニタリング、またはこれらの適用の任意な組合せのために1つまたは複数の結合作用物質を使用するための説明書、

(2)抗スクレロスチン結合作用物質に対する標識された結合パートナー、

(3)上記抗スクレロスチン結合作用物質がそれに固定される固相(試薬ストリップなど)、および

40

(4)スクリーニング、診断、予後、もしくは治療使用、またはこれらの組合せに関する規制認可を示す標識または挿入物。

【0437】

上記結合作用物質に対する標識された結合パートナーが提供されない場合、結合作用物質それ自体を1つまたは複数の検出可能マーカー、例えば、化学発光、酵素、蛍光、または放射性部分で標識することができる。

【0438】

実施例

以下の実施例を、限定ではなく、例として提供する。

【実施例1】

50

【0439】

(スクレロスチンの組換え体発現)

組換え体ヒトスクレロスチン/SOSTは、R&D Systems社(米国ミネソタ州ミネアポリス;2006年カタログ番号1406-ST-025)から市販されている。加えて、組換え体マウススクレロスチン/SOSTは、R&D Systems社(米国ミネソタ州ミネアポリス;2006年カタログ番号1589-ST-025)から市販されている。

【0440】

別法として、無血清懸濁液適応させた293Tまたは293EBNA細胞で、様々な種類のスクレロスチンを一時的に発現させることもできる。形質移入は、500mLまたは1L培養として実施できる。以下の試薬および物質は、Gibco BRL社(現在のInvitrogen社、米国カリフォルニア州カールズバッド)から入手できる。カタログ番号を括弧内に示す:無血清DMEM (21068-028);DMEM/F12(3:1)(21068/11765);1×インシュリントランスフェリンセレンウムサプリメント(51500-056);1×Pen Strep Glut(10378-016);2mM L-グルタミン(25030-081);20mM HEPES (15630-080);0.01%プルロニックF68 (24040-032)。簡潔には、細胞種菌($5.0 \sim 10.0 \times 10^5$ 細胞/mL×培養容積)を、4℃、2500rpmで10分間遠心分離して、調整培地を除去する。

10

【0441】

細胞を無血清DMEM中に再懸濁し、4℃、2500rpmで10分間、再び遠心分離する。洗浄溶液を吸引した後に、細胞を1Lまたは3Lのスピナーフラスコ培養物中の増殖培地[DMEM/F12(3:1)+の1×インシュリントランスフェリンセレンウムサプリメント+1×Pen Strep Glut + 2mM L-グルタミン + 20mM HEPES + 0.01%プルロニックF68]中に再懸濁する。スピナーフラスコ培養を125rpmの磁気攪拌プレート上に維持しこれを37℃、5% CO₂に維持された加湿インキュベーター中に置いた。開始部位ATGのすぐ5'側にコーザックコンセンサス配列(例えばCCACC)を有するスクレロスチンの完全コード領域(および停止コドン)を含有する哺乳動物発現プラスミドDNA(例えば、pcDNA3.1、pCEP4、Invitrogen Life Technologies社、米国カリフォルニア州カールズバッド)を、50mL円錐管中の形質移入試薬と混合する。

20

【0442】

無血清DMEMかOPTI-MEMの最終培養容積の5~10%でDNAトランスフェクション試薬複合体は調製される。この目的で利用できる形質移入試薬には、X-tremeGene R0-1539 (Roche Applied Science社、米国インディアナ州インディアナポリス)、FuGene6 (Roche Applied Science社、米国インディアナ州インディアナポリス)、Lipofectamine2000 (Invitrogen社、米国カリフォルニア州カールズバッド)、および293fectin (Invitrogen社、米国カリフォルニア州カールズバッド)が含まれる。無血清DMEM中に、最初に1~5μgプラスミドDNA/mL培養物を添加し、その後1~5μl形質移入試薬/mL培養物を添加する。この混合物は室温で約10~30分間インキュベートすることができその後スピナーフラスコ中の細胞に添加する。形質移入/発現は、4~7日間実施でき、その後4℃、4000rpm、60分間の遠心分離によって調整培地(CM)を採取する。

30

【実施例2】

【0443】

(組換え体スクレロスチンの精製)

組換え体スクレロスチンは、以下の哺乳動物宿主細胞から精製した。すべての精製工程を室温で行った。マウスおよびヒトスクレロスチンを含めた様々な種類のスクレロスチンを精製するのに、1つの精製スキームを用いた。この精製スキームは、アフィニティークロマトグラフィーを使用し、その後、陽イオン交換クロマトグラフィーを用いるものである。

40

【0444】

(ヘパリンクロマトグラフィー)

哺乳動物宿主細胞調整培地(CM)を、Beckman J6-M1遠心分離機で4000rpm、4℃、1時間遠心分離して、細胞破片を除去した。その後、CM上清を0.2μm無菌フィルターに通して濾過した。(この時点で無菌濾過されたCMは、任意選択で、精製まで冷凍状態で保存してもよ

50

い)。CMが冷凍されている場合、それを以下の温度、すなわち4℃、室温、もしくは温水、またはこれらの組合せで解凍した。解凍の後CMを0.2μm無菌フィルターに通して濾過し任意選択で、10kD分子量カットオフ膜を用いた接線流限外濾過(TFF)によって濃縮した。CM濃縮物を0.2μm無菌フィルターに通して濾過し、その後、PBSで平衡化したヘパリン高速(ヘパリンHP)カラム(GE Healthcare社、以前のAmersham Biosciences社)に添加した。別法として、PBSで平衡化したヘパリンHPカラムに、濾過されたCM上清を直接添加してもよい。

【0445】

添加の後、280nmにおけるフロースルーの吸光度がベースライン(すなわち、CM上清をロードする前の吸光度)に戻るまで、ヘパリンHPカラムをPBSで洗浄した。その後、PBS中における150mMから2Mまでの塩化ナトリウム直線勾配を用いて、スクレロスチンをカラムから溶出させた。280nmにおける溶出液の吸光度をモニターし、タンパク質含有画分を収集した。その画分をその後クマシー染色のSDS-PAGEでアッセイしてグリコシル化スクレロスチンのサイズで移動したポリペプチドを含有している画分を同定した。カラムから得た適切な画分を併せて、ヘパリンHPプールを作製した。

【0446】

(陽イオン交換クロマトグラフィー)

SP高速(SPHP)クロマトグラフィー基質(GE Healthcare社、以前のAmersham Biosciences社)を用いた陽イオン交換クロマトグラフィーで、ヘパリンHPカラムから溶出されたスクレロスチンをさらに精製した。10,000 MWCO膜(Pierce社Slide-A-Lyzer)を用いた透析によって、ヘパリンHPプールの緩衝剤をPBSに交換した。その後、PBSで平衡化したSPHPカラムに、透析されたヘパリンHPプールを添加した。添加の後、280nmにおけるフロースルーの吸光度がベースラインに戻るまで、PBSでカラムを洗浄した。その後、PBS中における150mMから1Mまでの塩化ナトリウム直線勾配を用いて、SPHPカラムからスクレロスチンを溶出させた。280nmにおける溶出液の吸光度をモニターし、溶出されたスクレロスチンを画分中に収集した。その画分をその後クマシー染色のSDS-PAGEでアッセイしてグリコシル化スクレロスチンのサイズで移動したポリペプチドを含有している画分を同定した。カラムから得た適切な画分を併せて、SPHPプールを作製した。

【0447】

(処方)

精製の後、10,000 MWCO膜(Pierce社製Slide-A-Lyzer)を用いた透析によって、SPHPプールをPBS中に処方した。スクレロスチンの濃縮が必要な場合、10,000 MWCO膜を備えた遠心装置(Amicon社製CentriconまたはCentriprep)を用いた。処方の後に、スクレロスチンを0.2μm無菌フィルターに通して濾過し4℃または冷凍で保存した。

【実施例3】

【0448】

(ペプチド結合ELISA)

ラットスクレロスチン(配列番号98)の既知アミノ酸配列に基づいて、オーバーラップを有する一連のペプチド(各ペプチドは長さが約20~25アミノ酸)を合成した。これらのペプチドは、それらがすべて、還元されたシステイン残基を含有するように設計した。各ペプチドのC末端には、その配列中には既に含有されていなかった追加のシステインが含まれていた。これによって、市販のスルフヒドリル基結合プレート(Costar社)を使用し、1mMのEDTAを含有するリン酸緩衝生理食塩水(PBS:pH6.5)中、1μg/mlの濃度で、ペプチドを共有結合によってアッセイプレートに結合させることが可能となった。室温で1時間のインキュベーション後、0.5%のTween20を含有するPBSで、プレートを3回洗浄した。0.5%の魚皮ゼラチン(Sigma社)を含有するPBS溶液中、室温で、30分間のインキュベーションによって、プレートのブロッキングを行い、その後0.5%のTween20を含有するPBS中で、プレートを3回洗浄した。

【0449】

試験すべき抗体を、0.5%の魚皮ゼラチンを含有するPBS溶液中に、1μg/mlに希釈し

10

20

30

40

50

ブチドコーティングされたプレートと共に室温で1時間インキュベートした。0.5%Tween20、PBSで3回洗浄することによって、過剰な抗体を除去した。その後、ホースラディッシュペルオキシダーゼに結合しており、かつ対象とする抗体に結合できる適切な2次抗体(0.5%のTween20を含有するPBS中に適切に希釈されている)と共にプレートをインキュベートした。その後、このプレートを3回、すなわち0.5%のTween20を含有するPBSで1回、そしてPBSで2回洗浄した。最後に、ホースラディッシュペルオキシダーゼ発色基質(TMB-Stable Stop、RDI社)と共に、プレートを室温で5分間インキュベートし、発色を酸で停止させ、プレートの光学濃度を450nmで測定した。

【0450】

(材料)

Costar社製スルフヒドリル結合プレート(VWR社#29442-278)

コーティング緩衝剤:1×PBS PH6.5+1mM EDTA

0.5%ブロッキング緩衝剤:1×PBS+魚皮ゼラチン(PBSはCS社製;FSGはSigma社#G7765)

洗浄緩衝剤:1×PBS+0.5%Tween20

ラットスクレロスチンペプチド

抗体試料:一過性Ab、精製組換え体Ab、ウサギ血清など。

【0451】

適切なヤギ抗ウサギ/マウス-HRP2次Ab (Jackson Immuno Research社、115-036-072)

TMB-Stable Stop (RDI社#RDI-TMBSX-1L)

0.5M HCl

【0452】

(方法は以下の通り)

1. 1×PBS PH6.5+1mM EDTAの中に1μg/mlに希釈されたラットスクレロスチンペプチド100μl/ウェルでプレートをコーティングする。プレートを室温で1時間インキュベートする。(プレートは開始の30分以内に使用するべきである)。
2. プレートを洗浄緩衝剤で3×洗浄する。
3. 200μl/ウェルのブロッキング緩衝剤でプレートのブロッキングを行う。プレートを室温で30分間インキュベートする。
4. (2)に記載の洗浄を反復する。
5. ブロッキング緩衝剤中に希釈された試料50μl/ウェルと共にプレートをインキュベートする-血清力価は1:100で開始する。一過性組換え体Abは希釈せずに使用する;精製された組換え体Abは1μg/mlで使用する(すべての試料をデュプリケートとする)。プレートを室温で1時間インキュベートする。
6. (2)に記載の通りにプレートを洗浄する。
7. ブロッキング緩衝剤中に1:1600に希釈された適切な2次抗体(HRP標識)50μl/ウェルと共にプレートをインキュベートする。1時間室温でプレートをインキュベートする。
8. プレートを洗浄緩衝剤で1×、PBSで2×洗浄する。
9. 50μl/ウェルのTMBと共にプレートを室温で5分間インキュベートする。
10. 50μl/ウェルの0.5M HClで反応を停止させる。
11. 450nmの波長でプレートを測定する。

【0453】

以下のペプチド配列を上述の通りスクリーニングした:

QGWQAFKNDATETIIPGLREYPEPP(配列番号:82)

TEIIPGLREYPEPPQELENN (配列番号:83)

PEPPQELENNQTMNRAENG (配列番号:84)

ENGGRPPHHPYDTKDVSEYS (配列番号:85)

CRELHYTRFVTDGP (配列番号:86)

CRELHYTRFVTDGPSRSAPVTELV (配列番号:87)

CRSAKPVTELVSSGQSGPRARLL (配列番号:88)

CGPARLLPNAIGRVKWWRPNGPDFR (配列番号:89)

RAQRVQLLCPGGAAPRSRKV (配列番号:90)
PGGAAPRSRKVRLVAS (配列番号:91)
KRLTRFHNQSELKDFGPETARPQ (配列番号:92)
IPDRYAQRVQLLSPGG (配列番号:93)
SELKDFGPETARPQKGRKPRPRAR (配列番号:94)
KGRKPRPRARGAKANQAELENAY (配列番号:95)
PNAIGRVKWWRPNGPDFR (配列番号:96)
KWWRPNGPDFRCIPDRYRAQRV (配列番号:97)

【0454】

1つの高親和性中和抗体(Ab-19)は、オーバーラップした2つのペプチド配列、すなわち、PNAIGRVKWWRPNGPDFR(配列番号96)およびKWWRPNGPDFRCIPDRYRAQRV(配列番号97)に結合した。

10

【0455】

この手順は、一見直鎖のエピトープと反応する抗体のエピトープの認識を可能にする。抗体結合部位の全体または一部を含有するペプチドが抗体に結合し、それによって検出されるであろう。

【実施例4】

【0456】

(ヒトスクレロスチンエピトープの同定)

(スクレロスチン構造)

20

成熟型(シグナルペプチドが除去されている)ヒトスクレロスチンは190アミノ酸のタンパク質である(図8)。図9は、N末端アーム(N末端のQからシステイン1まで)およびC末端アーム(システイン8から末端のYまで)を有するスクレロスチンの一般的な構造の概要を示す。これらの2本のアームの間にはさまれて、シスチンノット構造、ならびにループ1、ループ2、およびループ3と命名されている3本のループがある。スクレロスチンの中の4本のジスルフィド結合は、配列57位のCys1と配列111位のCys5との連結(C1-C5と呼ばれる)、配列71位のCys2と配列125位のCys6との連結(C2-C6と呼ばれる)、配列82位のCys3と配列142位のCys7との連結(C3-C7と呼ばれる)、配列86位のCys4と配列144位のCys8との連結(C4-C8と呼ばれる)である。C3-C7およびC4-C8のジスルフィド結合を介して、8員環構造が形成されている。この環構造が、この環を貫くC1-C5ジスルフィド結合と共に、典型的なシスチンノットを形成している。C2-C6は、シスチンノットの一部ではなく、2つの大きいループ構造、すなわちループ1(残基57~82)およびループ3(残基111~142)を相互に近接させている。ループ2は、C4(残基86)からC5(残基111)まで及ぶ。

30

【0457】

(実験)

抗スクレロスチンモノクローナル抗体が結合するエピトープを性質決定する一般的なアプローチは、様々なプロテアーゼを用いてヒトスクレロスチンをペプチドに断片化するステップと、これら様々なヒトスクレロスチンペプチドの配列を決定するステップと、これらのペプチドを単離するステップと、Biacoreに基づく「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ」を用いて、それらのそれぞれを、特定のモノクローナル抗体に結合するそれらの能力に関して試験するステップとを含む。この結果得られたデータによって、結合エピトープの位置の決定が可能となった。

40

【0458】

ペプチド消化産物はHPLCペプチドマッピングにかけた。すなわち、個々のピークを収集し、マトリックス支援レーザー脱離質量分析(MALDI-MS)ならびにエレクトロスプレーイオン化LC-MS(ESI-LC-MS)分析および/またはN末端配列決定によって、ペプチドの同定およびマッピングを行った。これらの研究のためのすべてのHPLC分析は、逆相C8カラム(内径2.1 mm×長さ15cm)を用いて行った。HPLCペプチドマッピングは、0.05%トリフルオロ酢酸の中における、0.05%トリフルオロ酢酸(移動相A)から90%アセトニトリルまでの線形勾配を用いて行った。カラムは、50分間超、流速0.2ml/分で展開させた。

50

【0459】

(トリプシンおよびAspNエンドプロテアーゼ消化)

トリプシンまたはAspNを用いて、成熟型ヒトスクレロスチンを消化させた。トリプシンは、アルギニンおよびリジンの後で切断を行う。0.5~1.0mg/mlのスクレロスチン約200 μ gを、トリプシンまたはAspNのいずれか8 μ gと共に、PBS(pH7.2)中、37℃で20時間インキュベートした。

【0460】

(トリプシン消化)

トリプシン消化産物のHPLCクロマトグラフィーは、いくつかの大きなピークを生み出した(図10A)。トリプシン消化の後のHPLCから回収したペプチドピークの配列分析を行った。HPLCによって分離されたペプチドの正確な質量を決定するために、ペプチド消化産物のオンラインESI LC-MS分析も行った。このようにして、ペプチドピーク中に存在するペプチドのアイデンティティを決定した(図11)。図13は、スクレロスチン配列に沿った、様々なペプチド配列(T19.2、T20、T20.6、T21-22)のアラインメントを示す。それぞれのTの後にある数(例えばT19.2)は保持時間を示す。T19.2は、C2-C6ジスルフィド結合によって連結された2本のペプチド(ループ1からの1本とループ3からの1本)を含有している。T20は、シスチンノット構造によって一体にされた2本のペプチドを含有し、完全なループ1および3がC2-C6ジスルフィドによって一体化されているが、ループ2の大部分が欠失している。T20.6は、シスチンノット構造によって一体化された4つの配列を含有するが、ループ1および3の部分(T19.2部分)を欠失しており、かつループ2の大部分を欠失している。T21-22はT20にほとんど同一であるが、ループ2領域に3残基の追加アミノ酸を有する。

10

20

【0461】

(AspN消化)

AspN消化産物のHPLCクロマトグラフィーは、いくつかの大きなピークを生み出した(図10B)。HPLCから回収したペプチドピークの配列分析を行った。HPLCによって分離されたペプチドの正確な質量を決定するために、ペプチド消化産物のオンラインESI LC-MS分析も行った。このようにして、AspN消化から生じたペプチドピーク中に存在するペプチドのアイデンティティを決定した(図12)。図14は、スクレロスチン配列に沿った、様々なペプチド配列(AspN14.6、AspN18.6、AspN22.7-23.5)のアラインメントを示す。それぞれのAspNの後にある数(例えばAspN18.6)は保持時間を示す。AspN14.6は、スクレロスチンのN末端アームおよびC末端アームの両方から生じた3本の短いペプチドを含有し、一方AspN18.6は、スクレロスチンのN末端アームから生じた1本のより大きなペプチドである。AspN22.7-23.5は、8残基のシステイン(4本のジスルフィド結合)すべて、シスチンノット、ならびにループ1、2、および3のすべてを包含する、104アミノ酸の単一ペプチド断片を含有する。

30

【0462】

上記エピトープを性質決定するストラテジーは、これらの様々なトリプシンおよびAspN生成ヒトスクレロスチンペプチドを使用し、いずれのペプチドに、様々な抗体(Ab-A、Ab-B、Ab-CおよびAb-D)が依然として結合できたかを決定するものであった。詳細には、これはBiacoreに基づく「ヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ」で試験した。このアッセイでは、単離された様々なトリプシンおよびAspN HPLCペプチド画分それぞれの存在下または非存在下における、Biacoreチップ上に固定されたヒトスクレロスチンへの特定のモノクローナル抗体の結合を測定した。いかなる競合ペプチドも存在しない場合、上記の特定のモノクローナル抗体は、チップ上のヒトスクレロスチンに結合することができ、共鳴単位、すなわちRUの反応を生み出した。溶液中の完全なヒトスクレロスチンと共に上記の特定のモノクローナル抗体をブレインキュベートし、その後、チップへの結合を試験したところ、溶液中のヒトスクレロスチンへのMabの結合によって、チップ上のヒトスクレロスチンへのMabの結合が阻止されることが実証された。したがって、これにより、この競合アッセイの一般原理が確認された。

40

【0463】

各ペプチドについて、この一般手順を個別に繰り返した。活発なRU反応は、試験された

50

特定のペプチドが、溶液中のMabに結合できなかった(したがって、Mabは、チップ上に固定されたヒトスクレロスチンに自由に結合できた)ことを示すと解釈した。逆に、活発なRU反応の不在は、Mabが溶液中のスクレロスチンペプチドに結合できたことを示した。これらの結合パターンは、アイデンティティーが既知である様々なスクレロスチンペプチドと結びつき、抗スクレロスチン抗体Ab-A、Ab-B、Ab-CおよびAb-Dが結合するスクレロスチンエピトープの決定に用いられた。

【0464】

(BIAcoreに基づくヒトスクレロスチンペプチドエピトープ競合結合アッセイ)
(ヒトスクレロスチン表面の調製)

BIAcoreセンサーチップ(CM5)表面への成熟型ヒトスクレロスチンの固定化は、メーカーの指示に従って行った。簡潔には、0.2M N-エチル-N'-(ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)および0.05M N-ヒドロキシスクシニミド(NHS)を含有する混合物60 μ Lを注入することによって、センサーチップ表面のカルボキシル基を活性化させた。10mM酢酸ナトリウム、pH4.0で、ヒトスクレロスチンを濃度20 μ g/mLに希釈し、その後、活性化されたCM5の表面の上に注入した。表面の過剰な反応基は、1Mエタノールアミン60 μ Lを注入することによって非活性化させた。ヒトスクレロスチン表面の最終固定レベルは、約5000共鳴単位(Ru)であった。ブランクのニセ結合(mock-coupled)参照表面もセンサーチップ上に調製した。

【0465】

(結合特異性分析)

塩化カルシウムも塩化マグネシウムも含まない1×リン酸緩衝食塩水は、Gibco/Invitrogen社(米国カリフォルニア州カールズバッド)より入手した。ウシ血清アルブミン画分V、無IgGは、Sigma-Aldrich社(米国ミズーリ州セントルイス)より入手した。固定化されたヒトスクレロスチン表面の上に注入する前に、試料緩衝液(1×PBS + 0.005% P-20 + 0.1 mg/mL BSA)中で、各Mab(2nM)を別々に、20nMヒトスクレロスチンまたは特定のヒトスクレロスチンペプチドと共にインキュベートした(注意:AspN14.6には3本の連結されていないペプチドが存在する)。試料注入の流速は5 μ L/分であった。その後、1M NaClを含有する8mMグリシン、pH2.0、30 μ L/分、30秒間を用いて表面再生を行った。データは、BIAevaluation 3.2を用いて分析した。これは、図15(Ab-A)、図16(Ab-B)、図17(Ab-C)、および図18(Ab-D)に示されている。

【0466】

(ループ2およびT20.6エピトープ)

2種の代表的抗体(Ab-AおよびAb-B)のスクレロスチンペプチド結合パターンは、事実上同一であり(図15および図16)、これらの抗体は両方とも、AspN22.7-23.5ペプチドのみに結合できたことを示した。AspN22.7-23.5と、他のすべてのスクレロスチンペプチドとの間にある特異な相違は、AspN22.7-23.5が完全なループ2を含有していることである。これは、Ab-AおよびAb-Bがスクレロスチンのループ2領域に結合することを示し、したがって、そのループ2エピトープを画定する(図19A)。Ab-CおよびAb-Dのスクレロスチンペプチド結合パターンは、事実上相互に同一であるが(図17および図18)、Ab-AおよびAb-Bで見出されるものとは完全に異なる。この実施例で試験されたペプチドの中では、Ab-CおよびAb-Dが結合できた最も小さいペプチドはT20.6ペプチドであった。この結果はT20.6エピトープを画定する(図19B)。

【0467】

(プロテアーゼ防御アッセイ)

このアッセイの一般的原理は、Mabがスクレロスチンに結合する結果として、特定の特異的プロテアーゼ切断部位の防御がもたらされることがあるというものであり、この情報は、Mabが結合するスクレロスチンの領域を決定するのに使用できる。

【0468】

(「T20.6誘導体1(シスチンノット+アーム4本)」エピトープ)

図20は、ヒトスクレロスチンAb-D複合体(図20A:上述の通りトリプシンで消化する前に

10

20

30

40

50

、ヒトスクレロスチンをAb-Dと共に1:1のモル比でブレインキュベートした)およびヒトスクレロスチンのみ(図20B: ヒトスクレロスチンは上述の通りトリプシンで消化した)のHPLCペプチドマップを示す。図20Bと比較して、図20AにおけるT19.2およびT20.6のペプチドピークは、それらの各ピークの高さの明確な低下を示した。このピーク高の低下には、ペプチドT20およびT21-22のピーク高の増大が伴った。これらのデータは、Ab-Dの非存在下ではトリプシンによって切断されて、ペプチドT19.2およびT20.6を生成した、ループ1およびループ3における塩基性アミノ酸残基が、スクレロスチンにAb-Dが予め結合した場合、トリプシンによる切断に対して抵抗性であったことを示す。T20、T20.6、およびT21-22の存在は、スクレロスチンにAb-Dが予め結合した場合でも、依然として、ループ2が効率的に切断されたことを示す。これらのデータは、T20.6エピトープのループ1およびループ3側でAb-Dが結合したことを示し、したがって、図21に示す通り、より小さな「T20.6誘導体1(シスチンノット+アーム4本)」エピトープを画定する。

10

【実施例 5】

【0469】

(マウスにおける抗スクレロスチンモノクローナル抗体のin vivo試験)

週齢4週間のBDF1オスマウスをCharles River Laboratories社(米国ノースカロライナ州ローリー)から入手し、清潔なケージの中で、1ケージあたり5匹の動物を飼育した。室温は68から72°Fの間に維持し、相対湿度は34から73%での間に維持した。ケージを収容している実験室は、12時間の明暗サイクルを有し、すべてのAAALAC規定を満たしていた。試験している全マウスの臨床知見は毎日1回みた。

20

【0470】

精製された抗スクレロスチンモノクローナル抗体(Ab-A 図1; Ab-B 図2; Ab-C 図3; Ab-D 図4)を、無菌のダルベッコリン酸緩衝生理食塩水で希釈した。グラム体重あたり21 μ lの抗スクレロスチン抗体またはPBS媒体を、25mg/kg、1週間に2回(月曜日および木曜日)マウスに皮下注射した。ヒトPTH(1-34)を、PTH緩衝剤(0.001N HCl、0.15M NaCl、2% BSA)中に希釈し、陽性対照として、1週間に5回(月曜日、火曜日、水曜日、木曜日、金曜日)、グラム体重あたり21 μ l、100 μ g/kg皮下投与した(図5および6)。1群あたりのマウスの数は、図5および6においてN=5、図7においてN=6であった。

【0471】

(PIXImus in vivo骨密度測定)

30

骨密度(BMD)は、GE/Lunar Medical Systems社製(米国ウィスコンシン州マディソン)のPIXImus2システムを用いて、末梢二重エネルギーX線吸収測定法(pDEXA)によって、脛骨近位骨幹端部および腰椎で毎週測定した。25mm²の、対象とする領域(ROI)の1つは、脛骨骨幹端の近位関節面、骨端、および近位端部を含む位置とした。対象とする領域(ROI)の1つは、腰椎(L1-L5)を含む位置とした。全骨密度を測定するために、近位脛骨および腰部を分析した。群平均は、±標準偏差で報告し、統計分析のために媒体治療群と比較した。

【0472】

(統計分析)

統計分析は、ダンネット(Dunnett)法およびターキー-クレーマー(Tukey-Kramer)法を用いて行った(BMDデータにはMS ExcelおよびJMP v. 5.0を用いた)。各データセットの群平均は、P値が0.05未満であった(P < 0.05)場合に、有意に異なるものとした。

40

【0473】

(抗体のスクレロスチン中和活性)

Ab-A(図5)、Ab-B(図5)、Ab-C(図6)、およびAb-D(図7)のそれぞれで見られた、媒体と比較して統計的に有意なBMDの増大によって、これら4種の抗体がスクレロスチン中和抗体であることが実証された。さらに、このデータは、マウススクレロスチンに結合する抗スクレロスチン抗体に関して、上述のマウス治療および分析を、スクレロスチン中和抗体を同定するのに使用できることを示す。

【実施例 6】

【0474】

50

(抗体がヒトスクレロスチンに結合するのをブロックする抗体を得るためのスクリーニングアッセイ)

標準的なアミンカップリング化学を用いて、スクレロスチンをCM5 Biacoreチップに結合させ、スクレロスチンコーティングされた表面を作製した。300共鳴単位のスクレロスチンを表面に結合させた。

【0475】

試験混合物を生成させるために、試験するべき抗体を、HBS-EP緩衝剤(10mM HEPES pH7.4、150mM NaCl、3mM EDTA、0.005% (v/v) 界面活性物質P20)中に濃度200 µg/mlに希釈し、次にモル比1対1(結合部位ベースで)で混合した。したがって、この試験混合物は、各抗体を濃度100 µg/mlで含有していた(結合部位ベースで1.3 µM)。試験混合物中の各抗体を単

10

【0476】

20 µLの試験混合物に、流速10 µL/分でスクレロスチンコーティングされたチップ上を通過させ、結合した量を記録した。その後、結合したすべての抗体を除去するために、30 mM HClの60秒パルス2回でチップを処理した。その後、試験混合物と同じ方法で、試験混合物の抗体のうち1種のみを含有する溶液(試験混合物と同じ緩衝剤中に結合部位ベースで1.3 µM)にチップ上を通過させ、結合した総量を記録した。結合したすべての抗体を除去するために、チップを再び処理し、最後に、試験混合物のもう一方の抗体を単独で含有する溶液(試験混合物と同じ緩衝剤中に結合部位ベースで1.3 µM)にチップ上を通過させ、結合した総量を記録した。

20

【0477】

下記の表は、様々な異なった抗体の交差阻止アッセイの結果を示す。表の各四角中の値は、表の最上行に示す抗体(結合部位ベースで1.3 µM)または緩衝剤を、表の第1列に示す抗体(結合部位ベースで1.3 µM)または緩衝剤と混同した際に見られた結合量(RU)を表す。

【表2】

	緩衝剤	Ab-4	Ab-13	Ab-A	Ab-3	Ab-19
緩衝剤	-0.5	693	428.5	707.3	316.1	649.9
Ab-4	687.7	795.1	1018.2	860.5	869.3	822.5
Ab-13	425.6	1011.3	442.7	1108.4	431.9	1042.4
Ab-A	692.4	833.1	1080.4	738.5	946.2	868.1
Ab-3	305.5	845.1	428.2	952.2	344.4	895.7
Ab-19	618.1	788.6	1022.5	863.3	891.5	658.7

30

【0478】

上表中の抗体の組合せそれぞれの平均結合値(RUの値)を用いて(各組合せが2回現れるので)、抗体の組合せそれぞれが示した理論上の結合率を計算することが可能である。理論上の結合は、単独(すなわち抗体および緩衝剤)でアッセイした際の、各試験混合物成分の平均値の合計として計算する。

【表3】

	緩衝剤	Ab-4	Ab-13	Ab-A	Ab-3	Ab-19
緩衝剤						
Ab-4			90.75	60.45	85.4	60.75
Ab-13				96.9	58.0	97.0
Ab-A					93.5	65.0
Ab-3						94.4
Ab-19						

40

【0479】

上記データから、Ab-4、Ab-A、およびAb-19が相互に交差阻止することが明らかである

50

。同様に、Ab-13およびAb-3も相互に交差阻止する。

【実施例 7】

【0480】

(ELISAに基づく交差阻止アッセイ)

この実施例で使用される液体容積は、96ウェルプレートELISAで通常使用されるものであろう(例えば、50~200 μ l/ウェル)。この実施例におけるAb-XおよびAb-Yは、約145Kdの分子量を有し、かつ抗体分子あたり2カ所のスクレロスチン結合部位を有するものとする。96ウェルELISAプレート[例えば、Corning社96ウェルEIA/RIA平底マイクロプレート(製品番号3590)、Corning社(米国マサチューセッツ州アクトン)]に、少なくとも1時間抗スクレロスチン抗体(Ab-X)をコーティングする(例えば1 μ g/mlを50 μ l)。このコーティングステップ後、抗体溶液を除去し、洗浄溶液(例えばPBSおよび0.05% Tween20)で、プレートを1回または2回洗浄し、その後、適切なブロッキング溶液(例えば、PBS、1% BSA、1%ヤギ血清、および0.5% Tween20)および当技術分野で知られている手順を用いてブロッキングを行う。その後、ELISAプレートからブロッキング溶液を除去し、ELISAプレートの適切なウェルに、過剰量(例えば10 μ g/mlを50 μ l)の第2の抗スクレロスチン抗体(Ab-Y)を含むブロッキング溶液を添加する。Ab-Yは、コーティングされた抗体を交差阻止するその能力が試験される抗体である。この後に、適切なウェルに、限定された量のスクレロスチン(例えば10ng/mlを50 μ l)を含むブロッキング溶液を添加し、プレートを、振盪させながら、室温で少なくとも1時間インキュベートする。その後、洗浄溶液でプレートを2~4回洗浄する。ELISAプレートに適切な量のスクレロスチン検出試薬[例えば適切な量のストレプトアビジン-ホースラディッシュペルオキシダーゼ(HRP)結合体と予め複合体形成させたビオチン化抗スクレロスチンポリクロナル抗体]を含むブロッキング溶液を添加し、室温で少なくとも1時間インキュベートする。その後、洗浄溶液でプレートを少なくとも4回洗浄し、適切な試薬で発色させる[例えば、TMB(比色分析)または様々なHRPルミネッセンス基質などのHRP基質]。アッセイのバックグラウンドシグナルは、コーティングされた抗体(この場合Ab-X)、第2の溶液相抗体(この場合Ab-Y)、スクレロスチン緩衝剤のみ(すなわちスクレロスチンなし)、およびスクレ

ロスチン検出試薬を含有するウェルで得られたシグナルと定義する。アッセイの陽性対照シグナルは、コーティングされた抗体(この場合Ab-X)、第2の溶液相抗体緩衝剤のみ(すなわち第2の溶液相抗体なし)、スクレロスチン、およびスクレロスチン検出試薬を含有するウェルで得られたシグナルと定義する。ELISAアッセイは、陽性対照シグナルがバックグラウンドシグナルの少なくとも6倍となるような方法で行う必要がある。

【0481】

コーティング抗体としてどの抗体を用いるか、そして第2の(競合体)抗体としてどの抗体を用いるかに関する選択の結果として生じるいかなる人為的結果(例えば、Ab-XとAb-Yとの間で有意に異なる、スクレロスチンへの親和性)も回避するために、交差阻止アッセイは、以下の2通りのフォーマットで行う必要がある：

1) フォーマット1は、Ab-Xが、ELISAプレートにコーティングされる抗体であり、Ab-Yが、溶液中にある競合体抗体である場合である。

そして、

2) フォーマット2は、Ab-Yが、ELISAプレートにコーティングされる抗体であり、Ab-Xが、溶液中にある競合体抗体である場合である。

【0482】

Ab-XおよびAb-Yは、フォーマット1またはフォーマット2において、溶液相抗スクレロスチン抗体が、溶液相抗スクレロスチン抗体の非存在下で得られたスクレロスチン検出シグナル(すなわち陽性対照ウェル)と比較して、スクレロスチン検出シグナル(すなわちコーティングされた抗体が結合したスクレロスチンの量)の60%から100%、詳細には70%から100%の間、そしてより特異的には80%から100%の間の減少を引き起こすことができる場合、交差阻止すると定義する。

【0483】

N末端Hisタグ付きスクレロスチン(R&D Systems社、米国ミネソタ州ミネアポリス;2005年カタログ番号1406-ST-025)など、スクレロスチンのタグ付きバージョンをELISAで用いる場合、適切なタイプのスクレロスチン検出試薬は、抗His抗体で標識されたHRPを含むであろう。N末端Hisタグ付きスクレロスチンの使用に加えて、C末端Hisタグ付きスクレロスチンも使用できるであろう。さらに、当技術分野で知られている他の様々なタグおよびタグ結合タンパク質の組合せ(例えば、HAタグと抗HA抗体;FLAGタグと抗FLAG抗体;ビオチンタグとストレプトアビジン)を、このELISAに基づく交差阻止アッセイに用いることもできるであろう。

【実施例 8】

【0484】

(スクレロスチン活性をアンタゴナイズできる薬剤を同定するための、細胞に基づく石灰化アッセイ)

(イントロダクション)

初代細胞でも株化細胞でも、培養中での骨芽細胞系細胞による石灰化が、骨形成の*in vitro*モデルとして使用されている。石灰化は、1つまたは複数の分化薬剤による骨芽細胞系細胞分化の誘導で始まり、起こるまでに約1~6週間かかる。事象の全体的筋道には、細胞増殖、分化、細胞外マトリックス産生、マトリックス成熟、および最後にミネラルの沈着が含まれる。ミネラルの沈着は、リン酸カルシウムの結晶化および/または沈着を指す。細胞増殖および分化から始まり、ミネラルの沈着で終わる事象のこの筋道は、本明細書では石灰化という。カルシウム(ミネラル)の測定がこのアッセイの結果である。

【0485】

ミネラルの沈着は、ひとたびミネラル「種子(seed)」の形成が開始されれば、培養物全体で沈着されるであろうミネラルの総量の沈着が、時には、その後数日以内など、極めて迅速に起こりうるという強い生物物理学的特徴を有する。培養におけるミネラル沈着のタイミングおよび程度は、部分的に、使用される特定の骨芽細胞系細胞/培養細胞株、増殖状態、分化薬剤の選択、および細胞培養培地で使用された特定のロット番号の血清の影響を受ける。骨芽細胞系細胞/培養細胞株石灰化培養には、石灰化が起こるのを可能にする特定の血清ロットを特定するために、複数の供給業者からの少なくとも8からの15の血清ロットを試験するべきである。

【0486】

MC3T3-E1細胞(Sudo Hら、*In vitro differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria*. J. Cell Biol. 96:191~198頁)およびオリジナルの細胞系のサブクローンは、分化薬剤の存在下における増殖の際、培養中でミネラルを形成することができる。そのようなサブクローンには、MC3T3-E1-BFが含まれる(Smith E, Redman R, Logg C, Coetzee G, Kasahara N, Frenkel B. 2000. Glucocorticoids inhibit developmental stage-specific osteoblast cell cycle. J Biol Chem 275:19992~20001頁)。

【0487】

(スクレロスチン中和抗体の同定)

石灰化アッセイには、MC3T3-E1-BF細胞を用いた。ミネラル沈着へと導くMC3T3-E1-BF細胞分化を誘導するのに、アスコルビン酸およびB-グリセロリン酸を用いた。96ウェルフォーマットにおける、特定のスクリーニングプロトコールは、水曜日における細胞のプレティングと、その後12日間にわたる7回の培地交換(さらに下に記載)とを含み、ミネラル沈着のほとんどは最後の約18時間(例えば日曜日の夜から月曜日まで)のうちに起こる。いずれの所与の処置にも、3ウェルが使用された(N=3)。ミネラル沈着の特定のタイミングおよび程度は、部分的に、使用される特定の血清ロット番号に応じて変動し得る。そのような可変性は、細胞培養実験分野一般でよく知られている通り、対照実験によって説明が可能となるであろう。

【0488】

このアッセイシステムにおいて、スクレロスチンは、ミネラル沈着に至るまで事象およ

10

20

30

40

50

びミネラル沈着を含めた事象のうちの1つまたは複数を阻害した(すなわちスクレロスチンは石灰化を阻害した)。スクレロスチンの阻害活性を中和できた抗スクレロスチン抗体は、スクレロスチン存在下での培養の石灰化を可能にし、そのため、スクレロスチンのみ(すなわち抗体なし)の処置群で測定されたカルシウム量と比較して、リン酸カルシウム(カルシウムとして測定)の沈着の統計的に有意な増大があった。統計分析(MS ExcelおよびJMPを使用)には、群相互の相違を判定するのに、一元配置分散分析と、それに続くダンネット(Dunnett)比較法とを用いた。各データセットの群平均は、P値が0.05未満であった($P < 0.05$)場合に、有意に異なるものとした。このアッセイ実施の代表的結果を図22に示す。組換え体マウススクレロスチンの非存在下では、ミネラル沈着を含めた、それへと至る事象の筋道が正常に進行した。各処置群におけるカルシウムレベルは、平均±標準誤差(SEM)として示されている。この例示的実験では、カルシウムアッセイで得たカルシウムレベルは約31 $\mu\text{g/ml}$ であった。しかし、組換え体マウススクレロスチンの添加によって、石灰化の阻害が引き起こされ、カルシウムは約85%減少した。組換え体スクレロスチンと共に組換え体抗スクレロスチンモノクローナル抗体Ab-19またはAb-4を添加すると、いずれかの抗体によってスクレロスチンの阻害活性が中和されたため、スクレロスチンのみの群と比較して、ミネラル沈着の統計的に有意な増大がもたらされた。この実験からの結果は、Ab-19およびAb-4がスクレロスチン中和モノクローナル抗体(Mab)であることを示す。

【0489】

図23は、組換え体ヒトスクレロスチンと、2種のヒト化抗スクレロスチンMabとを用いた極めて類似した結果を示す。図24も、組換え体ヒトスクレロスチンと、示したマウスおよびヒト化抗スクレロスチンMabとを用いた極めて類似した結果を示す。

【0490】

図22、23、および24に示した実験で使用した抗体は、約145Kdの分子量を有し、抗体分子あたり2カ所のスクレロスチン結合部位を有する。

【0491】

詳細なMC3T3-E1-BF細胞培養プロトコールを以下に記載する。

【表4】

試薬および培地

試薬	会社	カタログ番号
α -MEM	Gibco-Invitrogen社	12571-048
アスコルビン酸	Sigma社	A4544
β -グリセロリン酸	Sigma社	G6376
100×PenStrepGlutamine	Gibco-Invitrogen社	10378-016
ジメチルスルホキシド(DMSO)	Sigma社	D5879またはD2650
ウシ胎児血清(FBS)	Cansera社	CS-C08-500 (lot # SF50310)
ウシ胎児血清(FBS)	TerraCell社	CS-C08-1000A (lot # SF-20308)

【0492】

α -MEMは、通常、1年間の有効期限で製造されている。細胞培養には、製造期日後6カ月より古くない α -MEMは用いた。

【0493】

増殖培地(α -MEM/10%FBS/PenStrepGlu)は以下の通りに調製した。FBSの500mlボトルを解凍し、0.22ミクロンフィルターに通して濾過滅菌した。このFBS100mlを1リットルの α -MEMに添加し、その後、100×PenStrepGlutamine 10mlを添加した。未使用のFBSは分注し、後の使用のために再冷凍した。

【0494】

分化培地(α -MEM/10% FBS/PenStrepGlu + 50 $\mu\text{g/ml}$ アスコルビン酸 + 10mM β グリセロ

リン酸)は、以下の通りに調製した。

100mlの分化培地は、100mlの増殖培地に、以下の通りのアスコルビン酸およびβグリセロリン酸を補足することによって調製した。

【表 5】

	保存濃度	容積	最終濃度
	(下記参照)		
アスコルビン酸	10 mg/ml	0.5 mls	100 μg/ml (50ug/ml + 50 μg/ml)
β-グリセロリン酸	1 M	1.0 mls	10 mM

10

【0495】

分化培地は、分化培地を細胞培養に用いることになっている日にのみ増殖培地に補足することによって作製した。α-MEMには既に50 μg/mlのアスコルビン酸が含有されているので、分化培地中のアスコルビン酸最終濃度は100 μg/mlである。アスコルビン酸保存液(10 mg/ml)を作製して、-80℃での冷凍用に分注した。各アリコートは、1回のみ使用した(すなわち再冷凍しない)。βグリセロリン酸保存液(1M)を作製し、-20℃での冷凍用に分注した。各アリコートは、最多で5回まで冷凍および解凍を行い、その後廃棄した。

【0496】

(MC3T3-E1-BF細胞を増殖させるための細胞培養)

20

細胞培養は、37℃、5% CO₂で行った。スクレロスチン中和抗体を得るためのスクリーニングを目的として、細胞バンクを作製した。細胞バンクは以下の通りに作製した。

【0497】

1バイアルの冷凍MC3T3-E1-BF細胞を37℃のウォーターバス中で撹拌することによって解凍した。解凍した細胞を、50ml管の中の増殖培地(α-MEM/10% FBS/PenStrepGlu) 10mlに入れ、穏やかに5分間、遠心分離した。その後、細胞を4mlのα-MEM/10%FBS/PenStrepGlu中に再懸濁した。トリパンプルーおよび血球計算板を用いて細胞数を測定した後、T175フラスコ中のα-MEM/10% FBS/PenStrepGlu培地50ml中に1×10⁶細胞を播種した。

【0498】

この継代培養物が集密状態になったとき(約7日目)、トリプシン/EDTA(0.05%トリプシン;0.53mM EDTA)を用いて、細胞にトリプシン処理を施し、穏やかに5分間、遠心沈殿させ、その後、5mlのα-MEM/10% FBS/PenStrepGlu中に再懸濁した。トリパンプルーおよび血球計算板を用いて細胞数を測定した後、T175フラスコ中のα-MEM/10%FBS/PenStrepGlu培地50ml中に1×10⁶細胞を播種した。この時点で播種に用いられたT175フラスコ数は、利用可能な総細胞数と、次の継代に進むことになっている所望のフラスコ数とに依存する。余分な細胞は、90% FBS/10% DMSO中に1~2×10⁶生細胞/mlで冷凍した。

30

【0499】

この継代培養物が集密状態になったとき(3~4日目ごろ)、トリプシン/EDTA(0.05%トリプシン;0.53mM EDTA)を用いて、細胞にトリプシン処理を施し、穏やかに5分間、遠心沈殿させその後、5mlのα-MEM/10%FBS/PenStrepGlu中に再懸濁した。トリパンプルーおよび血球計算板を用いて細胞数を測定した後、T175フラスコ中のα-MEM/10%FBS/PenStrepGlu培地50ml中に1×10⁶細胞を播種した。この時点で播種に用いられたT175フラスコ数は、利用可能な総細胞数と、次の継代に進むことになっている所望のフラスコ数とに依存する。余分な細胞は、90%FBS/10%DMSO中に1~2×10⁶生細胞/mlで冷凍した。

40

【0500】

この継代培養物が集密状態になったとき(3~4日目ごろ)、トリプシン/EDTA(0.05%トリプシン;0.53mM EDTA)を用いて、細胞にトリプシン処理を施し、穏やかに5分間、遠心沈殿させその後、5mlのα-MEM/10%FBS/PenStrepGlu中に再懸濁した。トリパンプルーおよび血球計算板を用いて細胞数を測定した後、T175フラスコ中のα-MEM/10%FBS/PenStrepGlu培地50ml中に1×10⁶細胞を播種した。この時点で播種に用いられたT175フラスコ数は、利

50

用可能な総細胞数と、次の継代に進むことになっている所望のフラスコ数とに依存する。余分な細胞は、90%FBS/10%DMSO中に $1\sim 2\times 10^6$ 生細胞/mlで冷凍した。

【0501】

この継代培養物が集密状態になったとき(3~4日目ごろ)、トリプシン/EDTA(0.05%トリプシン;0.53mM EDTA)を用いて、細胞にトリプシン処理を施し、穏やかに5分間、遠心沈殿させその後、5mlの α -MEM/10%FBS/PenStrepGlu中に再懸濁した。トリパンプルーおよび血球計算板を用いて細胞数を測定した後、細胞を、90%FBS/10%DMSO中に $1\sim 2\times 10^6$ 生細胞/mlで冷凍した。この「最終継代培養物」の冷凍細胞が、スクリーニングアッセイに使用された継代培養物であった。

【0502】

(MC3T3-E1-BF細胞を石灰化させるための細胞培養)

細胞培養は、37℃、5%CO₂で行った。石灰化細胞培養手順中、温度および% CO₂の変動は最小限にすることが望ましい。これは、培地を与える間にプレートがインキュベーターの外にある時間を最小にすることによって、そして、石灰化細胞培養手順中にインキュベーターのドアを開閉する回数を最小限にすることによって実現できる。この点で、排他的に石灰化細胞培養専用を用いる組織培養インキュベーターを有する(そしてそれゆえ、必要以上に開閉しない)ことは有用でありうる。

【0503】

上述の通りに調製した適切な数の「最終継代培養物」バイアルを、37℃のウォーターバス中で攪拌しながら解凍した。解凍した細胞を、50ml管の中の増殖培地(α -MEM/10%FBS/PenStrepGlu)10mlに入れ、穏やかに5分間、遠心分離した。その後、細胞を4mlの α -MEM/10%FBS/PenStrepGlu中に再懸濁した。トリパンプルーおよび血球計算板によって細胞数を測定した後、2500の細胞を、コラーゲンIコーティングされた96ウェルプレート(Becton Dickinson Labware社、カタログ番号354407)上、1ウェルあたり200 μ lの増殖培地中に播種した。

【0504】

石灰化プレートのエッジ効果を回避するために、プレートの全周にわたって最も外側の行/列にはプレーティングしなかった。その代わり、これらのウェルには200 μ lのPBSを添加した。

【0505】

(例示的細胞培養手順)

以下の手順では、細胞を播種する開始日が水曜日であるものとして示してある。細胞を播種する開始日として週の異なった曜日を用いる場合には、その日を引き金として、以下に示す全過程における培地の除去および添加の日程が計画されるであろう。例えば、細胞を火曜日に播種する場合には、最初の金曜日および土曜日にも、第2の金曜日および土曜日にも、培地の除去および添加をするべきではない。火曜開始の場合、カルシウムアッセイ用のプレートは最終日曜日に調製されるであろう。

【0506】

水曜日に、2500の細胞を200 μ lの増殖培地中に播種した。

木曜日に、すべての増殖培地を除去し、200 μ lの分化培地を添加した。

金曜日に、100 μ lの培地を除去し、100 μ lの新たな分化培地を添加した。

月曜日に、100 μ lの培地を除去し、100 μ lの新たな分化培地を添加した。

火曜日に、100 μ lの培地を除去し、100 μ lの新たな分化培地を添加した。

水曜日に、100 μ lの培地を除去し、100 μ lの新たな分化培地を添加した。

木曜日に、100 μ lの培地を除去し、100 μ lの新たな分化培地を添加した。

金曜日に、100 μ lの培地を除去し、100 μ lの新たな分化培地を添加した。

その後の月曜日に、カルシウムアッセイ用のプレートを以下の通りに調製した。

10mM トリス、HCl pH7-8でプレートを1回洗浄した。

ヒュームフードの下で作業し、ウェルあたり200 μ lの0.5N HClを添加した。その後、プレートを-80℃で冷凍した。

10

20

30

40

50

【0507】

カルシウムを測定する直前に、プレートに2回凍結解凍し、その後、プレートの内容物を分散させるために、マルチ-チャンネルピペットによる摩砕を用いた。その後、4℃に30分間、プレートの内容物が定着するままにした。この時点で、市販のカルシウムキットを用いたカルシウム測定用に、適切な量の上清を取り出した。限定的ではない例示的キットの1つがカルシウム(CPC) Liquicolor (カタログ番号0150-250、Stanbio Laboratory社、米国テキサス州ボルネ(Boerne))である。

【0508】

この細胞に基づくアッセイでは、ミネラル沈着に至るまで事象およびミネラル沈着を含めた事象のうちの1つまたは複数を、スクレロスチンが阻害する(すなわちスクレロスチンは石灰化を阻害する)。したがって、特定の細胞培養実験にスクレロスチンが含まれている実験では、最初の日曜日およびその後の培地添加日毎に開始する培地に組換え体スクレロスチンを添加した。スクレロスチンを中和する能力に関して、抗スクレロスチンモノクローナル抗体(Mab)を試験する場合、すなわち、石灰化を阻害するスクレロスチンの能力を中和することによって、石灰化を可能にする場合には、最初の日曜日およびその後の培地添加日毎に開始する培地にMabを添加した。このプロトコールによれば、これは以下の通りに実現された。すなわち、分化培地中でMabを組換え体スクレロスチンと共に45~60分間、37℃でプレインキュベートし、その後、細胞を培養するのにこの培地を用いた。

【0509】

上述したものは、MC3T3-E1-BF細胞用の12日間石灰化プロトコールである。同じ試薬および培地添加プロトコールを用いて、オリジナルのMC3T3-E1細胞(Sudo H, Kodama H-A, Amagai Y, Yamamoto S, Kasai S. 1983. *In vitro* differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria. *J Cell Biol* 96:191~198頁)は、石灰化に、MC3T3-E1-BF細胞より長期間(石灰化に合計20日間)を費やした。MC3T3-E1細胞は、理化学研究所細胞バンク(RCB1126、〒305-0074 茨城県つくば市高野台3-1-1、理化学研究所バイオリソースセンター)から発明者らが入手した。オリジナルのMC3T3-E1細胞の石灰化は、組換え体スクレロスチンによって阻害され、この阻害は、スクレロスチン中和抗体を用いてブロックされた。

【実施例9】

【0510】

(抗スクレロスチン抗体は、SCIDマウスにおける大腸炎のCD4⁺CD45RB^{HI} 移入モデルで、炎症で誘導される骨量減少から防御する)

(モデルの概要)

CD4⁺T細胞のCD45RB^{high}サブセットをC.B-17 scidマウスに注入すると、その結果、ヒト炎症性腸疾患(IBD)の特徴に類似した特徴を有する慢性腸炎が起こる。細胞移入の3~5週間後に、上皮細胞過形成および肉芽腫形成を伴う大腸への重度の白血球浸潤と共に、下痢および消耗性疾患が見出される。相互的なサブセットのCD4⁺細胞、すなわちCD45RB^{low}を発現するものを受容したC.B-17 scidマウスは、大腸炎を示さず、非注入のscidマウスから区別できない増量を有する。大腸炎の症候に加えて、大腸炎のCD4⁺CD45RB^{high} T細胞移入モデルには、骨密度(BMD)の低下が伴う。これは、飼料の消化不良ではなく、主として炎症機構を介したものであると考えられている(Byrne, F. R.ら、*Gut* 54:78~86頁、2005)。

【0511】

(大腸炎の誘導および炎症で誘導される骨量減少)

メスのbalb/cマウスから脾臓を採取し、70 μmの細胞濾過器に通して破碎した。その後、B220に対する抗体であるMAC-1、CD8、およびI-A^dを使用し、Dynabeadsを用いたネガティブ選択によって、CD4⁺集団を濃縮した。その後、濃縮された集団をFITC結合抗CD4およびPE結合抗CD45RBで染色し、Moflo (Dakocytomation社)における2色選別によって、CD4⁺CD45RB^{high}集団とCD4⁺CD45RB^{low}集団とに分画した。CD45RB^{high}集団およびCD45RB^{low}集団は、それぞれ最も明るい染色40%および最も暗い染色20%のCD4⁺細胞として定義した。その

後、0日目に、 5×10^5 の細胞をC.B-17 scidマウスに腹腔内注射し、大腸炎の発症を、軟便または下痢および体重減の出現を通してモニターした。検査の終了時(88日目)に骨密度測定を行った。

【0512】

(大腸炎症候およびBMDへの抗スクレロスチン処置の影響)

CD4+CD45RB^{high}細胞移入の前日から、Ab-A IgGを10mg/kg皮下投与し、陰性対照抗体101.4を受容したマウスと比較した。陰性対照抗体も10mg/kgで皮下投与した。抗体は、その後、毎週投与した。非病原性のCD4+CD45RB^{low}細胞を受容し、かつ10mg/kgの101.4を投与された1群のマウスを対照として検査した。検査の終了時(88日目)に骨密度を測定し、細胞浸潤の分析および組織学的損傷の評価のために、大腸の切片を採取した。

10

【0513】

a)大腸炎症候には無影響

体重減および大腸への炎症細胞の浸潤など、典型的な大腸炎症候は、Ab-Aを用いた処置の影響を受けなかった。同様に、Ab-Aで処置した後に、大腸への組織学的な損傷の改善はなかった。

【0514】

b)炎症で誘導される骨密度低下の阻害

C.B-17 scidマウスへの細胞移入後88日目に、骨密度を測定した(全BMD、脊椎骨BMD、および大腿骨BMD)。図25に示す通り、CD4+CD45RB^{low}非病原性細胞を受容した対照マウスと比較して、CD4+CD45RB^{high} T細胞および陰性対照抗体101.4を受容したマウスでは、骨密度が低下した。対照的に、Ab-Aで処置した後には、BMDの低下が見出されなかった。CD4+CD45RB^{high} T細胞を受容し、かつAb-Aで処置されたマウスにおける全体、脊椎骨、および大腿骨BMDの測定値は、CD4+CD45RB^{high} T細胞を受容し、かつ101.4で処置されたマウスより有意に高かった(ボンフェローニ多重比較検定によると $P < 0.001$)。

20

【実施例10】

【0515】

(ヒトスクレロスチンに対する抗スクレロスチン抗体の親和性(K_D)のKINEXAに基づく測定)

ヒトスクレロスチンに対するいくつかの抗スクレロスチン抗体の親和性を、KinExA(登録商標)3000(Sapidyne Instruments社、米国アイダホ州ボイシ)を用いた溶液平衡結合分析によって評価した。これらの測定には、Reacti-Gel 6xビーズ(Pierce社、米国イリノイ州ロックフォード)を、 $40 \mu\text{g/ml}$ のヒトスクレロスチンを含む $50\text{mM Na}_2\text{CO}_3$ pH9.6で、 4°C で終夜プレコーティングした。その後、 1mg/ml BSAを含む 1M トリス塩酸pH7.5で、 4°C で2時間、ビーズのブロッキングを行った。 10pM 、 30pM 、または 100pM の抗体を、濃度 0.1pM から 1nM まで及ぶ様々な濃度のヒトスクレロスチンと混同し、 0.1mg/ml BSAおよび 0.005% P20を含むPBS中で、8時間超の間、室温で平衡化させた。その後、この混合物に、ヒトスクレロスチンコーティングされたビーズ上を通過させた。ビーズ結合の抗スクレロスチン抗体の量を、それぞれマウスまたはヒト抗体試料用に蛍光Cy5標識のヤギ抗マウスIgGまたは蛍光Cy5標識のヤギ抗ヒトIgG抗体(Jackson Immuno Research社、米国ペンシルベニア州ウェストグローブ(West Grove))を用いて定量化した。測定された蛍光シグナルの量は、平衡にある各反応混合物中の遊離抗スクレロスチン抗体の濃度に比例していた。解離平衡定数(K_D)は、KinExA Proソフトウェア中に提供されているn曲線1部位均質結合モデルを用いて、競合曲線の非線形回帰から得た。選択された抗体のKinExAアッセイの結果を以下の表に要約する。

30

40

【表 6】

抗体	抗原	K _D (pM)	95%信頼区間
Ab-13	ヒトスクレロスチン	0.6	0.4 ~ 0.8 pM
Ab-4	ヒトスクレロスチン	3	1.8 ~ 4 pM
Ab-19	ヒトスクレロスチン	3	1.7 ~ 4 pM
Ab-14	ヒトスクレロスチン	1	0.5 ~ 2 pM
Ab-5	ヒトスクレロスチン	6	4.3 ~ 8 pM
Ab-23	ヒトスクレロスチン	4	2.1 ~ 8 pM

10

【実施例 11】

【0516】

(ヒトスクレロスチンに対するヒト化抗スクレロスチン抗体の親和性を測定するBIAcore法)

BIAcore技術は、生物分子間の結合を、実時間で、かつ標識化の必要なしにモニターする。相互作用物の一方は、リガンドと呼ばれ、直接固定化されるか、もしくは固定化された表面に捕捉され、もう一方は、分析物と呼ばれ、溶液中で、補足された表面上を流れる。センサーは、分析物がリガンドに結合して上記表面で複合体を形成する際に、センサー表面における質量の変化を検出する。これが会合過程に対応している。解離過程は、分析物が緩衝剤によって置換除去される際にモニターされる。上記親和性BIAcoreアッセイでは、リガンドが抗スクレロスチン抗体であり、分析物がスクレロスチンである。

20

【0517】

(測定器)

Biacore (登録商標)3000、Biacore AB社、スウェーデン国ウプサラ。

【0518】

(センサーチップ)

CM5(研究グレード)、カタログ番号BR-1001-14、Biacore AB社、スウェーデン国ウプサラ。チップは4℃で保存した。

30

【0519】

(BIAnormalising溶液)

70% (w/w)グリセロール。BIAmaintenanceキット、カタログ番号BR-1002-51の一部。Biacore AB社、スウェーデン国ウプサラ。BIAmaintenanceキットは4℃で保存した。

【0520】

(アミンカップリングキット)

カタログ番号: BR-1000-50、Biacore AB社、スウェーデン国ウプサラ。

塩酸エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)。蒸留水で75mg/mLにし、200 μLアリコートで-70℃に保存した。

N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)。蒸留水で11.5mg/mLにし、200 μLアリコートで-70℃に保存した。

40

【0521】

1M塩酸エタノールアミン-NaOH pH8.5。200 μLアリコートで-70℃に保存した。

【0522】

(緩衝剤)

捕捉抗体を固定化するための作業緩衝剤:HBS-EP(0.01M HEPES pH7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.005%界面活性物質P20)。カタログ番号: BR-1001-88、Biacore AB社、スウェーデン国ウプサラ。緩衝剤は4℃で保存した。

固定化緩衝剤:アセテート5.0(10mM 酢酸ナトリウムpH5.0)。カタログ番号: BR-1003-51、Biacore AB社、スウェーデン国ウプサラ。緩衝剤は4℃で保存した。

50

結合アッセイのための作業緩衝剤:HBS-EP(0.01M HEPES pH7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.005%界面活性物質P20、カタログ番号:BR-1001-88、Biacore AB社、スウェーデン国ウプサラ)に、CMデキストラン(カタログ番号27560、Fluka BioChemika社、スイス国ブックス(Buchs))を1mg/mL添加した。緩衝剤は4°Cで保存した。

【0523】

(リガンド捕捉)

Affinipure F(ab')₂断片ヤギ抗ヒトIgG、Fc断片特異的。Jackson ImmunoResearch社(米国ペンシルバニア)カタログ番号:109-006-098。試薬は4°Cで保存した。

【0524】

(リガンド)

ヒト化抗ヒトスクレロスチン抗体Ab5、Ab14、およびAb20。

【0525】

(分析物)

組換え体ヒトスクレロスチン。アリコートで-70°Cで保存し、各アッセイ用に1回解凍した。

【0526】

(再生溶液)

40mM HClを、11.6M保存液(BDH社、英国プール(Poole)、カタログ番号:101254H)から蒸留水で希釈することによって調製した。

5mM NaOHを50mM保存液から蒸留水で希釈することによって調製した。カタログ番号: BR-1003-58、Biacore AB社、スウェーデン国ウプサラ。

【0527】

(アッセイ法)

アッセイフォーマットは、固定化された抗ヒトIgG-Fcによって抗スクレロスチン抗体を捕捉し、その後、補足された表面でスクレロスチンの力価測定を行うものであった。

手順の一例を以下に示す。

【0528】

BIA(生体分子相互作用分析)は、BIAcore3000(BIAcore AB社)を用いて行った。アミンカップリング化学を介して、Affinipure F(ab')₂断片ヤギ抗ヒトIgG、Fc断片特異的(Jackson ImmunoResearch社)を、約4000反応単位(RU)の捕捉レベルまでCM5センサーチップ上に固定化した。1mg/mLのCMデキストランを含有するHBS-EP緩衝剤(10mM HEPES pH7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.005%界面活性物質P20、BIAcore AB社)を作業緩衝剤として、10ml/分の流速で用いた。固定化された抗ヒトIgG-Fcによる捕捉のために、約5 µg/mLの抗スクレロスチン抗体10 µlの注入を用いた。抗体捕捉レベルは、通常、100~200RUであった。スクレロスチンの力価決定を、様々な濃度の捕捉抗スクレロスチン抗体上で、流速30 µL/分で行った。流速10 µL/分で、10 µLの40mM HClを2回注入し、その後、5 µLの5mM NaOHを注入することによって表面を再生させた。

【0529】

標準的手順に従ってBIAevaluationソフトウェア(バージョン3.2)を使用して、バックグラウンドを減算した結合曲線を分析した。動態パラメータは適当なアルゴリズムから決定した。

【0530】

動態データおよび計算された解離定数をTable 2に示す。

10

20

30

40

【表 7】

Table 2: スクレロシンに対する抗スクレロシン抗体の親和性

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	Kd (pM)
Ab-5	1.78E+06	1.74E-04	97.8
Ab-14	3.30E+06	4.87E-06	1.48
Ab-20	2.62E+06	4.16E-05	15.8

【実施例 12】

10

【0531】

(カニクイザルにおける抗スクレロシンモノクローナル抗体のin vivo試験)

この2カ月間の試験には、約3～5歳、メスのカニクイザル(Macaca fascicularis)33頭を用いた。この試験は以下の11群を含有した。

群1: 媒体(N=4)

群2: Ab-23(N=2、用量3mg/kg)

群3: Ab-23(N=3、用量10mg/kg)

群4: Ab-23(N=3、用量30mg/kg)

群5: Ab-5(N=3、用量3mg/kg)

群6: Ab-5(N=3、用量10mg/kg)

群7: Ab-5(N=3、用量30mg/kg)

群8: Ab-14(N=3、用量3mg/kg)

群9: Ab-14(N=3、用量10mg/kg)

群10: Ab-14(N=3、用量30mg/kg)

群11: 副甲状腺ホルモン(1-34)[PTH(1-34)] (N=3、用量10 µg/kg)

20

【0532】

すべての投与は皮下に行った。PTH(1-34)は毎日投与し、モノクローナル抗体(Mab)は2回投与した(試験の開始時に最初の投与、1カ月の時点で2回目の投与)。骨パラメータ(例えば骨密度)の評価には、試験開始の前(ベースライン値を得る)、1カ月後(Mabの2回目の投与の前)、そして最後に試験の終了時(2カ月目の時点)に、pQCT(末梢定量コンピュータ断層撮影法)およびDXA(二重エネルギーX線吸収測定法)スキャンを行った。試験終了時には、さらに分析する(例えば組織形態計測的分析)ためにサルを死体解剖した。動的組織形態計測用に、動物を蛍光色素で標識した(14、24、47、および57日目)。試験中の様々な時点[1日目の投与前(最初のMab投与の日)、1日目の投与12時間後、2日目、3日目、5日目、7日目、14日目、21日目、28日目、29日目の投与12時間後(29日目は2回目かつ最後のMab投与の日であった)、30日目、31日目、33日目、35日目、42日目、49日目および56日目]に血清を収集した。

30

【0533】

3種の骨に関連した血清生物マーカーを、以下の市販キットを用いて測定した。

オステオカルシン(OC) (DSLオステオカルシンラジオイムノアッセイキット; Diagnostic Systems Laboratories社、米国テキサス州ウェブスター)

40

I型プロコラーゲンのN末端プロペプチド(P1NP) (P1NPラジオイムノアッセイキット; Orion Diagnostica社、フィンランド国エスポー)

コラーゲンのC-テロペプチド断片I型α1鎖(sCTXI) (血清CrossLaps(登録商標) ELISA; Nordic Bioscience Diagnostics A/S社、デンマーク国ハーレフ(Herlev))。

【0534】

pQCTおよびDXAスキャンは、多数の骨格部位全体にわたって(脛骨骨幹端および骨体部、橈骨骨幹端および骨体部、大腿骨首、腰椎を含む)、様々な骨パラメータ(骨密度(BMD)および骨塩量を含む)のデータを生み出した。この骨データの分析(各動物におけるベースラインからのパーセント変化)および同化(OC、P1NP)血清生物マーカーデータ(各動物にお

50

るベースラインからのパーセント変化)は、媒体群に対して、上記の時点および各Mabの用量のいくつかにおける、いくつかのパラメータの統計的に有意な増大を明らかにした。この骨パラメータデータ、血清生物マーカーデータ、および組織形態計測的データは、上記3種のMab(Ab-23、Ab-5、およびAb-14)がカニクイザルにおいてスクレロスチンを中和できたことを示す。この活性は、Ab-23およびAb-5、特に最も高い用量(30mg/kg)で最も活発であり、骨形成の明確な増大(同化効果)と、骨の純増加(例えばBMD)とを伴った。骨パラメータおよび同化の組織形態計測的パラメータの統計的に有意な増大は、陽性対照群(PTH(1-34))でも見られた。

【0535】

様々な時点および用量で、しかし特に、Ab-23およびAb-5に関して30mg/kgで、血清骨形成マーカー(PINP、オステオカルシン)が増大した(媒体(VEH)に対して $p<0.05$)。組織形態計測的な分析は、より高用量のAb-23およびAb-5で、腰椎および近位脛骨の海綿骨中(最大5倍までの増大)、ならびに大腿骨骨幹中部の皮質内表面(最大10倍までの増大)で、骨形成率の急激な増大を明らかにした(VEHに対して $p<0.05$)。小柱骨組織厚は、腰椎において、高用量のAb-23およびAb-5で増大した($>60\%$ 、VEHに対して $p<0.05$)。試験終了時(2カ月目)までに、大腿骨頸、橈骨遠位端(Ab-23、30mg/kg)、および腰椎(Ab-5、30mg/kg)で、ベースラインからのパーセント変化として、面BMDが増大した(VEHに対して $p<0.05$)。腰椎における面BMDの増大には、脊椎強度の増大(Ab-23では脊椎最大負荷が97%増大、30mg/kg; VEHに対して $p<0.05$)が伴い、Mab投与の前における腰の面BMDのベースライン値は、すべての群にわたって統計的に同様であった。要約すると、カニクイザルにおけるスクレロスチン中和Mabの短期投与は、部分的に、骨形成、BMD、および脊椎骨強度の増大をもたらした。

【0536】

本明細書では、例示を目的として本発明の特定の実施形態を記載したが、以上から、本発明の趣旨および範囲から逸脱せずに、様々な変更を行うことができる。したがって、本発明は、添付した特許請求の範囲による以外は限定されない。本明細書で開示したすべての出版物、公開された特許出願、および特許文献を参照により本明細書に組み込む。

10

20

A.

1 AQVLTQTPAS VSAAVGGVTV INCQSSQSVY DNNHIANVQO KEGQPKLLI ☒ 1

51 YDASDIASGV PRFSSSGSG TQFTLITISGV QCADAATYIC QGAYNDVIYA

101 FGGTEVVVK RTDAAPTYSI FPFSSQLAS GGSVVCFLN NFYPKDINVK

151 WKIDGSRQN GVINSWTDQD SKDSTYSMS TLTITKDEYE RHNSYTCEAT

201 HKTSTSPIVK SFNRNEC

B.

1 QSLSESGRL VTPGTPLTIT CTASGFSLS YMMNVVQAP GEGLEWIGTI

51 DSGRTDYAS WAKGFTISR TSTMDIKMT SITTGDITARY FCARNWILWG

101 QGTLVTYSSA STKGSVYPL APCSAAQTNS MYTLGCLVKG YTFEPVTVTW

151 NSGSLSSGVH TFPVLOSDI YTLSSSVTVP SSTWPSSETV CNVAHPASST

201 KVDKIVPRD CGCKFCICTV PEVSSVFIPP PKPKDVLIT LTPKVTQVW

251 DISKDDPEVQ FSWFVDDVEV HTAQTPQREE QFNSTFRSV ELFIMHQDWL

301 NGKEFKCRVN SAAFPAPTEK TISKTKGRPK APQVTTIPPP KEQMAKDKVS

351 LTCMIDTFPP EDITVEWQVN GQPAENYKNT QPIMNTNGSY FYISKLVQK

401 SNWEAGNTFT CSVLHEGLHN HHTKSLSHS PGK

A.

1 QIVLITQSPIT VSASPCEKVT LICSSSSVS FVDWFOQKPG TSPKRWIYRT ☒ 2

51 SNLGFGEVAR FSGGSGTSH SITTSMEEAE DAATYICOOR STYPTFGAG

101 TKLEIKRADA APTVSIFPPS SEQLTSGGAS VVCFLLNNFY KDINVKWID

151 GSERQNGVL NSWTDQSDS TYSMSSTLITL TKDEYERHNS YTCEATHKTS

201 TSPTVKSFN NEC

B.

1 QVTLKESGFG ILQPSQTLISL TCSFSGFSLS TSGMGVGVIR HPSGKNLEWL

51 AHIMWDDYKR YNFKLSRLT ISKDTNSQV FLKIANVDTA DTATYICARI

101 EDFDYDEEY ANDYWGQTS VIVSSAKTTP PSVYFIAPGS AAGTNSMWTL

151 GCLVKGIFE FVTVTWNSGS LSSGVHTFPA VLQSDLYTIS SSVTFSSW

201 PSEFTVCNVA HPASSTKVDK KIVERDCGCK PCICTVPEVS SVTFPPPK

251 DVLTITLTPK VTCVVVDISK DDPEVQFSWF VDDVEVHTAQ TQPREEQFNS

301 TFRSVSELPI MHQWLNKRE FKCRVNSAAF PAPIETKISK TKGRKAPQV

351 YTFPPKQOM AKDKVSLTCM ITDFFPDIT VEWQNGQPA ENYKNTQPM

401 DTDGSGFYYS KLVQKSNWE AGNTFTCSVL HEGHNNHTE KSLSHSPGK

A.

1 DIVLTQSPAS LTVSLGLRAT ISCKASQSDV YDGSVMWY QOKGQPKL ☒ 3

51 LIYASNLGS GIPARFSGNG SGTDFITINH PVREEDAVTY YCQSSNEDPW

101 TFGGKLEI KRADAAPTYS IFFPSSEQLT SGCASVVCFL NNFTPKDINV

151 KWKIDGSRQ NGVLNSWTDQ DSKDSTYSMS STLTITKDEY ERHNSYTCEA

201 THKTSTSPIV KSFRNEC

B.

1 EYVLOQSGPE LVKPGTSVRM SCKASGYTFT DCMNWNKQS HGKSLWIGD

51 INPFNGGTTY NQKFKGKATL TVDKSSSTAY MQNLSTLSDD SAYYICARSH

101 YTFDGRVFW ANDYWGQTS VTVSSAKTTP PSVYFIAPGS AAGTNSMWTL

151 GCIVKGYFFE FVTVTWNSGS LSSGVHTFPA VLQSDLYTIS SSVTFSSW

201 PSEFTVCNVA HPASSTKVDK KIVERDCGCK PCICTVPEVS SVTFPPPK

251 DVLTITLTPK VTCVVVDISK DDPEVQFSWF VDDVEVHTAQ TQPREEQFNS

301 TFRSVSELPI MHQWLNKRE FKCRVNSAAF PAPIETKISK TKGRKAPQV

351 YTFPPKQOM AKDKVSLTCM ITDFFPDIT VEWQNGQPA ENYKNTQPM

401 DTDGSGFYYS KLVQKSNWE AGNTFTCSVL HEGHNNHTE KSLSHSPGK

A.

1 DVQMIQSPSS LGSLSGLDVT MTQASQGTS INLWFOQKP GKAPKLLIYG ☒ 4

51 SSNLEDGVPs RFGSGRYGTD FTLTISSELD EDLAFYFCIQ HSYLPYTFGG

101 GIKLEIKRAD APTVSIFPP SSEQLTSGGA SVVCFLLNNFY KDINVKWKI

151 DGSERQNGVL NSWTDQSDS STYSMSSTLT LNKDEYERHN SYTCEATHKT

201 STSPVKSFN RNEC

B.

1 EYVLOQSGPE LVTPGASVKI SCKASGYTFT DHYMSWVKQS HGKSLWIGD

51 INPYSGETTY NQKFKGTATL TVDKSSSIAY MEIRGLTSED SAYYICARDD

101 YDASPFAYWG QGTLVTVSAA KTFPFSVYPL APCSAAQTNS MYTLGCLVKG

151 YTFEPVTVW NSGSLSSGVH TFPVLOSDI YTLSSSVTVP SSTWPSSETV

201 CNVAHPASST KVDKIVPRD CGCKFCICTV PEVSSVFIPP PKPKDVLIT

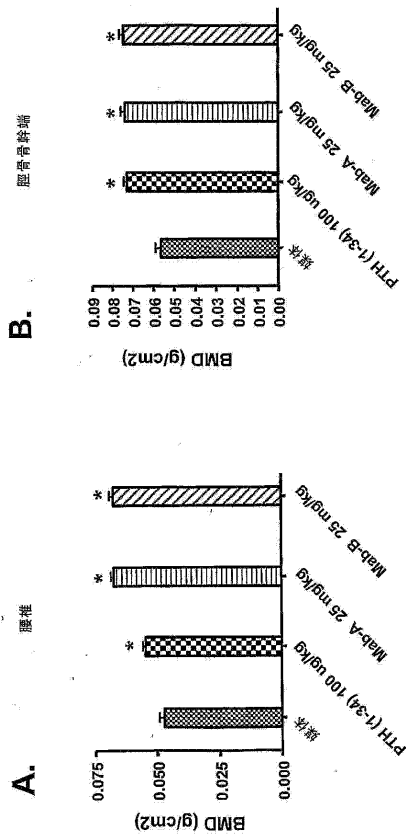
251 LTPKVTQVW DISKDDPEVQ FSWFVDDVEV HTAQTPQREE QFNSTFRSV

301 ELFIMHQDWL NGKEFKCRVN SPAPAPTEK TISKTKGRPK APQVTTIPPP

351 KEQMAKDKVS LTCMIDTFPP EDITVEWQVN GQPAENYKNT QPIMNTDGSY

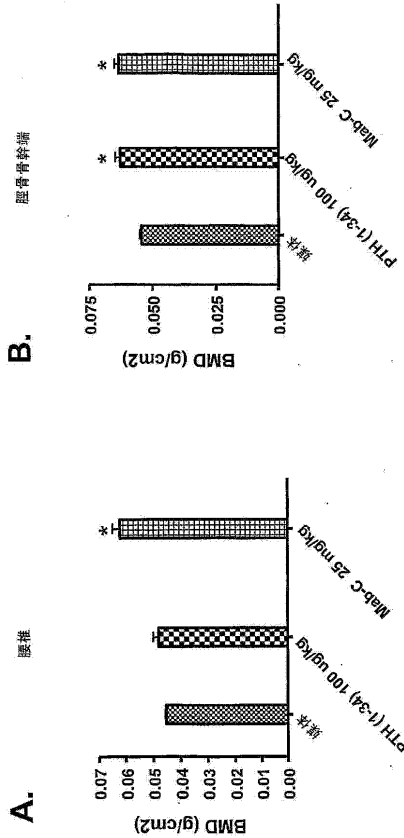
401 FYISKLVQK SNWEAGNTFT CSVLHEGLHN HHTKSLSHS PGK

【図 5】



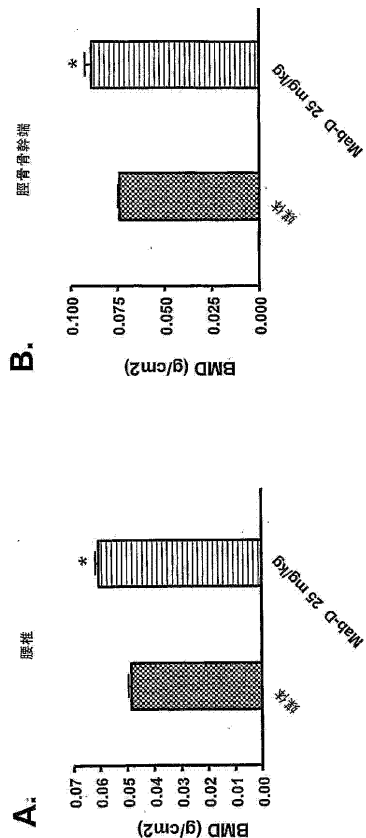
*=媒体から統計的に有意に相違している
エラーバー=平均±標準偏差

【図 6】



*=媒体から統計的に有意に相違している
エラーバー=平均±標準偏差

【図 7】

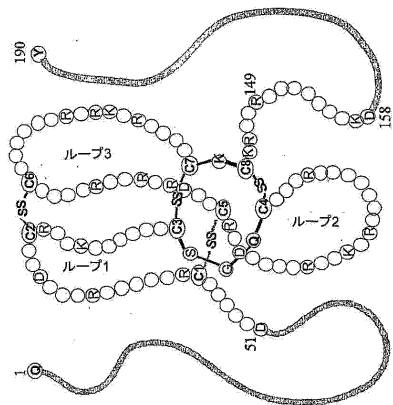


*=媒体から統計的に有意に相違している
エラーバー=平均±標準偏差

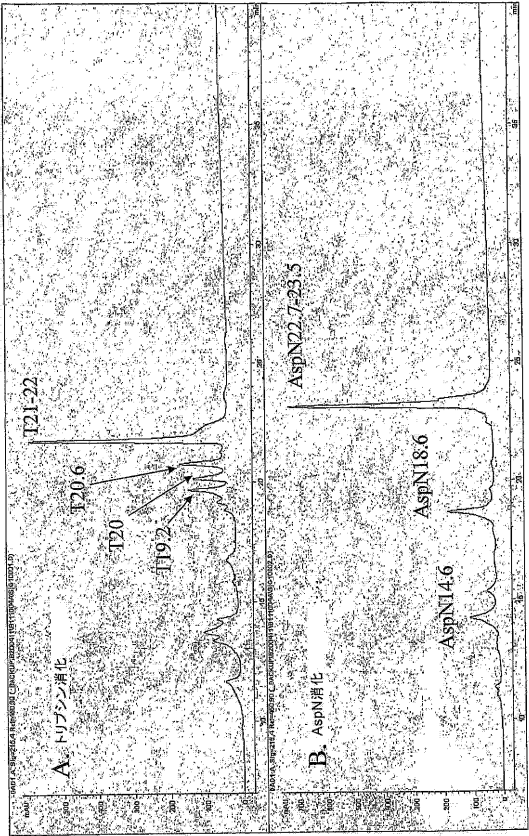
【図 8】

1 QGWAQKND A TELPELGEY PEPPELENN KTMNRAENG RPPHHPETK
51 DVSEYSCREL HFTRYVTDGP CRSAPVTEL VCSGCGGPAR LLPNAIGRGK
101 WWRPSGPDPR CIPDRYRAQR VQLLCPPGGEA PRARKVRLVA SCCKRLTRF
151 HNQSELKDFG TEAARPQKGR KPRPRARSAS ANQAELEENAY
1 CAGGGGTGGC AGCGGTTCAA GAATGATGCC ACGGAATCA TCCCGAGCT
51 CGGAGGTAC CCCGAGCTC CACCGAGCT GGAGAACAC AAGACATGA
101 ACCGGCGGA GAACGAGGG CGGCTTCCC ACCACCCCTT TGAGACCAA
151 GACGTGTCG AGTACAGTG CCGCGAGTG CACTTCACC GCTAGTGAC
201 CGATGGGCG TGCCGAGCG CCAGCGGCTG CACCGAGTG GTGTGCTCG
251 GCCAGTGGC CCCGCGGCG CTGCTGCCA ACGCATCGG CCGCGGCAAG
301 TGGTGGGAC CTAGTGGGC CGACTTCGG TGCAFTCCG ACGGCTACCG
351 CGCGCAGCG GTGCACTGC TGTGTCGGG TGGTAGGCG CCGCGCGCG
401 GCAAGGTGG CCTGTGGCC TGTGCAAGT GCAAGCGCT CACCGCTTC
451 CACACCACT CGGAGTCAA GGACTTCGG ACCGAGGCG CTGCGCGGA
501 GAAGGCGCG AAGCGCGCG CCGCGCGCG GAGCGGCAA GCCAACCCAG
551 CCGAGCTGA GACGCTTAC

【図 9】



【図 10】



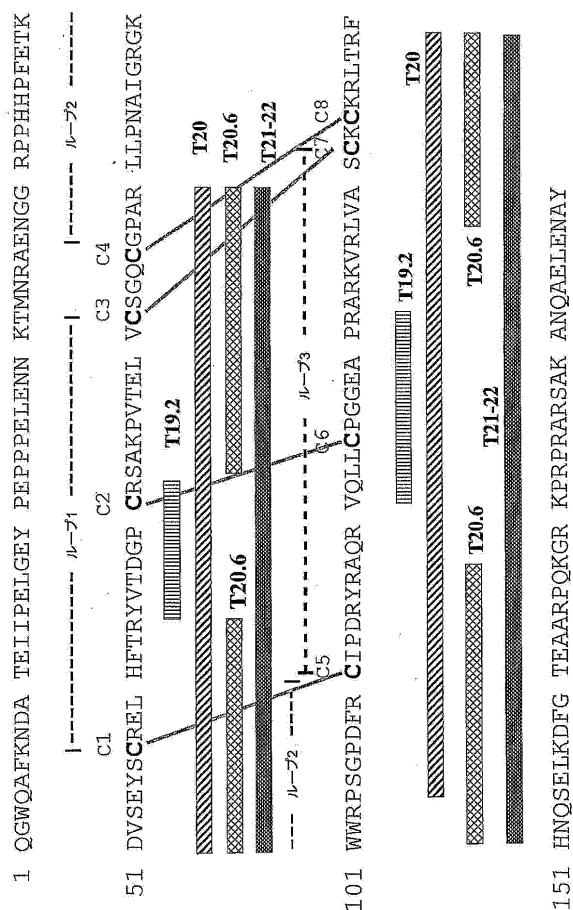
【図 11】

ペプチド	Seq. pos.	Obs. 質量	配列
T19.2	65-72	2146.34	1. YVTDGP CR (910) C2
	121-132	(2145.8)	2. VQLCPGGEA PR (1239) C6
T20	51-90	9620.8 (MALDI); 9638.41 (ESI-MS)	1. DVSEYSCREL HFTRYVTDGP CRSAPVTEL
		(4419.1)	VCSGQCGPAR
T20.6	104-149	(5226.2)	2. PSQPDPR CIPDRYRAQR VQLCPGGEA
			PRARKVRLVA SCCKRLTR R
T20.6	51-64	7105.7 (MALDI); 7122.0 (ESI-MS)	1. DVSEYSCREL HFTR (1740.9) C1
	101-117	3944.5	2. WWRPSGPPFR CIPDRYR (2206.6) C5
T21-22	73-90	3177.0	3. SAKPVTEIVC SGQCGPAR (1802.2) C3,C4
	138-149		4. LVASCKCKRL TR (1378.5) C7,C8
T21-22	51-90	10,147 (MALDI); 10170.3 (ESI-MS)	1. DVSEYSCREL HFTRYVTDGP CRSAPVTEL
		(4419.1)	VCSGQCGPAR
T21-22	101-149	(5754.8)	2. WWRPSGPDPR CIPDRYRAQR VQLCPGGEA
			PRARKVRLVA SCCKRLTR

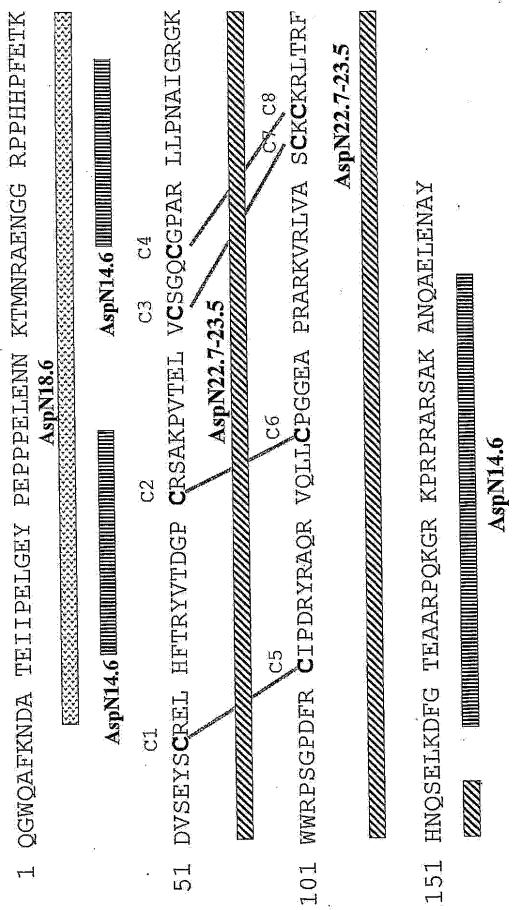
【図 12】

ペプチド	Seq. pos.	Obs. 質量	配列
AspN14.6	34-47	1245.5	ENGGRPPHPF
	12-25	1585.4	EIIPELGFYP EPPF
	158-184	2964.5	DFCTEAAEPQ KGRKPRPRAR SAKANQA
AspN18.6	9-50		DATEIIPELG EYPEPPPELE NNKTMRAEN
			GGRRPPHPFE TK (離ペプチド)
AspN22.7-23.5	51-154	11,740	DVSEYSCREL HFTRYVTDGP CRSAPVTEL
			VCSGQCGPAR ILPNAIGRGK WWRPSGPDPR
			CIPDRYRAQR VQLCPGGEA PRARKVRLVA
			SCCKRLTRF HNQS

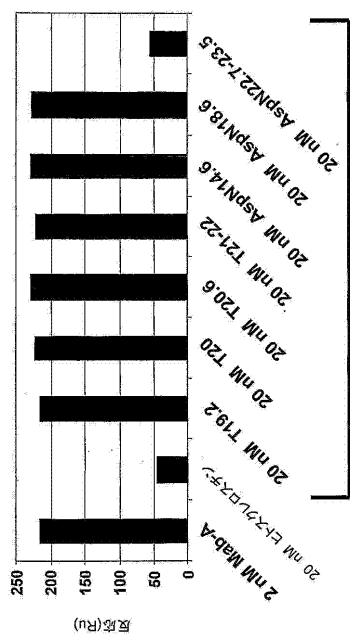
【 図 1 3 】



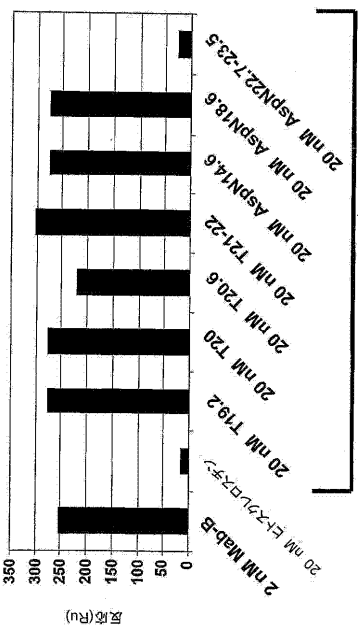
【 図 1 4 】



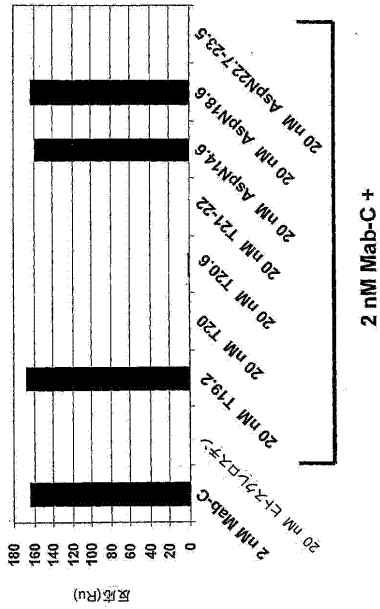
【 図 1 5 】



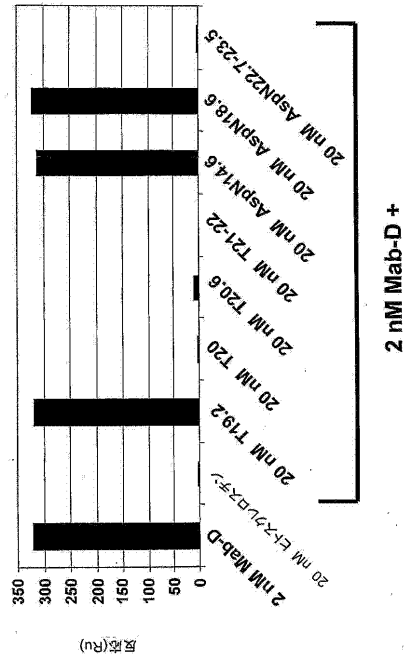
【 図 1 6 】



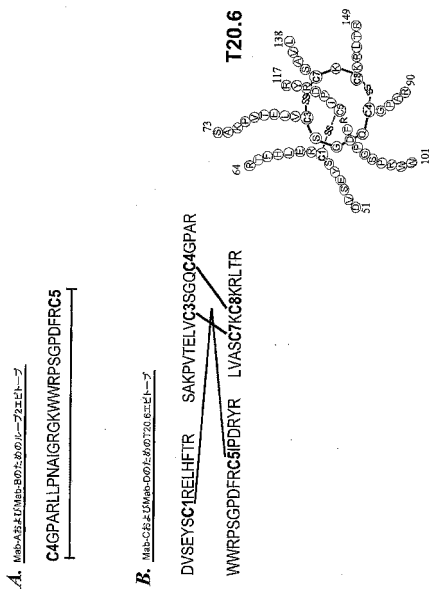
【図 17】



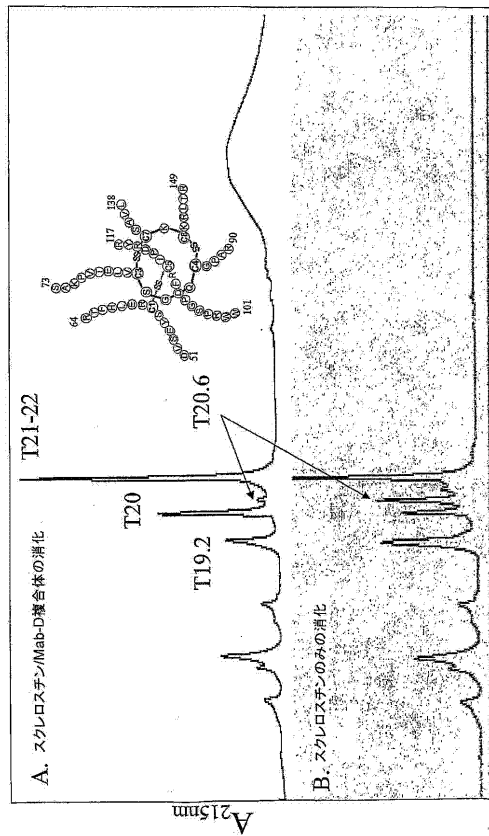
【 図 1 8 】



【 図 1 9 】

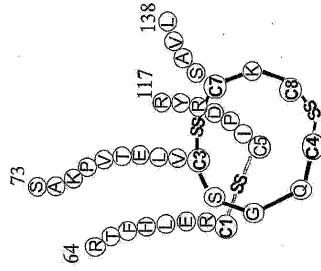
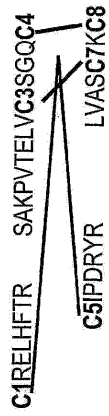


【図 20】



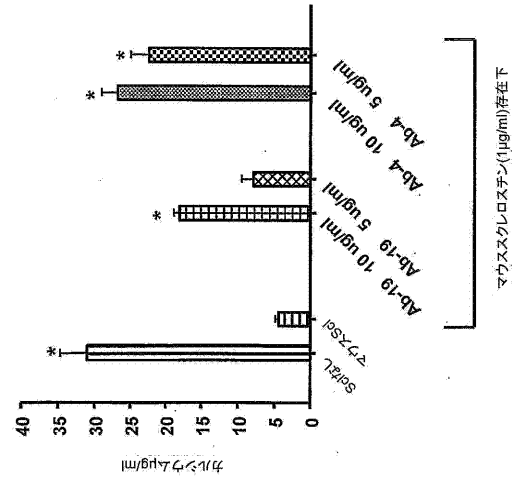
【図 2 1】

Mab-Dのための「T20.6誘導体1(シスチンノット+アーム4本)」エピトープ



「T20.6誘導体1(シスチンノット+アーム4本)」

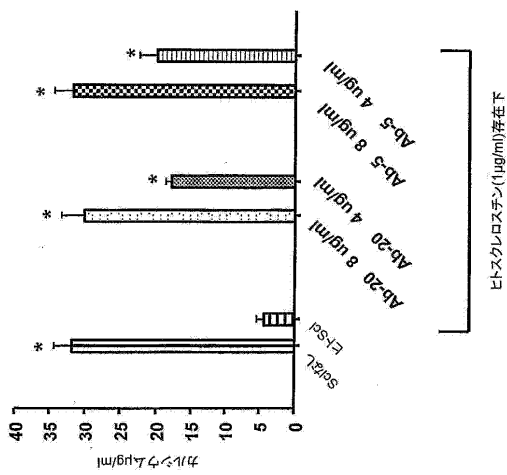
【図 2 2】



*=マウスScd群から統計的に有意に相違している

エラーバー=平均±標準偏差

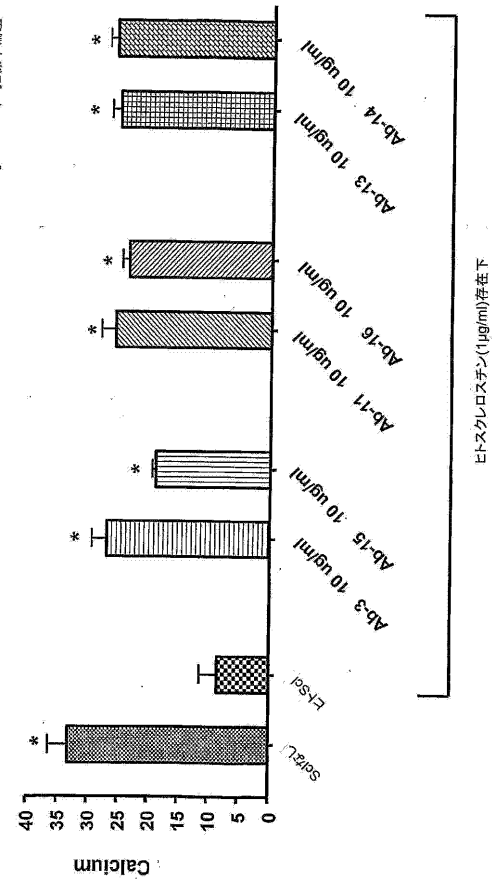
【図 2 3】



*=ヒトScd群から統計的に有意に相違している

エラーバー=平均±標準偏差

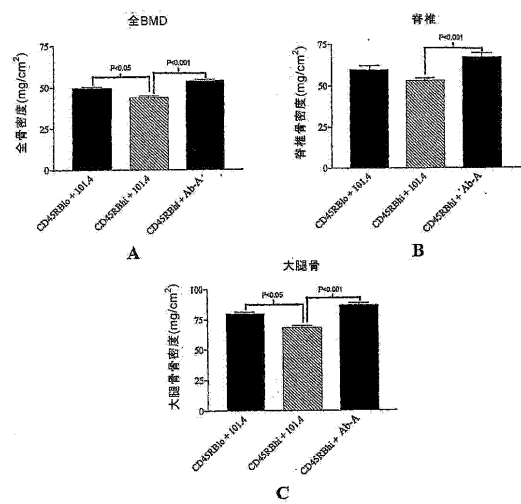
【図 2 4】



*=ヒトScd群から統計的に有意に相違している

エラーバー=平均±標準偏差

【図 25】



【配列表】

2014012001000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/00 1 0 1	
C 1 2 N 15/02 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 C	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
A 6 1 P 19/08 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	
	A 6 1 P 19/08	

(31)優先権主張番号 60/792,645

(32)優先日 平成18年4月17日(2006.4.17)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 11/411,003

(32)優先日 平成18年4月25日(2006.4.25)

(33)優先権主張国 米国(US)

(74)代理人 100122389

弁理士 新井 栄一

(74)代理人 100111741

弁理士 田中 夏夫

(72)発明者 バツティー, クリストファー

アメリカ合衆国 9 3 0 0 3 カリフォルニア州, ベントウーラ, ウエストリッジ ドライブ 1
0 2 7

(72)発明者 ロビンソン, マーティン キム

イギリス国 エイチピー 1 0 0 ジェイエイチ ウーバーン グリーン バッキンガムシャー, ハ
ーヴェイ ヒル, ナーサリー コテージ

(72)発明者 グラハム, ケヴィン

アメリカ合衆国 9 1 3 6 2 カリフォルニア州, サウザンド オークス, チャーターウッド コ
ート 1 6 2 7

(72)発明者 ヘンリー, アリステア ジェイムス

イギリス国 ユービー 8 2 エルエックス アクスブリッジ ミドルセックス, カウリー ロード
9 2

(72)発明者 ホフマン, ケリー スー

アメリカ合衆国 9 1 3 2 0 カリフォルニア州, ニューベリー パーク, グリーン バレー ド
ライブ 7 9 5

(72)発明者 レイサム, ジョン

アメリカ合衆国 9 8 1 1 9 ワシントン州, シアトル, 1 0 ティーエイチ アベニュー ウェス
ト 2 4 0 9

(72)発明者 ル, シェン セン

アメリカ合衆国 9 1 3 6 2 カリフォルニア州, ウエストレイク ビレッジ, レインフィールド
アベニュー 2 7 5 8

(72)発明者 ローソン, アラスデア

イギリス国 エスエル 1 3 ダブリュイー スラウ バークシャー, バス ロード 2 0 8

(72)発明者 ポップルウェル, アンディ

イギリス国 エスエル 1 3 ダブリュイー スラウ バークシャー, バス ロード 2 0 8

(72)発明者 シェン, ウェンヤン

アメリカ合衆国 9 1 3 6 2 カリフォルニア州, サウザンド オークス, オータム リッジ ド
ライブ 2 7 5 7

(72)発明者 ウィンクラー, デヴィッド

アメリカ合衆国 0 2 4 7 6 - 7 3 2 6 マサチューセッツ州, アーリントン, ジョージ ストリート 1 2 7

(72)発明者 ウィンターズ, アーロン ジョージ

アメリカ合衆国 9 3 0 0 1 カリフォルニア州, ベントウーラ, ピアポント ブルバード 2 5 0 1

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA44 CA07 GA05 GA11 HA01 HA06

4B064 AG27 CA19 CA20 DA01

4B065 AA91Y AB01 AB02 AC14 BA01 CA25 CA44

4C085 AA13 AA14 AA16 BB07 BB36 CC21 DD62 EE01 GG01

4H045 AA11 AA20 AA30 BA41 CA40 DA76 EA20 FA72 FA74