

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号
特許第4516719号
(P4516719)

(45) 発行日 平成22年8月4日(2010.8.4)

(24) 登録日 平成22年5月21日(2010.5.21)

(51) Int.Cl.

F I

C 1 2 N 15/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 37/02

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/02

A 6 1 P 37/06

請求項の数 41 (全 178 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-589503 (P2002-589503)	(73) 特許権者	500049716
(86) (22) 出願日	平成14年5月13日 (2002.5.13)		アムジエン・インコーポレーテッド
(65) 公表番号	特表2004-533249 (P2004-533249A)		アメリカ合衆国、カリフォルニア・913
(43) 公表日	平成16年11月4日 (2004.11.4)		20-1789、サウザンド・オークス、
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/015273		ワン・アムジエン・センター・ドライブ (
(87) 国際公開番号	W02002/092620		番地なし)
(87) 国際公開日	平成14年11月21日 (2002.11.21)	(74) 代理人	100062007
審査請求日	平成17年5月12日 (2005.5.12)		弁理士 川口 義雄
(31) 優先権主張番号	60/290,196	(74) 復代理人	100124855
(32) 優先日	平成13年5月11日 (2001.5.11)		弁理士 坪倉 道明
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	ミン, ホスン
前置審査			アメリカ合衆国、カリフォルニア・913
			20、ニューベリー・パーク、コナー・コ
			ート・3875
			最終頁に続く

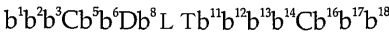
(54) 【発明の名称】 T A L L - 1 と結合するペプチド及び関連分子

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式

【化 1】



(配列番号：104)

[式中、

b¹ 及び b² は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基であり；
b³ は酸性残基又はアミド残基であり；
b⁵ は K であり；
b⁶ は芳香族残基であり；
b⁸ は L であり；
b¹¹ は塩基性残基であり；
b¹² 及び b¹³ は、各々独立に、アミノ酸残基であり；
b¹⁴ は中性疎水性残基であり；かつ
b¹⁶、b¹⁷ 及び b¹⁸ は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基である] の
アミノ酸配列を含む、T A L L - 1 結合性化合物。

【請求項 2】

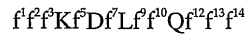
b³ が D、Q 又は E であり；

- b⁶ が W 又は Y であり ;
 b¹¹ が K 又は R であり ; かつ
 b¹⁴ が V 又は L である、請求項 1 の化合物。

【請求項 3】

式

【化 2】



(配列番号 : 109)

10

[式中、

- f¹ 及び f² は存在しないか又はアミノ酸残基であり ;
 f³ は C であり ;
 f⁵ は W、Y 又は F であり ;
 f⁷ は L であり ;
 f⁹ は T 又は I であり ;
 f¹⁰ は K、R 又は H であり ;
 f¹² は C、中性疎水性残基又は塩基性残基 (好ましくは、W、C 又は R) であり ;
 f¹³ は C であるか、中性疎水性残基であるか又は存在せず ; かつ
 f¹⁴ は C であり ;

20

但し、f¹、f² 及び f³ のうちの一つのみが C であり得る] のアミノ酸配列を含む TALL-1 結合性化合物。

【請求項 4】

f⁵ が W である、請求項 3 の化合物。

【請求項 5】

f⁷ が L である、請求項 3 の化合物。

【請求項 6】

f⁹ が T である、請求項 3 の化合物。

【請求項 7】

f¹⁰ が K である、請求項 3 の化合物。

30

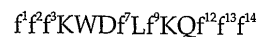
【請求項 8】

f¹³ が V である、請求項 3 の化合物。

【請求項 9】

式

【化 3】



(配列番号 : 125)

のアミノ酸配列を含む、請求項 3 の化合物。

【請求項 10】

40

配列番号 33、58、115、123、154、163 及び 179 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 9 の化合物。

【請求項 11】

式

【化 4】



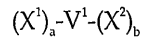
のアミノ酸配列を含む、請求項 9 の化合物。

【請求項 12】

式

50

【化 5】



[式中、

V^1 はビヒクルであり；

X^1 及び X^2 は、各々独立に、 $-(L^1)_c-P^1$ 、 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d$ 、 $-P^2$ 、 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$ 、 $-(L^3)_e-P^3$ 及び $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$ からなる群より選択され、

P^1 、 P^2 、 P^3 及び P^4 のうちの一つ又はそれ以上は、各々独立に、配列番号 104 及び 109 から成る群より選択されるアミノ酸配列を含み；

b^1 及び b^2 は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基であり；

b^3 は酸性残基又はアミド残基であり；

b^5 は K であり；

b^6 は芳香族残基であり；

b^8 は L であり；

b^{11} は塩基性残基であり；

b^{12} 及び b^{13} は、各々独立に、アミノ酸残基であり；

b^{14} は中性疎水性残基であり；

b^{16} 、 b^{17} 及び b^{18} は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基であり；

f^1 及び f^2 は存在しないか又はアミノ酸残基であり；

f^3 は C であり；

f^5 は W、Y 又は F であり；

f^7 は L であり；

f^9 は T 又は I であり；

f^{10} は K、R 又は H であり；

f^{12} は C、中性疎水性残基又は塩基性残基（好ましくは W、C 又は R）であり；

f^{13} は C であるか、中性疎水性残基であるか又は存在せず；かつ

f^{14} は C であり；

但し、 f^1 、 f^2 及び f^3 のうちの一つのみが C であり得；

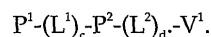
L^1 、 L^2 、 L^3 及び L^4 は、各々独立に、リンカーであり；かつ

a、b、c、d、e 及び f は、各々独立に、0 又は 1 であり、但し a 及び b のうちの少なくとも一つは 1 である] を有する、TALL-1 結合性化合物またはその多量体。

【請求項 13】

式

【化 6】

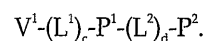


の、請求項 12 の化合物。

【請求項 14】

式

【化 7】



の、請求項 12 の化合物。

【請求項 15】

V^1 が Fc ドメインである、請求項 12 の化合物。

【請求項 16】

10

20

30

40

50

V^1 が I g G F c ドメインである、請求項 1 2 の化合物。

【請求項 1 7】

V^1 が I g G 1 F c ドメインである、請求項 1 2 の化合物。

【請求項 1 8】

V^1 が配列番号 2 の配列を含む、請求項 1 2 の化合物。

【請求項 1 9】

b^3 が D、Q 又は E であり；

b^6 が W 又は Y であり；

b^{11} が K 又は R であり；

b^{14} が V 又は L であり；

f^5 が W であり；

f^{10} が K であり；かつ

f^{13} が V である、請求項 1 2 の化合物。

【請求項 2 0】

P^1 、 P^2 、 P^3 及び P^4 のうちの一つ又はそれ以上が、各々独立に、

【化 8】



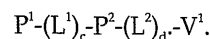
(配列番号：125)

を含む、請求項 1 2 の化合物。

【請求項 2 1】

式

【化 9】

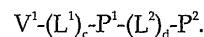


の、請求項 2 0 の化合物。

【請求項 2 2】

式

【化 1 0】



の、請求項 2 0 の化合物。

【請求項 2 3】

配列番号 3 3、5 8、1 1 5、1 2 3、1 5 4、1 6 3 及び 1 7 9 より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 2 0 の化合物。

【請求項 2 4】

L^2 が 5 アミノ酸より大きい、請求項 2 1 の化合物。

【請求項 2 5】

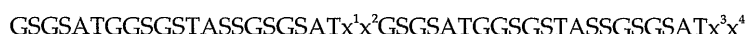
L^2 が、

【化 1 1】



(配列番号：193)

及び



(配列番号：194)

[式中、 x^1 及び x^3 は、各々独立に、塩基性残基又は疎水性残基であり、かつ x^2 及び x^4 は、各々独立に、疎水性残基である] より選択される、請求項 2 4 の化合物。

【請求項 2 6】

L² が、

【化 1 2】

GSGSATGGSGSTASSGSGSATH
(配列番号 : 59)

GSGSATGGSGSTASSGSGSATGM
(配列番号 : 190)

GSGSATGGSGSTASSGSGSATGS
(配列番号 : 191) 及び

GSGSATGGSGSTASSGSGSATHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHM
(配列番号 : 192)

10

から成る群より選択される、請求項 2 2 の化合物。

【請求項 2 7】

請求項 1 6 の化合物をコードする DNA。

【請求項 2 8】

請求項 2 7 の DNA を含む発現ベクター。

【請求項 2 9】

請求項 2 8 の発現ベクターを含む宿主細胞。

20

【請求項 3 0】

大腸菌細胞である、請求項 2 9 の細胞。

【請求項 3 1】

請求項 1 の化合物を含む、B 細胞により媒介される自己免疫疾患を治療するための医薬組成物。

【請求項 3 2】

請求項 3 の化合物を含む、B 細胞により媒介される自己免疫疾患を治療するための医薬組成物。

【請求項 3 3】

請求項 1 の化合物を含む、ループスを治療するための医薬組成物。

30

【請求項 3 4】

請求項 3 の化合物を含む、ループスを治療するための医薬組成物。

【請求項 3 5】

請求項 1 の化合物を含む、B 細胞により媒介される癌を治療するための医薬組成物。

【請求項 3 6】

請求項 3 の化合物を含む、B 細胞により媒介される癌を治療するための医薬組成物。

【請求項 3 7】

請求項 1 の化合物を含む、B 細胞リンパ腫を治療するための医薬組成物。

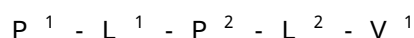
【請求項 3 8】

請求項 3 の化合物を含む、B 細胞リンパ腫を治療するための医薬組成物。

40

【請求項 3 9】

式



[式中、

P¹ は配列番号 1 2 5 のアミノ酸配列を含み；

P² は配列番号 3 3 のアミノ酸配列を含み；

f¹ が M であり；

f² が G であり；

f³ が C であり；

f⁷ が L であり；

50

f^9 が I であり ;
 f^{12} が W であり ;
 f^{13} が V であり ; かつ
 f^{14} が C である] を有する、請求項 12 の化合物。

【請求項 40】

$P^2 - L^2$ が配列番号 12 および配列番号 44 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 39 に記載の化合物。

【請求項 41】

$L^1 - P^2$ が配列番号 59 および配列番号 193 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 39 に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願は、参照して本明細書に組み込まれる 2001 年 5 月 11 日出願の米国仮出願第 60/290,196 号に関連している。

【背景技術】

【0002】

長年にわたる腫瘍壊死の研究の後、最終的に腫瘍壊死因子 (TNF) 及び f が 1984 年にクローニングされた。それ以降、 f as リガンド (FasL)、CD27 リガンド (CD27L)、CD30 リガンド (CD30L)、CD40 リガンド (CD40L)、TNF 関連アポトーシス誘導リガンド (TRAIL、AGP-1 と呼ばれる)、オステオプロテジェリン結合タンパク質 (OPG-BP 又は OPG リガンド)、4-1BB リガンド、LIGHT、APRIL 及び TALL-1 を含む TNF サイトカインのスーパーファミリーが出現した。Smith ら (1994)、Cell 76:959-962; Lacey ら (1998)、Cell 93:165-176; Chichepotich ら (1997)、J. Biol. Chem. 272:32401-32410; Mauri ら (1998)、Immunity 8:21-30; Hahne ら (1998)、J. Exp. Med. 188:1185-90; Shu ら (1999)、J. Leukocyte Biology 65:680-3。このファミリーは、その構造、特に C 末端の構造によって統一されている。さらに、いくつかのメンバーはその他の組織又は器官にも発現しているが、現在までに既知の大部分のメンバーが免疫コンパートメントに発現している。Smith ら (1994)、Cell 76:959-62。LT- を除く全てのリガンドメンバーが、C 末端細胞外ドメイン内の保存された 150 アミノ酸領域を特徴とする II 型膜貫通タンパク質である。同一性はわずか 20% から 25% と限定されているが、保存された 150 アミノ酸ドメインは、特徴的な プリーツシートサンドイッチに折り畳まれ、三量体を形成している。この保存された領域は、タンパク質分解により放出され、それにより可溶性の機能性の型が生成され得る。Banner ら (1993)、Cell 73:431-445。

【0003】

このリガンドファミリー内の多くのメンバーが、リンパ濃縮組織 (lymphoid enriched tissues) に発現しており、免疫系の発達及びモジュレーションにおいて重要な役割を果たしている。Smith ら (1994)。例えば、TNF は、主としてマクロファージによって合成されており、炎症応答及び免疫防御のための重要なメディエーターである。Tracey & Cerami (1994)、Ann. Rev. Med. 45:491-503。主に活性化 T 細胞に発現している Fas-L は、胸腺細胞の TCR により媒介されるアポトーシスをモジュレートする。Nagata, S. & Suda, T. (1995) Immunology Today 16:39-43; Castrim ら (1996)、Immunity 5:617-27。やはり活性化 T 細胞によって発現される CD40L は、B 細胞の生存、増殖及び免疫グロブリンアイソタイプスイッチングのための必須のシグナルを提供する。Noelle (1996)、Immu

10

20

30

40

50

n i t y 4 : 4 1 5 - 9。

【 0 0 0 4 】

T N F リガンドファミリーメンバーの大部分について、コグネイト受容体が同定されている。これらの受容体は、細胞外ドメイン内の特徴的な複数のシステインリッチリピートを共有しており、細胞質領域には触媒モチーフを保有していない。S m i t h ら (1 9 9 4)。受容体は、デスドメインタンパク質 (例えば、T R A D D、F A D D 及び R I P) 又は T R A F タンパク質 (例えば、T R A F 2、T R A F 3、T R A F 5 及び T R A F 6) との直接的な相互作用により、分岐しオーバーラップするシグナリング経路、例えば、アポトーシス、N F - B 活性化又は J N K 活性化を誘発するシグナルを伝達する。W a l l a c h ら (1 9 9 9)、A n n u a l R e v i e w o f I m m u n o l o g y 1 7 : 3 3 1 - 6 7。これらのシグナリングイベントは、細胞の死、増殖、活性化又は分化に至る。各受容体メンバーの発現プロファイルは、様々である。例えば、T N F R 1 は、広範囲の組織及び細胞に発現しているが、O P G L の細胞表面受容体は、主として破骨細胞に限定されている。H s u ら (1 9 9 9) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 6 : 3 5 4 0 - 5。

【 0 0 0 5 】

多数の研究グループが、最近、同一であるか又は実質的に類似している配列を有する T N F ファミリーリガンドを同定した。このリガンドは、ニュートロカイン (n e u t r o k i n e) (1 9 9 8 年 5 月 7 日 公開の W O 9 8 / 1 8 9 2 1)、6 3 9 5 4 (1 9 9 8 年 6 月 2 5 日 公開の W O 9 8 / 2 7 1 1 4)、T L 5 (1 9 9 8 年 1 0 月 7 日 公開の 欧州特許第 8 6 9 1 8 0 号)、N T N - 2 (1 9 9 8 年 1 2 月 1 0 日 公開の W O 9 8 / 5 5 6 2 0 及び W O 9 8 / 5 5 6 2 1)、T N R L 1 - アルファ (1 9 9 9 年 3 月 1 1 日 公開の W O 9 9 1 1 7 9 1)、k a y リガンド (1 9 9 9 年 3 月 1 8 日 公開の W O 9 9 / 1 2 9 6 4) 及び A G P - 3 (1 9 9 9 年 2 月 1 2 日 出願の 米国仮出願第 6 0 / 1 1 9 , 9 0 6 号 及び 1 9 9 9 年 1 1 月 1 8 日 出願の 第 6 0 / 1 6 6 , 2 7 1 号) ; 並びに T A L L - 1 (2 0 0 0 年 1 1 月 1 6 日 公開の W O 0 0 / 6 8 3 7 8) と様々に命名されている。これらの参照は、各々、参照して本明細書に組み込まれる。以後、これらにおいて報告されたリガンドを、集合的に T A L L - 1 と呼ぶ。

【 0 0 0 6 】

T A L L - 1 は、機能的には B 細胞の生存及び増殖に関与している T N F リガンドスーパーファミリーのメンバーである。T A L L - 1 を過剰発現するトランスジェニックマウスは、重度の B 細胞過形成及びループス様自己免疫疾患を有していた。K h a r e ら (2 0 0 0) P N A S 9 7 (7) : 3 3 7 0 - 3 3 7 5)。T A C I 及び B C M A の両方が、T A L L - 1 の細胞表面受容体としてはたらく。G r o s s ら (2 0 0 0)、N a t u r e 4 0 4 : 9 9 5 - 9 9 9 ; W a r e (2 0 0 0)、J . E x p . M e d . 1 9 2 (1 1) : F 3 5 - F 3 7 ; W a r e (2 0 0 0)、N a t u r e 4 0 4 : 9 4 9 - 9 5 0 ; X i a ら (2 0 0 0)、J . E x p . M e d . 1 9 2 (1) : 1 3 7 - 1 4 3 ; Y u ら (2 0 0 0)、N a t u r e I m m u n o l o g y 1 (3) : 2 5 2 - 2 5 6 ; M a r s t e r s ら (2 0 0 0)、C u r r e n t B i o l o g y 1 0 : 7 8 5 - 7 8 8 ; H a t z o g l o u ら (2 0 0 0) J . o f I m m u n o l o g y 1 6 5 : 1 3 2 2 - 1 3 3 0 ; S h u ら (2 0 0 0) P N A S 9 7 (1 6) : 9 1 5 6 - 9 1 6 1 ; T h o m p s o n ら (2 0 0 0) J . E x p . M e d . 1 9 2 (1) : 1 2 9 - 1 3 5 ; M u k h o p a d h y a y ら (1 9 9 9) J . B i o l . C h e m . 2 7 4 (2 3) : 1 5 9 7 8 - 8 1 ; S h u ら (1 9 9 9) J . L e u k o c y t e B i o l . 6 5 : 6 8 0 - 6 8 3 ; G r u s s ら (1 9 9 5) B l o o d 8 5 (1 2) : 3 3 7 8 - 3 4 0 4 ; S m i t h ら (1 9 9 4)、C e l l 7 6 : 9 5 9 - 9 6 2 ; 1 9 9 9 年 1 0 月 1 9 日 発行の 米国特許第 5 , 9 6 9 , 1 0 2 号 ; 2 0 0 0 年 1 1 月 9 日 公開の W O 0 0 / 6 7 0 3 4 ; 2 0 0 0 年 7 月 1 3 日 公開の W O 0 0 / 4 0 7 1 6 ; 1 9 9 9 年 7 月 1 5 日 公開の W O 9 9 / 3 5 1 7 0。両受容体は B 細胞上に発現しており、T R A F タンパク質との相互作用によりシグナルを伝達する。さらに、T A C I 及び B C M A の両方が、もう一つ

のTNFリガンドファミリーメンバー、APRILとも結合する。Yuら(2000)、Nature Immunology 1(3):252-256。APRILも、B細胞増殖を誘導することが証明されている。

【0007】

現在までに、TALL-1のペプチドモジュレーターを利用した組換えタンパク質又は修飾型タンパク質は開示されていない。組換えタンパク質及び修飾型タンパク質は、新規の治療剤クラスである。タンパク質治療剤の有用な修飾には、抗体の「Fc」ドメインとの組み合わせ、並びにポリエチレングリコール(PEG)及びデキストランのような重合体との連結が含まれる。このような修飾は、参照して完全に本明細書に組み込まれるWO 00/24782として公開された「治療剤としての修飾型ペプチド(Modified Peptides as Therapeutic Agents)」なる表題の特許出願において詳細に考察されている。

10

【0008】

治療剤の開発のための大きく異なるアプローチが、ペプチドライブラリースクリーニングである。タンパク質リガンドのその受容体との相互作用は、しばしば比較的大きな界面において起こる。しかしながら、ヒト成長ホルモン及びその受容体に関して証明されているように、界面の少数の重要な残基のみが、結合エネルギーの大部分に寄与している。Clacksonら(1995)、Science 267:383-6。タンパク質リガンドの大半は、正確な位相で結合エピトープを示すか又は結合とは無関係な機能を果たしているにすぎない。従って、「ペプチド」の長さ(2~40アミノ酸)のみを有する分子が、所定の大きなタンパク質リガンドの受容体タンパク質と結合することは可能である。このようなペプチドは、大きなタンパク質リガンドの生理活性を模倣する場合もあるし(「ペプチドアゴニスト」)、又は競合結合を通して、大きなタンパク質リガンドの生理活性を阻害する場合もある(「ペプチドアンタゴニスト」)。

20

【0009】

ファージディスプレイペプチドライブラリーは、このようなペプチドアゴニスト及びペプチドアンタゴニストの同定における強力な方法として出現した。例えば、Scottら(1990)、Science 249:386; Devlinら(1990)、Science 249:404; 1993年6月29日発行の米国特許第5,223,409号; 1998年3月31日発行の米国特許第5,733,731号; 1996年3月12日発行の米国特許第5,498,530号; 1995年7月11日発行の米国特許第5,432,018号; 1994年8月16日発行の米国特許第5,338,665号; 1999年7月13日発行の米国特許第5,922,545号; 1996年12月19日公開のWO96/40987; 並びに1998年4月16日公開のWO98/15833(各々、参照して完全に組み込まれる)を参照のこと。このようなライブラリーにおいては、ランダムなペプチド配列が、繊維状ファージのコートタンパク質との融合によって呈示される。典型的には、呈示されたペプチドは、固定化された標的タンパク質に対してアフィニティ溶出させることができる。保持されたファージを、アフィニティ精製及び再繁殖の繰り返しによって濃縮することができる。最も結合性の高いペプチドを、1個又はそれ以上の構造的に関連したペプチドファミリー内の重要な残基を同定するため、配列決定することができる。例えば、2つの別個のファミリーが同定されたCwirleら(1997)、Science 276:1696-9を参照のこと。ペプチド配列は、いずれの残基が、DNAレベルでアラニンスキャニング又は突然変異誘発により安全に交換され得るかも示唆し得る。最良のバインダーの配列をさらに最適化するためには、突然変異誘発ライブラリーを作出しスクリーニングすることができる。Lowman(1997)、Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 26:401-24。

30

40

【0010】

タンパク質-タンパク質相互作用の構造分析も、大きなタンパク質リガンドの結合活性を模倣するペプチドを示唆するために使用できる。このような分析においては、結晶構造が、ペプチドを設計することができる、大きなタンパク質リガンドの決定的な残基の同一

50

性及び相対的方向を示唆し得る。例えば、Takasakiら(1997)、Nature Biotech. 15: 1266-70を参照のこと。これらの分析法は、結合親和性を増加させるためのペプチドのさらなる修飾を示唆するかもしれない、ファージディスプレイによって選択された受容体タンパク質とペプチドとの間の相互作用を調査するためにも使用できる。

【0011】

ペプチド研究においてファージディスプレイに匹敵する方法は、他にも存在する。ペプチドライブラリーを、lacリプレッサーのカルボキシル末端に融合させ、大腸菌において発現させることが可能である。もう一つの大腸菌に基づく方法は、ペプチドグリカン関連リポタンパク質(PAL)との融合により、細胞外膜におけるディスプレイを可能にする。以後、これら及び関連する方法を、集合的に「大腸菌ディスプレイ」と呼ぶ。もう一つの方法においては、ランダムRNAの翻訳をリボソーム放出の前に中止させ、まだ関連RNAが付加されているポリペプチドのライブラリーを生成させる。以後、これ及び関連する方法を、集合的に「リボソームディスプレイ」と呼ぶ。その他の方法、例えばプロフュージョン(PROfusion)技術(Phyllos, Inc.)は、RNAに連結されたペプチドを利用する。例えば、Roberts & Szostak(1997)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94: 12297-303を参照のこと。以後、これ及び関連する方法を、集合的に「RNA-ペプチドスクリーニング」と呼ぶ。ペプチドが、ポリエチレンロッド又は溶媒浸透性樹脂のような安定な非生物学的材料に固定化されている、化学的に導出されたペプチドライブラリーが開発されている。もう一つの化学的に導出されたペプチドライブラリーは、ガラススライドに固定化されたペプチドをスキャンするために写真石版術を使用する。以後、これら及び関連する方法を、集合的に「化学的ペプチドスクリーニング」と呼ぶ。化学的ペプチドスクリーニングは、D-アミノ酸及びその他の非天然のアナログ、並びに非ペプチドエレメントの使用を可能にするという点で有利な場合がある。生物学的方法及び化学的方法の両方が、Wells & Lowman(1992)、Curr. Opin. Biotechnol. 3: 355-62に概説されている。概念的には、ファージディスプレイ、RNA-ペプチドスクリーニング及び前述のその他の方法を使用して、任意のタンパク質のペプチド模倣体を発見することができる。

【発明の開示】

【0012】

本発明は、TALL-1の活性をモジュレートする治療剤に関する。本発明によると、TALL-1のモジュレーターは、アミノ酸配列 Dz^2Lz^4 (配列番号108)[式中、 z^2 はアミノ酸残基であり、かつ z^4 はトレオニル又はイソロイシルである]を含む。このようなTALL-1のモジュレーターは、下記式

【0013】

【化1】

I(a)



(配列番号: 100)

[式中、

a^1 、 a^2 、 a^3 は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基であり；

a^6 はアミノ酸残基であり；

a^9 は塩基性残基又は疎水性残基であり；

a^8 はトレオニル又はイソロイシルであり；

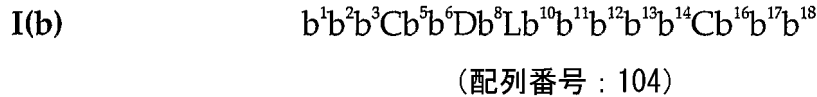
a^{10} はアミノ酸残基であり；

a^{12} は中性疎水性残基であり；かつ

a^{13} 及び a^{14} は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基である]

【0014】

【化 2】



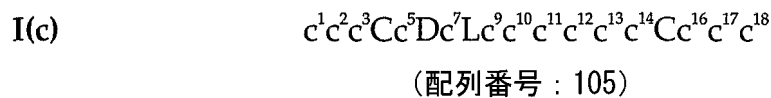
[式中、

- b^1 及び b^2 は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基であり ;
 b^3 は酸性残基又はアミド残基であり ;
 b^5 はアミノ酸残基であり ;
 b^6 は芳香族残基であり ;
 b^8 はアミノ酸残基であり ;
 b^{10} は T 又は I であり ;
 b^{11} は塩基性残基であり ;
 b^{12} 及び b^{13} は、各々独立に、アミノ酸残基であり ;
 b^{14} は中性疎水性残基であり ; かつ
 b^{16} 、 b^{17} 及び b^{18} は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基である]

10

【 0 0 1 5 】

【化 3】



20

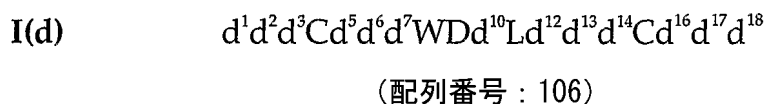
[式中、

- c^1 、 c^2 及び c^3 は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基であり ;
 c^5 はアミノ酸残基であり ;
 c^7 はアミノ酸残基であり ;
 c^9 は T 又は I であり ;
 c^{10} は塩基性残基であり ;
 c^{11} 及び c^{12} は、各々独立に、アミノ酸残基であり ;
 c^{13} は中性疎水性残基であり ;
 c^{14} はアミノ酸残基であり ;
 c^{16} はアミノ酸残基であり ;
 c^{17} は中性疎水性残基であり ; かつ
 c^{18} はアミノ酸残基であるか又は存在しない]

30

【 0 0 1 6 】

【化 4】



40

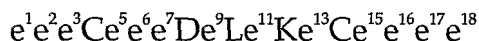
[式中、

- d^1 、 d^2 及び d^3 は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基であり ;
 d^5 、 d^6 及び d^7 は、各々独立に、アミノ酸残基であり ;
 d^{10} はアミノ酸残基であり ;
 d^{12} は T 又は I であり ;
 d^{13} はアミノ酸残基であり ;
 d^{14} はアミノ酸残基であり ; かつ
 d^{16} 、 d^{17} 及び d^{18} は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基である]

【 0 0 1 7 】

【化 5】

I(e)



(配列番号 : 107)

[式中、

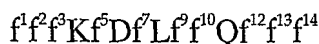
e¹、e² 及び e³ は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基であり；e⁵、e⁶、e⁷、e⁹ 及び e¹³ は、各々独立に、アミノ酸残基であり；e¹¹ は T 又は I であり；かつe¹⁵、e¹⁶ 及び e¹⁷ は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基である]

10

【 0 0 1 8 】

【化 6】

I(f)



(配列番号 : 109)

[式中、

f¹、f² 及び f³ は、存在しないか又はアミノ酸残基であり (f¹²、f¹³ 及び f¹⁴ のうちの 하나가 C である場合、f¹、f² 及び f³ のうちの 하나가 C であることが好ましい) ；

20

f⁵ は W、Y 又は F (好ましくは、W) であり；f⁷ はアミノ酸残基 (好ましくは、L) であり；f⁹ は T 又は I (好ましくは、T) であり；f¹⁰ は K、R 又は H (好ましくは、K) であり；f¹² は C、中性疎水性残基又は塩基性残基 (好ましくは、W、C 又は R) であり；f¹³ は C であるか、中性疎水性残基であるか又は存在せず (好ましくは、V) ；かつf¹⁴ は任意のアミノ酸残基であるか又は存在せず；

但し、f¹、f² 及び f³ のうちの一つのみが C であり得、かつ f¹²、f¹³ 及び f¹⁴ のうちの一つのみが C であり得る] の分子を含む。

【 0 0 1 9 】

30

前記の式 I (a) から I (f) の化合物には、D z² L z⁴ 及び後述の配列番号 6 3 が組み込まれている。I (f) の配列は、下記実施例 1 に記載されるようなコンセンサス配列として導出された。式 I (f) に含まれる化合物のうち、式

【 0 0 2 0 】

【化 7】

I(f')



(配列番号 : 125)

を有するものが好ましい。I (f') に包含される化合物には、配列番号 3 2、5 8、6 0、6 2、6 3、6 6、6 7、6 9、7 0、1 1 4、1 1 5、1 2 2、1 2 3、1 2 4、1 4 7 ~ 1 5 0、1 5 2 ~ 1 7 7、1 7 9、1 8 0 及び 1 8 7 が含まれる。

40

【 0 0 2 1 】

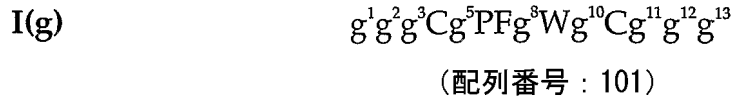
やはり T A L L - 1 と結合するコンセンサスモチーフ P F P W E (配列番号 1 1 0) を有する化合物も、本発明による化合物である。

【 0 0 2 2 】

さらに、式

【 0 0 2 3 】

【化 8】



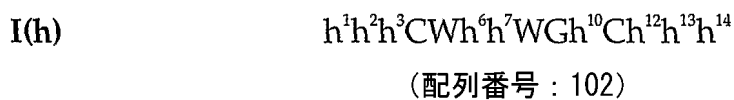
[式中、

g^1 、 g^2 及び g^3 は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基であり；
 g^5 は中性疎水性残基であり；
 g^8 は中性疎水性残基であり；
 g^{10} は酸性残基であり；
 g^{12} 及び g^{13} は、各々独立に、アミノ酸残基であり；かつ
 g^{14} は存在しないか又はアミノ酸残基である]

10

【 0 0 2 4 】

【化 9】



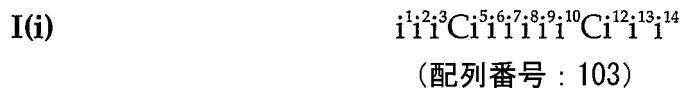
[式中、

h^1 、 h^2 及び h^3 は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基であり；
 h^6 は疎水性残基であり；
 h^7 は疎水性残基であり；
 h^{10} は酸性残基又は極性疎水性残基であり；かつ
 h^{12} 、 h^{13} 及び h^{14} は、各々独立に、存在しないか又はアミノ酸残基である]

20

【 0 0 2 5 】

【化 10】



30

[式中、

i^1 は存在しないか又はアミノ酸残基であり；
 i^2 は中性疎水性残基であり；
 i^3 はアミノ酸残基であり；
 i^5 、 i^6 、 i^7 及び i^8 は、各々独立に、アミノ酸残基であり；
 i^9 は酸性残基であり；
 i^{10} はアミノ酸残基であり；
 i^{12} 及び i^{13} は、各々独立に、アミノ酸残基であり；かつ
 i^{14} は中性疎水性残基である]

の化合物が、本発明による化合物である。

40

【 0 0 2 6 】

式 I (g) から I (i) により定義された化合物も、T A L L - 1 と結合する。

【 0 0 2 7 】

さらに、本発明によると、T A L L - 1 のモジュレーターは、

a) T A L L - 1 モジュレーティングドメイン (例えば、式 I (a) から I (i) のアミノ酸配列)、好ましくはアミノ酸配列 D z ² L z ⁴、又はファージディスプレイ、R N A - ペプチドスクリーニングもしくは前述のその他の技術によって、これらから導出された配列と；

b) T A L L - 1 モジュレーティングドメインに共有結合的に付加された、重合体 (例えば、P E G もしくはデキストラン) 又は F c ドメイン (好ましい) のようなビヒクルと

50

を含む。ビヒクル及びT A L L - 1モジュレーティングドメインは、さらに後述されるように、T A L L - 1モジュレーティングドメインのN末端又はC末端を通して連結される。好ましいビヒクルはF cドメインであり、好ましいF cドメインはI g G F cドメインである。このようなF c連結ペプチドは、本明細書において「ペプチボディ (p e p t i b o d i e s) 」と呼ばれる。好ましいT A L L - 1モジュレーティングドメインは、下記表1及び2に記載されたアミノ酸配列を含む。その他のT A L L - 1モジュレーティングドメインは、ファージディスプレイ、RNA - ペプチドスクリーニング及び本明細書に言及されたその他の技術によって生成し得る。

【0028】

さらに、

a . T A L L - 1と結合するペプチドを少なくとも1個選択すること；及び

b . このペプチドを共有結合的にビヒクルに連結させること、を含む、T A L L - 1モジュレーターを作成するための方法が、本発明による方法である。好ましいビヒクルはF cドメインである。工程 (a) は、好ましくは、下記表2中のペプチド配列から、又はファージディスプレイ、RNA - ペプチドスクリーニングもしくは本明細書に言及されたその他の技術からの選択によって実施される。

【0029】

本発明の化合物は、標準的な合成法、組換えDNA技術又はペプチド及び融合タンパク質を調製するその他の任意の方法によって調製され得る。非ペプチド部分を包含する本発明の化合物は、適用可能な場合、標準的なペプチド化学反応に加え、標準的な有機化学反応によって合成されてもよい。

【0030】

本発明の化合物に関して企図される第一の使用は、治療剤又は予防剤としての使用である。ビヒクルに連結されたペプチドは、ペプチドによって模倣された天然リガンドに匹敵する活性を有するか、又はそれ以上の活性を有する場合すらある。

【0031】

本発明の化合物は、適切な薬学的担体材料を用いてこれらを製剤化し、その必要のあるヒト (又はその他の哺乳動物) のような患者へ有効量を投与することにより、治療又は予防の目的のために使用され得る。その他の関連する局面も、本発明に含まれる。

【0032】

多数の付加的な本発明の局面及び利点が、本発明の図面及び詳細な説明を考慮することにより明らかとなるであろう。

【発明を実施するための最良の形態】

【0033】

用語の定義

特記しない限り、この明細書において使用される用語は、以下のように定義される。

【0034】

一般的定義

「含む」という用語は、化合物が、与えられた配列のN末端もしくはC末端のいずれか又は両方に、追加のアミノ酸を含みうることを意味する。当然、これらの追加のアミノ酸は、化合物の活性を有意に妨害するべきではない。

【0035】

さらに、本発明の化合物の生理学的に許容される塩も、本発明に包含される。「生理学的に許容される塩」という用語は、医薬適合性であることが既知であるか又は後に発見される任意の塩をさす。いくつかの具体例は、酢酸塩；トリフルオロ酢酸塩；塩酸塩及び臭化水素酸塩のようなハロゲン化水素酸塩；硫酸塩；クエン酸塩；酒石酸塩；グリコール酸塩；並びにシュウ酸塩である。

【0036】

アミノ酸

「酸性残基」という用語は、酸性基を含む側鎖を有するD形又はL形のアミノ酸残基を

10

20

30

40

50

さす。例示的な酸性残基には、D及びEが含まれる。

【0037】

「アミド残基」という用語は、酸性基のアミド誘導体を含む側鎖を有するD形又はL形のアミノ酸をさす。例示的な残基には、N及びQが含まれる。

【0038】

「芳香族残基」という用語は、芳香族基を含む側鎖を有するD形又はL形のアミノ酸残基をさす。例示的な芳香族残基には、F、Y及びWが含まれる。

【0039】

「塩基性残基」という用語は、塩基性基を含む側鎖を有するD形又はL形のアミノ酸残基をさす。例示的な塩基性残基には、H、K及びRが含まれる。

10

【0040】

「親水性残基」という用語は、極性基を含む側鎖を有するD形又はL形のアミノ酸残基をさす。例示的な親水性残基には、C、S、T、N及びQが含まれる。

【0041】

「非官能性残基」という用語は、酸性、塩基性又は芳香族の基を欠いた側鎖を有するD形又はL形のアミノ酸残基をさす。例示的な非官能性アミノ酸残基には、M、G、A、V、I、L及びノルロイシン(Nle)が含まれる。

【0042】

「中性疎水性残基」という用語は、塩基性、酸性又は極性の基を欠いた側鎖を有するD形又はL形のアミノ酸残基をさす。例示的な中性疎水性アミノ酸残基には、A、V、L、I、P、W、M及びFが含まれる。

20

【0043】

「極性疎水性残基」という用語は、極性基を含む側鎖を有するD形又はL形のアミノ酸残基をさす。例示的な極性疎水性アミノ酸残基には、T、G、S、Y、C、Q及びNが含まれる。

【0044】

「疎水性残基」という用語は、塩基性又は酸性の基を欠いた側鎖を有するD形又はL形のアミノ酸残基をさす。例示的な疎水性アミノ酸残基には、A、V、L、I、P、W、M、F、T、G、S、Y、C、Q及びNが含まれる。

【0045】

30

ペプチド

「ペプチド」という用語は、1～40アミノ酸の分子(好ましくは、5～20アミノ酸の分子)をさす。例示的なペプチドには、天然に存在する分子のTALL-1モジュレーティングドメイン又はランダム化された配列が含まれ得る。

【0046】

ペプチド配列をさすために使用されるような「ランダム化された」という用語は、(例えば、ファージディスプレイ法又はRNA-ペプチドスクリーニングによって選択された)完全にランダムな配列、及び天然に存在する分子の1個又はそれ以上の残基が、天然に存在する分子においてはその位置に出現しないアミノ酸残基に交換されている配列をさす。ペプチド配列を同定するための例示的な方法には、ファージディスプレイ、大腸菌ディスプレイ、リボソームディスプレイ、RNA-ペプチドスクリーニング、化学的スクリーニング等が含まれる。

40

【0047】

「TALL-1モジュレーティングドメイン」という用語は、天然に存在する配列又はランダム化された配列を含む、TALL-1と結合する任意のアミノ酸配列をさす。例示的なTALL-1モジュレーティングドメインは、ファージディスプレイ又は本明細書に言及されたその他の方法によって同定又は導出されうる。

【0048】

「TALL-1アンタゴニスト」という用語は、TALL-1と結合し、かつ1個又はそれ以上のアッセイパラメーターを、全長天然型TALL-1によるパラメーターに対す

50

る効果とは反対に増加又は減少させる分子をさす。このような活性は、例えば、W O O 0 / 4 7 7 4 0 として 2 0 0 0 年 8 月 1 7 日に公開された「T N F 関連タンパク質 (T N F - R E L A T E D P R O T E I N S) 」なる表題の特許出願の材料及び方法 (M a t e r i a l s & M e t h o d s) のセクションの「A G P - 3 の生物学的活性 (B i o l o g i c a l a c t i v i t y o f A G P - 3) 」なる表題のサブセクションに記載されたようなアッセイによって決定できる。

【 0 0 4 9 】

ビヒクル及びペプチボディ

「ビヒクル」という用語は、治療用タンパク質の分解を防止し、かつ／もしくは半減期を増加させるか、毒性を減少させるか、免疫原性を減少させるか又は生物学的活性を増加させる分子をさす。例示的なビヒクルには、F c ドメイン (好ましい) のみならず、直鎖型重合体 (例えば、ポリエチレングリコール (P E G) 、ポリリジン、デキストラン等) ; 分岐型重合体 (例えば、1 9 8 1 年 9 月 1 5 日発行の D e n k e n w a l t e r らの米国特許第 4 , 2 8 9 , 8 7 2 号 ; 1 9 9 3 年 7 月 2 0 日発行の T a m の第 5 , 2 2 9 , 4 9 0 号 ; 1 9 9 3 年 1 0 月 2 8 日公開の F r e c h e t らの W O 9 3 / 2 1 2 5 9 を参照のこと) ; 脂質 ; (ステロイドのような) コレステロール基 ; 炭水化物又はオリゴ糖 (例えば、デキストラン) ; サルベージ (s a l v a g e) 受容体と結合する任意の天然又は合成のタンパク質、ポリペプチド又はペプチド ; ヒト血清アルブミン (H S A) を含むアルブミン、ロイシンジッパードメイン、並びにその他のこのようなタンパク質及びタンパク質断片が含まれる。ビヒクルはさらに後述される。

【 0 0 5 0 】

「天然 F c」という用語は、単量体であってもよいし又は多量体であってもよい、完全抗体の消化により生じる非抗原結合性断片の配列を含む分子又は配列をさす。天然型 F c の最初の免疫グロブリン起源は、好ましくはヒト由来のものであり、任意の免疫グロブリンであり得るが、I g G 1 及び I g G 2 が好ましい。天然型 F c は、共有結合性 (即ち、ジスルフィド結合) 及び非共有結合性の会合によって二量体又は多量体に連結され得る単量体ポリペプチドから構成される。天然型 F c 分子の単量体サブユニット間の分子間ジスルフィド結合の数は、クラス (例えば、I g G 、 I g A 、 I g E) 又はサブクラス (例えば、I g G 1 、 I g G 2 、 I g G 3 、 I g A 1 、 I g G A 2) に依って、1 ~ 4 の範囲である。天然型 F c の一例は、I g G のパパイン消化により生じるジスルフィド結合二量体である (E l l i s o n ら (1 9 8 2) 、 N u c l e i c A c i d s R e s . 1 0 : 4 0 7 1 - 9 参照) 。「天然型 F c」という用語は、本明細書において使用されるように、単量体、二量体及び多量体の総称である。

【 0 0 5 1 】

「F c バリエーション」という用語は、天然型 F c から修飾されているが、依然としてサルベージ受容体、F c R n に対する結合部位を含んでいる分子又は配列をさす。国際出願 W O 9 7 / 3 4 6 3 1 (1 9 9 7 年 9 月 2 5 日公開) 及び W O 9 6 / 3 2 4 7 8 は、例示的な F c バリエーション及びサルベージ受容体との相互作用を記載しており、参照して完全に本明細書に組み込まれる。従って、「F c バリエーション」という用語には、非ヒト天然型 F c からヒト化された分子又は配列が含まれる。さらに、天然型 F c は、本発明の融合分子にとって必要でない構造的な特徴又は生物学的活性を提供するため除去され得る部位を含んでいる。従って、「F c バリエーション」という用語には、(1) ジスルフィド結合形成、(2) 選択された宿主細胞との不適合性、(3) 選択された宿主細胞における発現の際の N 末端の不均質性、(4) グリコシル化、(5) 補体との相互作用、(6) サルベージ受容体以外の F c 受容体との結合又は (7) 抗体依存性細胞性細胞毒性 (a n t i b o d y - d e p e n d e n t c e l l u l a r c y t o t o x i c i t y) (A D C C) 、に影響するか又はそれらに関与する 1 個又はそれ以上の天然型 F c の部位又は残基を欠いた分子又は配列が含まれる。F c バリエーションは、さらに詳細に後述される。

【 0 0 5 2 】

「F c ドメイン」という用語には、前記定義のような天然型 F c 及び F c バリエーションの

分子及び配列が包含される。Fcバリエーション及び天然型Fcの場合と同様に、「Fcドメイン」という用語には、完全抗体から消化されたか又はその他の手段によって作製されたかに関わらず、単量体又は多量体の分子が含まれる。

【0053】

Fcドメイン又はFcドメインを含む分子に適用されるような「多量体」という用語は、共有結合的に、非共有結合的に、又は共有結合性相互作用及び非共有結合性相互作用の両方によって会合した2個以上のポリペプチド鎖を有する分子をさす。IgG分子は、典型的には、二量体を形成し；IgMは五量体を形成し；IgDは二量体を形成し；IgAは、単量体、二量体、三量体又は四量体を形成する。多量体は、Fcの天然型Ig起源の配列及びそれから生ずる活性の活用により、又はこのような天然型Fcの（下記定義のよ

10

【0054】

Fcドメイン又はFcドメインを含む分子に適用されるような「二量体」という用語は、共有結合的又は非共有結合的に会合した2個のポリペプチド鎖を有する分子をさす。従って、本発明の範囲に含まれる例示的な二量体は、図1に示されるようなものである。

【0055】

「誘導体化」及び「誘導体」又は「誘導体化された」という用語は、(1)化合物が環状部分；例えば化合物内のシステイン残基間の架橋を有する；(2)化合物が、架橋されているか又は架橋部位を有する；例えば、化合物がシステイン残基を有しており、従って培養物中又はインビボで架橋された二量体を形成する；(3)1個又はそれ以上のペプチジル結合が、非ペプチジル結合に交換される；(4)N末端が、 $-NRR^1$ 、 $NRC(O)R^1$ 、 $-NRC(O)OR^1$ 、 $-NRS(O)_2R^1$ 、 $-NHC(O)NHR$ 、スクシンイミド基又は置換型もしくは非置換型のベンジルオキシカルボニル-NH-[式中、R及び R^1 及び環置換基は下記定義の通りである]に交換される；(5)C末端が、 $-C(O)R^2$ 又は NR^3R^4 [R^2 、 R^3 及び R^4 は下記定義の通りである]；及び(6)個々のアミノ酸部分が、選択された側鎖又は末端残基と反応することができる薬剤による処理を通して修飾されている化合物、のような過程及びその結果生ずる化合物をそれぞれ含む。誘導体はさらに後述される。

20

【0056】

「ペプチボディ(peptidobody)」及び「ペプチボディ(peptidobies)」という用語は、Fcドメインと少なくとも1個のペプチドとを含む分子をさす。このようなペプチボディは、それらの多量体又は二量体又は断片であってもよく、また、誘導体化されていてもよい。本発明において、下記式I IからV Iの分子は、 V^1 がFcドメインである場合、ペプチボディである。

30

【0057】

化合物の構造

一般。本発明者らは、TALL-1と結合し、その生物学的活性をモジュレートする能力を有する配列を同定した。これらの配列は、ペプチドの結合親和性を維持するか、又はさらには改良しつつ、1個又はそれ以上のアミノ酸を変化させることができる前述の技術によって修飾され得る。

40

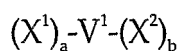
【0058】

本発明により調製された構成物において、(1個又はそれ以上の)ペプチドは、ペプチドのN末端又はC末端を通してビヒクルに付加され得る。これらのペプチドは、リンカーにより又はリンカーなしで、タンデムに(即ち、連続的に)連結され得る。従って、本発明のビヒクル-ペプチド分子は、下記式

【0059】

【化 1 1】

II



[式中、

V^1 はビヒクル（好ましくは、Fcドメイン）であり；

X^1 及び X^2 は、各々独立に、 $-(L^1)_c-P^1$ 、 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2$ 、 $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3$ 及び $-(L^1)_c-P^1-(L^2)_d-P^2-(L^3)_e-P^3-(L^4)_f-P^4$ からなる群より選択され

、

P^1 、 P^2 、 P^3 及び P^4 は、各々独立に、式 I (a) から I (i) のもののような TALL-1 モジュレーティングドメインの配列であり；

L^1 、 L^2 、 L^3 及び L^4 は、各々独立に、リンカーであり；かつ

a、b、c、d、e 及び f は、各々独立に、0 又は 1 であり、但し a 及び b のうちの少なくとも一つは 1 である] により記載され得る。

【0060】

従って、化合物 II は、好ましくは、

式

【0061】

【化 1 2】

III



[式中、 V^1 は Fcドメインであり、 A^1 の C 末端に付加されている] の化合物及びそれらの多量体；

式

【0062】

【化 1 3】

IV



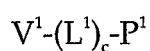
[式中、 V^1 は Fcドメインであり、 A^2 の N 末端に付加されている] の化合物及びそれらの多量体；

式

【0063】

【化 1 4】

V



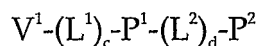
[式中、 V^1 は Fcドメインであり、 $-(L^1)_c-P^1$ の N 末端に付加されている] の化合物及びそれらの多量体；並びに

式

【0064】

【化 15】

VI



[式中、 V^1 はFcドメインであり、 $-L^1-P^1-L^2-P^2$ のN末端に付加されている] の化合物及びそれらの多量体を含む。

【0065】

ペプチド

本発明のペプチドは、TALL-1モジュレーティングペプチドとして、又は式IIからVIの分子内のTALL-1モジュレーティングドメインとして有用である。これらのペプチド配列を含む本発明の分子は、当技術分野において既知の方法によって調製され得る。

10

【0066】

好ましいペプチド配列は、以下に同定される置換基を有する前記式I(a)のものである。

【0067】

【表 1】

表1 好ましいペプチド置換基

20

式I(a)	a^8 はTであり； a^9 は塩基性残基（最も好ましくはK）であり；かつ a^{12} は中性疎水性残基（最も好ましくはF）である。
式I(b)	b^3 はD、Q又はEであり； b^6 はW又はYであり； b^{10} はTであり； b^{11} はK又はRであり；かつ b^{14} はV又はLである。
式I(c)	c^9 はTであり； c^{10} はK又はRであり； c^{13} はI、L又はVであり；かつ c^{17} はA又はLである。
式I(d)	d^{12} はTである。
式I(e)	e^{11} はTである。
式I(f)	f^9 はTであり； f^{10} はKであり；かつ f^{13} はVである。
式I(g)	g^5 はWであり； g^8 はPであり； g^{10} はEであり；かつ g^{13} は塩基性残基である。
式I(h)	h^1 はGであり； h^6 はAであり； h^7 は中性疎水性残基であり；かつ h^{10} は酸性残基である。
式I(i)	i^2 はWであり；かつ i^{14} はWである。

30

40

【0068】

好ましいペプチド配列を下記表2に示す。

50

【 0 0 6 9 】

【 表 2 】

表 2 - 好ましい TALL-1 モジュレーティングドメイン

配 列	配列番号
PGTCFPPWECTHA	29
WGACWPPWECFKE	30
VPFCDLLTKHCFEA	31
GSRCKYKWDVLTQCFHH	32
LPGCKWDLLIKQWVCDPL	33
SADCYFDILTKSDVCTSS	34
SDDCMYDQLTRMFICSNL	35
DLNCKYDELTKEWCQFN	36
FHDCKYDLLTRQMVCHGL	37
RNHCFWDHLLKQDICPSP	38
ANQCWWSLTKKNVCEFF	39
YKGRQMWDLITRSWVVS	126
QDVGLWWDILTRAWMPNI	127
QNAQRVWDLIRTWVYPQ	128
GWNEAWWDELTKIWVLEQ	129
RITCDTWDSLKKCVPOS	130
GAIMQFWDSLTKTWLRQS	131
WLHSGWWDPLTKHWLQKV	132
SEWFFWFDPLTRAQLKFR	133
GVVFWWFDPLTKQWTOAG	134
MOCKGYDILTKWCVTNG	135
LWSKEVDILTKSWVSQA	136
KAAGWWFDWLTQVWPAP	137
AYQTFWDSLTRLWLSTT	138
SGQHFWDLLTRSWTPST	139
LGVGQKWDPPLTKQVSRG	140
VGKMCQWDPLIKRTVCVG	141
CRQGAKFDDLTKQCLLGR	142
GQAIRHWDVLTQWVDSQ	143
RGPCGSWDLTKHCLDSQ	144
WQWKQOWDLTKQMVWVG	145
PITICRKDLLTKQVVCLD	146
KTCNGKWDLTKQCLQQA	147
KCLKGKWDLTKQCVTEV	148
RCWNGKWDLTKQCIHPW	149
NRDMRKWDPLIKQWIVRP	150
QAAAATWDLTKQWLVP	151
PEGGPKWDPLTKQFLPPV	152
QTPQKKWDLTKQWFTRN	153
IGSPCKWDLTKQMICQT	154
CTAAGKWDLTKQCIQEK	155
VSQCMKWDLTKQCLQGW	156
VWGTWKWDLTKQYLPPQ	157
GWWEWKWDLTKQWYRPQ	158
TAQVSKWDLTKQWLPLA	159
QLWGTKWDLTKQYIQIM	160
WATSQKWDLTKQWVQNM	161
QRQCAKWDLTKQCVLFY	162

10

20

30

40

KTTDCKWDLLTKQRICQV	163
LLCQGWKDWLLTKQCLKLR	164
LMWFWKDWLLTKQLVPTF	165
QWAWKDWLLTKQWIGPM	166
NKELLKDWLLTKQCRGRS	167
GQKDLKDWLLTKQYVRQS	168
PKPCQKDWLLTKQCLGSV	169
GQIGWKDWLLTKQWIQTR	170
VWLDWKDWLLTKQWIHPQ	171
QEWYKDWLLTKQGWLR	172
HWDSWKDWLLTKQWVQA	173
TRPLQKDWLLTKQWLRVG	174
SDQWQKDWLLTKQWFDV	175
QOTFMKDWLLTKQWIRRH	176
QGECKKDWLLTKQCFPGQ	177
GQMGWRWDPLIKMCLGPS	178
QLDGCKDWLLTKQKVCIP	179
HGYWQKDWLLTKQWVSSE	180
HQGQCGDWLLTKQIYLPCH	181
LHKACKDWLLTKQCWPMQ	182
GPPGSVWDLLTKIWIQTG	183
ITQDWRFDTLTRLWLPLR	184
QGGFAAWDVLTKMWITVP	185
GHGTPWWDALTRIWIILGV	186
VWPWQKDWLLTKQFVFQD	187
WQWSWKDWLLTKQYISSS	188
NQTLWKDWLLTKQFITYM	60
PVYQGWWDTLTKLYIWDG	61
WLDGGWRDPLIKRSVQLG	62
GHQQFKDWLLTKQWVQSN	63
QRVGQFWDVLTKMFITGS	64
QAQGSYDALIKTWIRWP	65
GWMHWKWDPLTKQALPWM	66
GHPTYKDWLLTKQWILQM	67
WNNWSLWDPLTKLWLQQN	68
WQWGWKDWLLTKQWVQQQ	69
GQMGWRWDPLTKMWLGTS	70

10

20

30

【 0 0 7 0 】

既知の T A L L - 1 受容体は、好ましいペプチドと、ある程度の配列相同性を保持していることに注目すべきである。

【 0 0 7 1 】

【 化 1 6 】

12-3

LPGCKWDLLIKQWVCDPL

BAFFR MRRGPRSLRGRDAPVPTPCVPTECYDLLVRKCVDCRLL

TACI TICNHQSQRTCAAFCSRSLSCRKEQGKFYDHLRLDCISCASI

BCMA FVSPSQEIRGRFRRLQMAGQCSQNEYFDSLHLHACIPCQLRC

40

(配列番号 : 33、195、196及び197)

【 0 0 7 2 】

システイニル残基を含有しているペプチドは、もう一つの C y s 含有ペプチドと架橋されることができ、それらの一方又は両方が、ビヒクルに連結され得る。複数個の C y s 残基を有する任意のペプチドは、ペプチド内ジスルフィド結合も形成しうる。これらのペプチドは、後記のように誘導体化され得る。

【 0 0 7 3 】

50

さらなる有用なペプチド配列が、表 2 中の配列のアミノ酸配列の保存的修飾及び / 又は非保存的修飾により生じ得る。

【 0 0 7 4 】

保存的修飾は、このような修飾が施されるペプチドのものと類似した機能的特徴及び化学的特徴を有するペプチドを生成させるであろう。対照的に、ペプチドの機能的特徴及び / 又は化学的特徴の実質的な修飾は、(a) 置換の区域における分子骨格の構造、例えばシート状もしくはらせん状のコンフォメーション、(b) 標的部位における分子の電荷もしくは疎水性又は (c) 分子のサイズ、の維持に対する効果が有意に異なるアミノ酸配列の置換を選択することにより、達成され得る。

【 0 0 7 5 】

例えば、「保存的アミノ酸置換」は、その位置におけるアミノ酸残基の極性又は電荷に対する効果がほとんど又は全く存在しないような、天然型アミノ酸残基の非天然型残基への置換を含みうる。さらに、「アラニンスキャニング突然変異誘発」に関して以前に記載されたように、ポリペプチド内の任意の天然型残基が、アラニンに置換されうる（例えば、アラニンスキャニング突然変異誘発について考察している、Mac Lennanら、1998、Acta Physiol. Scand. Suppl. 643: 55 - 67; Sasakiら、1998、Adv. Biophys. 35: 1 - 24を参照のこと）。

【 0 0 7 6 】

所望のアミノ酸置換は、（保存的であるか又は非保存的であるかに関わらず）、このような置換が望まれる時点で、当業者によって決定されうる。例えば、アミノ酸置換は、ペプチド配列の重要な残基を同定するため、又は本明細書に記載されたペプチド分子もしくはビヒクル - ペプチド分子（前記式参照）の親和性を増加もしくは減少させるため、使用されうる。例示的なアミノ酸置換を、表 3 に示す。

【 0 0 7 7 】

10

20

【表 3】

表 3－アミノ酸置換

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser, Ala	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly (G)	Pro, Ala	Ala
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu (L)	Norleucine, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys (K)	Arg, 1,4－ジアミノ酪酸, Gln, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro (P)	Ala	Gly
Ser (S)	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu

【0078】

ある種の実施形態において、保存的アミノ酸置換は、典型的には生物学的な系における合成ではなく化学的ペプチド合成によって組み込まれる、天然には存在しないアミノ酸残基も包含する。

【0079】

前述のセクション「用語の定義」において記述されたように、天然に存在する残基は、配列の修飾にとって有用であるかもしれない共通の側鎖特性に基づくクラスに分類され得る。例えば、非保存的置換は、これらのクラスのうちの一つのメンバーと、もう一つのクラスのメンバーとの交換を含み得る。このような置換された残基は、非ヒトオルソログと相同なペプチドの領域又は分子の非相同領域に導入され得る。さらに、鎖の方向に影響を及ぼす目的で、P又はGを使用した修飾を施すことも可能である。

【0080】

このような修飾においては、アミノ酸のハイドロパシクインデックス (hydrophatic index) が考慮され得る。各アミノ酸には、それらの疎水性及び電荷の特徴に基づくハイドロパシクインデックスが割り当てられており、これらは、イソロイシン (+4.5) ; バリン (+4.2) ; ロイシン (+3.8) ; フェニルアラニン (+2.8) ; システイン/シスチン (+2.5) ; メチオニン (+1.9) ; アラニン (+1.8) ; グリシン (-0.4) ;トレオニン (-0.7) ; セリン (-0.8) ; トリプトファン (-0.9) ; チロシン (-1.3) ; プロリン (-1.6) ; ヒスチジン (-3.2) ; グルタミン酸 (-3.5) ; グルタミン (-3.5) ; アスパラギン酸 (-3.5) ; アスパラギン (-3.5) ; リジン (-3.9) ; 及びアルギニン (-4.5) である。

10

【0081】

相互作用性の生物学的機能をタンパク質に付与する際のハイドロパシクアミノ酸インデックスの重要性は、当技術分野において理解されている。Kyteら、J. Mol. Biol.、157: 105-132 (1982)。ある種のアミノ酸は、類似したハイドロパシクインデックス又はスコアを有する他のアミノ酸と置換された場合に、類似した生物学的活性を保持しうることが知られている。ハイドロパシクインデックスに基づき変化を施す際には、ハイドロパシクインデックスが ± 2 以内であるアミノ酸の置換が好ましく、 ± 1 以内のものが特に好ましく、 ± 0.5 以内のものがさらに特に好ましい。

【0082】

20

類似アミノ酸の置換が、親水性に基づき効率的に施され得ることも、当技術分野において理解されている。隣接したアミノ酸の親水性によって支配されるような、タンパク質の最も大きい局所平均親水性は、その免疫原性及び抗原性、即ちタンパク質の生物学的特性と相関する。

【0083】

以下のような親水性値がアミノ酸残基に割り当てられている：アルギニン (+3.0) ; リジン (+3.0) ; アスパラギン酸 (+3.0 \pm 1) ; グルタミン酸 (+3.0 \pm 1) ; セリン (+0.3) ; アスパラギン (+0.2) ; グルタミン (+0.2) ; グリシン (0) ;トレオニン (-0.4) ; プロリン (-0.5 \pm 1) ; アラニン (-0.5) ; ヒスチジン (-0.5) ; システイン (1.0) ; メチオニン (-1.3) ; バリン (-1.5) ; ロイシン (-1.8) ; イソロイシン (-1.8) ; チロシン (-2.3) ; フェニルアラニン (-2.5) ; トリプトファン (-3.4)。類似した親水性値に基づき変化を施す際には、親水性値が ± 2 以内であるアミノ酸の置換が好ましく、 ± 1 以内のものが特に好ましく、 ± 0.5 以内のものがさらに特に好ましい。親水性に基づき、一次アミノ酸配列からエピートープを同定することも可能である。これらの領域は、「エピートープコア領域」とも呼ばれる。

30

【0084】

当業者であれば、周知の技術を使用して、前述の配列に示されたようなポリペプチドの適切なバリエーションを決定することができるであろう。活性を破壊することなく変化させることができる分子の適切な区域を同定するため、当業者は、活性にとって重要ではないと考えられる区域を標的とすることができる。例えば、同一種又は他種からの類似した活性を有する類似ポリペプチドが既知である場合、当業者は、ペプチドのアミノ酸配列を類似ペプチドと比較することができる。このような比較により、類似ポリペプチド間で保存されている分子の残基及び部分を同定できる。このような類似ペプチドと比べて保存されていないペプチドの区域の変化は、ペプチドの生物学的活性及び/又は構造に悪影響を及ぼす可能性が低いであろうことが認識されよう。当業者は、比較的保存された領域ですら、活性を保持しながら、天然に存在する残基を、化学的に類似したアミノ酸に置換できることも承知しているであろう (保存的アミノ酸残基置換)。従って、生物学的活性又は構造にとって重要であるかもしれない区域ですら、生物学的活性を破壊することなく、又はペプチド構造に悪影響を及ぼすことなく、保存的アミノ酸置換に供することができる。

40

50

【0085】

さらに、当業者は、活性又は構造にとって重要な類似ペプチド内の残基を同定する構造-機能研究を再検討することができる。このような比較を考慮して、類似ペプチド内の活性又は構造にとって重要なアミノ酸残基に相当する、ペプチド内のアミノ酸残基の重要性を予測することができる。当業者は、このような予測されたペプチドの重要なアミノ酸残基のための、化学的に類似したアミノ酸への置換を選ぶこともできる。

【0086】

当業者は、類似ポリペプチドの構造に関して、三次元構造及びアミノ酸配列を分析することもできる。その情報を考慮して、当業者は、三次元構造に関するペプチドのアミノ酸残基のアラインメントを予測することができる。タンパク質の表面上にあると予測されたアミノ酸残基は、他の分子との重要な相互作用に関与している可能性があるため、当業者は、このような残基には根本的な変化を施さないことを選択することができる。さらに、当業者は、所望の各アミノ酸残基の単一アミノ酸置換を含有している試験バリエーションを生成させることができる。次いで、バリエーションを、当業者に既知の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。このようなデータは、適切なバリエーションに関する情報を集めるために使用できる。例えば、特定のアミノ酸残基に対する変化が、破壊された活性、望ましくなく低下した活性又は不適切な活性をもたらすことが発見された場合、このような変化を有するバリエーションは回避されるであろう。換言すると、このようなルーチンの実験から集められた情報に基づき、当業者であれば、単独の又はその他の変異と組み合わせられたさらなる置換を回避すべきアミノ酸を、容易に決定することができる。

【0087】

多数の科学的出版物が、二次構造の予測を扱っている。Moult J.、Curr. Opin. Biotech.、7(4):422-427(1996)、Chouら、Biochemistry、13(2):222-245(1974); Chouら、Biochemistry、113(2):211-222(1974); Chouら、Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.、47:45-148(1978); Chouら、Ann. Rev. Biochem.、47:251-276及びChouら、Biophys. J.、26:367-384(1979)を参照のこと。さらに、現在では、コンピュータプログラムが、二次構造の予測を補助するために利用可能である。二次構造を予測する一つの方法は、ホモロジーモデリング(homology modeling)に基づく。例えば、30%超の配列同一性又は40%超の類似性を有する2個のポリペプチド又はタンパク質は、しばしば、類似した構造的位相を有する。タンパク質構造データベース(PDB)の最近の発達は、ポリペプチド又はタンパク質の構造内の可能性のある折り畳みの数を含む、増強された二次構造の予測を提供した。Holmら、Nucl. Acid. Res.、27(1):244-247(1999)を参照のこと。所定のポリペプチド又はタンパク質には限定された数の折り畳みが存在すること、及び決定的な構造の数が解明された後は、構造的な予測の精度が劇的に高まるであろうことが示唆されている(Brennerら、Curr. Op. Struct. Biol.、7(3):369-376(1997))。

【0088】

さらなる二次構造予測法には、「スレッディング(threading)」(Jones, D.、Curr. Opin. Struct. Biol.、7(3):377-87(1997); Sipplら、Structure、4(1):15-9(1996))、「プロファイル分析(profile analysis)」(Bowieら、Science、253:164-170(1991); Gribskovら、Meth. Enzym.、183:146-159(1990); Gribskovら、Proc. Nat. Acad. Sci.、84(13):4355-8(1987))及び「進化的連結(evolutionary linkage)」(Home(前記)及びBrenner(前記)参照)が含まれる。

【0089】

ビヒクル。本発明は、N末端、C末端又はアミノ酸残基のいずれか一つの側鎖を通してペプチドに付加された少なくとも1個のビヒクル(V^1)の存在を必要とする。複数のビヒクルが使用されてもよく；例えば、各末端にFcが使用されてもよいし、又は一方の末端にFc、他方の末端もしくは側鎖にPEG基が使用されてもよい。例示的なビヒクルには、

- ・ Fcドメイン；
- ・ サルベージ受容体と結合する能力を有する他のタンパク質、ポリペプチド又はペプチド；
- ・ ヒト血清アルブミン(HSA)；
- ・ ロイシンジッパー(LZ)ドメイン；
- ・ 5 kD、20 kD及び30 kD PEGを含むポリエチレングリコール(PEG)、並びにその他の重合体；
- ・ デキストラン；

並びに、延長された半減期及び/又はタンパク質分解もしくはクリアランスからの防御を提供することが当技術分野において既知のその他の分子が含まれる。

【0090】

Fcドメインは、好ましいビヒクルである。Fcドメインは、ペプチドのN末端もしくはC末端、又はN末端及びC末端の両方に融合させることができる。N末端への融合が好ましい。

【0091】

前述のように、Fcバリエーションは、本発明の範囲内の適切なビヒクルである。天然型Fcは、サルベージ受容体との結合が維持されることを条件として、本発明によるFcバリエーションを形成するよう広範に修飾され得る；例えば、WO 97/34631及びWO 96/32478を参照のこと。このようなFcバリエーションにおいては、本発明の融合分子にとって必要でない構造的な特色又は機能的活性を提供する天然型Fcの1個又はそれ以上の部位が除去されていてもよい。これらの部位は、例えば、残基の置換もしくは欠失、これらの部位への残基の挿入、又はこれらの部位を含有している部分の短縮により、除去できる。挿入又は置換される残基は、ペプチド模倣体(peptidomimetics)又はD-アミノ酸のような改変されたアミノ酸であってもよい。Fcバリエーションが望ましい理由は多数存在するが、これらのいくつかを以下に記載する。例示的なFcバリエーションは、以下のような分子及び配列を含む。

【0092】

1. ジスルフィド結合形成に関与している部位が除去されている。このような除去により、本発明の分子を作製するために使用される宿主細胞中に存在する他のシステイン含有タンパク質との反応を回避することができる。この目的のためには、N末端のシステイン含有セグメントを短縮するか、又はシステイン残基を欠失させるかもしくは他のアミノ酸(例えば、アラニル、セリル)に置換することができる。特に、配列番号2のN末端の20アミノ酸セグメントを短縮するか、又は配列番号2の7位及び10位のシステイン残基を欠失させるかもしくは置換することが可能である。システイン残基が除去された場合ですら、単鎖Fcドメインは、非共有結合的に維持された二量体Fcドメインを形成することができる。

【0093】

2. 天然型Fcが、選択された宿主細胞との適合性を高めるために修飾されている。例えば、プロリンイミノペプチダーゼのような大腸菌の消化酵素によって認識され得る、典型的な天然型FcのN末端近傍のPA配列を除去することが可能である。分子が大腸菌のような細菌細胞において組換え発現される場合には特に、N末端メチオニン残基を追加することもできる。配列番号2のFcドメインは、このようなFcバリエーションの一つである。

【0094】

3. 選択された宿主細胞において発現された場合のN末端不均質性を防止するため、天

10

20

30

40

50

然型 F c の N 末端の一部が除去されている。この目的のためには、N 末端の最初の 20 個のアミノ酸残基のいずれか、特に 1 位、2 位、3 位、4 位及び 5 位のものを欠失させることが可能である。

【0095】

4. 1 個又はそれ以上のグリコシル化部位が除去されている。典型的にグリコシル化される残基（例えば、アスパラギン）は、細胞溶解応答を付与する場合がある。このような残基は、欠失させるか、又はグリコシル化されない残基（例えば、アラニン）に置換することが可能である。

【0096】

5. C1q 結合部位のような補体との相互作用に関与している部位が除去されている。例えば、ヒト IgG1 の EKK 配列を欠失させるか又は置換することが可能である。補体動員は、本発明の分子にとって有利ではない場合があり、従って、このような Fc バリエーションによって回避してもよい。

10

【0097】

6. サルベージ受容体以外の Fc 受容体との結合に影響する部位が除去されている。天然型 Fc は、本発明の融合分子にとって必要でないある種の白血球との相互作用のための部位を有する場合があり、従って、除去してもよい。

【0098】

7. ADC C 部位が除去されている。ADC C 部位は、当技術分野において既知である；例えば、IgG1 の ADC C 部位に関しては、Mol. Immunol. 29 (5) : 633 - 9 (1992) を参照のこと。これらの部位は、同様に、本発明の融合分子にとっては必要でなく、従って、除去してもよい。

20

【0099】

8. 天然型 Fc が非ヒト抗体に由来する場合、天然型 Fc はヒト化され得る。典型的には、天然型 Fc をヒト化するためには、非ヒト天然型 Fc の選択された残基が、ヒト天然型 Fc に通常見出される残基に置換されるであろう。抗体ヒト化のための技術は、当技術分野において周知である。

【0100】

好ましい Fc バリエーションには、以下のものが含まれる。配列番号 2（図 3）において、15 位のロイシンはグルタミン酸に；99 位のグルタミン酸はアラニンに；そして 101 及び 103 位のリジンはアラニンに置換できる。さらに、1 個又はそれ以上のチロシン残基を、フェニルアラニン残基に交換してもよい。

30

【0101】

別のビヒクルは、サルベージ受容体と結合する能力を有するタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、抗体、抗体断片又は低分子（例えば、ペプチド模倣（peptidomimetic）化合物）であろう。例えば、1998 年 4 月 14 日発行の Presta らの米国特許第 5,739,277 号に記載されているようなポリペプチドが、ビヒクルとして使用できる。ペプチドは、FcRn サルベージ受容体との結合に関するファージディスプレイスクリーニング又は RNA - ペプチドスクリーニングによって選択してもよい。このようなサルベージ受容体結合化合物も、「ビヒクル」の意味に含まれ、本発明の範囲内である。このようなビヒクルは、（例えば、プロテアーゼにより認識される配列の回避による）増加した半減期及び（例えば、抗体ヒト化において発見されたような非免疫原性配列の優先による）減少した免疫原性に関して、選択されるべきである。

40

【0102】

前述のように、重合体ビヒクルも V¹ として使用することができる。ビヒクルとして有用な化学部分を付加するための様々な手段が、現在、利用可能であり、例えば、参照して完全に本明細書に組み込まれる、「N 末端が化学的に修飾されたタンパク質組成物及び方法（N-Terminally Chemically Modified Protein Compositions and Methods）」なる表題の特許協力条約（「PCT」）国際公開第 WO96/11953 号を参照のこと。この PCT 公報は、タ

50

ンパク質のN末端への水溶性高分子の選択的な付加を特に開示している。

【0103】

好ましい重合体ビヒクルは、ポリエチレングリコール（PEG）である。PEG基は、任意の便利な分子量のものであってよく、そして直鎖型であってもよいし又は分岐型であってもよい。PEGの平均分子量は、好ましくは約2キログルトン（「kD」）から約100kD、より好ましくは約5kDから約50kD、最も好ましくは約5kDから約10kDの範囲であろう。PEG基は、一般に、PEG部分の反応性基（例えば、アルデヒド、アミノ、チオール又はエステル基）による、本発明の化合物の反応性基（例えば、アルデヒド、アミノ又はエステル基）に対するアシル化又は還元的アルキル化を介して、本発明の化合物に付加されるであろう。

10

【0104】

合成ペプチドのPEG化のための有用な戦略は、溶液中での共役連結の形成を通して、相互に他方に対して反応性の特別の官能性を各々保持しているペプチド及びPEG部分を組み合わせることからなる。ペプチドは、従来の固相合成により容易に調製できる。ペプチドを、特定の部位において適切な官能基により「予備活性化」することができる。前駆体を精製され、完全に特徴決定した後、PEG部分と反応させることができる。ペプチドのPEGとのライゲーションは、通常水相で行い、逆相分析用HPLCによって容易にモニタリングすることができる。PEG化されたペプチドは、調製用HPLCにより容易に精製でき、分析用HPLC、アミノ酸分析及びレーザー脱着質量分析によって特徴決定できる。

20

【0105】

多糖重合体は、タンパク質修飾のため使用できるもう一つの型の水可溶性重合体である。デキストランは、1-6連結によって主に連結されたグルコースの個々のサブユニットから構成された多糖重合体である。デキストラン自体は、多くの分子量範囲のものが入手可能であり、約1kDから約70kDの分子量のものが容易に入手可能である。デキストランは、単独で又はもう一つのビヒクル（例えばFc）と組み合わせて、ビヒクルとして本発明において使用するのに適した水溶性重合体である。例えば、WO96/11953及びWO96/05309を参照のこと。治療用又は診断用の免疫グロブリンと共役したデキストランの使用は報告されており；例えば、参照して完全に本明細書に組み込まれる欧州特許公開第315456号を参照のこと。デキストランを本発明によるビヒクルとして使用する場合、約1kDから約20kDのデキストランが好ましい。

30

【0106】

リンカー。「リンカー」基が、場合により存在してもよい。存在する場合、これは、主としてスペーサーとしてはたらくため、化学構造は重大ではない。このリンカーは、好ましくはペプチド結合によって連結されたアミノ酸から構成される。従って、好ましい実施形態において、このリンカーは、ペプチド結合によって連結された1個から30個のアミノ酸（アミノ酸は、20個の天然に存在するアミノ酸より選択される）から構成される。当業者にはよく理解されるように、これらのアミノ酸のいくつかは、グリコシル化される。より好ましい実施形態において、この1個から20個のアミノ酸は、グリシン、アラニン、プロリン、アスパラギン、グルタミン及びリジンから選択される。さらに好ましくは、このリンカーは、グリシン及びアラニンのような立体障害を受けないアミノ酸の過半数から構成される。従って、好ましいリンカーは、ポリグリシン（特に、（Gly）₄、（Gly）₅）、ポリ（Gly-Ala）及びポリアラニンである。その他のリンカーの具体例は、

40

【0107】

【化 17】

$(\text{Gly})_3\text{Lys}(\text{Gly})_4$ (配列番号 : 40)

$(\text{Gly})_3\text{AsnGlySer}(\text{Gly})_2$ (配列番号 : 41)

$(\text{Gly})_3\text{Cys}(\text{Gly})_4$ (配列番号 : 42) 及び

GlyProAsnGlyGly (配列番号 : 43)

である。上記の命名法を説明すると、例えば、 $(\text{Gly})_3\text{Lys}(\text{Gly})_4$ とは、 $\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Lys}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Gly}$ (配列番号 40) を意味する。 Gly と Ala との組み合わせも好ましい。ここに示されたリンカーは、例示的なものであり；本発明の範囲内のリンカーは、はるかに長くてもよく、そしてその他の残基を含んでいてもよい。

10

【0108】

好ましいリンカーは、5 個超のアミノ酸を含むアミノ酸リンカーであり、適切なリンカーは、グリシン、アラニン、プロリン、アスパラギン、グルタミン、リジン、トレオニン、セリン又はアスパラギン酸より選択されるアミノ酸を最大約 500 個有する。約 20 ~ 50 アミノ酸のリンカーが、最も好ましい。好ましいリンカーの一つの群は、式

【0109】

【化 18】

20

$\text{GSGSATGGSGSTASSGSGSATx}^1\text{x}^2$

(配列番号 : 193)

及び

$\text{GSGSATGGSGSTASSGSGSATx}^1\text{x}^2\text{GSGSATGGSGSTASSGSGSATx}^3\text{x}^4$

(配列番号 : 194)

[式中、 x^1 及び x^3 は、各々独立に、塩基性残基又は疎水性残基であり、かつ x^2 及び x^4 は、各々独立に、疎水性残基である] のものである。特に好ましいリンカーは

30

【0110】

【化 19】

$\text{GSGSATGGSGSTASSGSGSATHM}$

(配列番号 : 59)

$\text{GSGSATGGSGSTASSGSGSATGM}$

(配列番号 : 190)

$\text{GSGSATGGSGSTASSGSGSATGS}$

(配列番号 : 191) 及び

40

$\text{GSGSATGGSGSTASSGSGSATHMGSGSATGGSGSTASSGSGSATHM}$

(配列番号 : 192)

である。

【0111】

非ペプチドリリンカーも、可能である。例えば、 $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_s-\text{C}(\text{O})-$ [式中、 $s = 2 \sim 20$] のようなアルキルリンカーを使用することができる。これらのアルキルリンカーは、さらに、低級アルキル (例えば $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$) 低級アシル、ハロゲン (例え

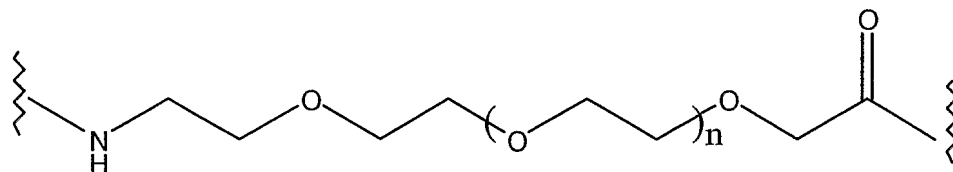
50

ば、C l、B r)、C N、N H₂、フェニル等のような任意の立体障害を起こさない基によって置換されていてよい。例示的な非ペプチドリinkerは、P E G リンカー

【 0 1 1 2 】

【 化 2 0 】

VII



10

[式中、n は、リンカーが 1 0 0 k D から 5 0 0 0 k D、好ましくは 1 0 0 k D から 5 0 0 k D の分子量を有するようなものである] である。ペプチドリinkerは、前記と同様にして誘導体を形成するため改変されてもよい。

【 0 1 1 3 】

誘導体。本発明者らは、化合物のペプチド部分及び / 又はビヒクル部分の誘導体化も企図する。このような誘導体は、化合物の可溶性、吸収、生物学的半減期等を改良するかもしれない。別法として、この部分により、化合物の望ましくない副作用等を排除するか又は弱めることもできる。例示的な誘導体は、以下のような化合物を含む。

20

【 0 1 1 4 】

1 . 化合物又はその一部が環状である。例えば、ジスルフィド結合形成によって環化できる 2 個以上の C y s 残基を (例えばリンカー内に) 含有するよう、ペプチド部分を修飾することが可能である。

【 0 1 1 5 】

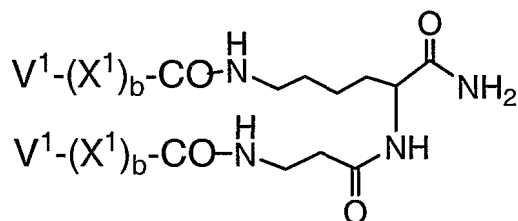
2 . 化合物が架橋されているか又は分子間架橋可能にされている。例えば、1 個の C y s 残基を含有し、それにより類似分子と分子間ジスルフィド結合を形成することができるよう、ペプチド部分を修飾することが可能である。化合物は、以下に示された分子のように、C 末端を通して架橋されてもよい。

【 0 1 1 6 】

30

【 化 2 1 】

VIII



式 V I I I 中、各「 V¹ 」は、典型的には、1 本の F c ドメイン鎖を表しうる。

40

【 0 1 1 7 】

3 . 1 個又はそれ以上のペプチジル [- C (O) N R -] 連結 (結合) が、非ペプチジル連結に交換されている。例示的な非ペプチジル結合は、- C H₂ - カルバメート [- C H₂ - O C (O) N R -]、ホスホネート、- C H₂ - スルホンアミド [- C H₂ - S (O)₂ N R -]、尿素 [- N H C (O) N H -]、- C H₂ - 第二級アミン、並びにアルキル化ペプチド [- C (O) N R⁶ - (R⁶ は低級アルキルである)] である。

【 0 1 1 8 】

4 . N 末端が誘導体化されている。典型的には、N 末端をアシル化するか又は置換型アミンへ修飾することが可能である。例示的な N 末端誘導体基には、- N R R' (- N H₂ を除く)、- N R C (O) R¹、- N R C (O) O R¹、- N R S (O)₂ R¹、- N H

50

$C(O)NHR^1$ 、スクシンイミド又はベンジルオキシカルボニル - $NH - (CBZ - NH -)$ [式中、 R 及び R^1 は、各々独立に、水素又は低級アルキルであり、フェニル環は、 $C_1 \sim C_4$ アルキル、 $C_1 \sim C_4$ アルコキシ、クロロ及びブロモからなる群より選択される 1 個から 3 個の置換基により置換されていてよい] が含まれる。

【 0 1 1 9 】

5. 遊離 C 末端が誘導体化されている。典型的には、C 末端をエステル化又はアミド化することが可能である。例示的な C 末端誘導体基には、例えば、 $-C(O)R^2$ [式中、 R^2 は低級アルコキシである] 又は $-NR^3R^4$ [式中、 R^3 及び R^4 は、独立に、水素又は $C_1 \sim C_8$ アルキル (好ましくは $C_1 \sim C_4$ アルキル) である] が含まれる。

【 0 1 2 0 】

6. ジスルフィド結合が、もう一つの、好ましくはより安定な架橋部分 (例えば、アルキレン) に交換されている。例えば、Bhatnagar ら (1996)、J. Med. Chem. 39 : 3814 - 9 ; Alberts ら (1993) Thirteenth Am. Pept. Symp.、357 - 9 を参照のこと。

【 0 1 2 1 】

7. 1 個又はそれ以上の個々のアミノ酸残基が修飾されている。以下に詳述されるように、様々な誘導体化剤が、選択された側鎖又は末端残基と特異的に反応することが既知である。

【 0 1 2 2 】

リジニル残基及びアミノ末端残基は、リジニル残基の電荷を逆転させるコハク酸又はその他のカルボン酸の無水物と反応させることができる。アルファ - アミノ含有残基の誘導体化のためのその他の適切な試薬には、メチルピコリンイミダート (methyl picolinimide) のようなイミドエステル ; ピリドキサルリン酸 ; ピリドキサル ; クロロボロヒドリド (chloroborohydride) ; トリニトロベンゼンスルホン酸 ; O - メチルイソ尿素 ; 2 , 4 ペンタンジオン ; 及びトランスアミナーゼにより触媒されるグリオキシル酸塩との反応が含まれる。

【 0 1 2 3 】

アルギニル残基は、フェニルグリオキサール、2 , 3 - ブタンジオン、1 , 2 - シクロヘキサンジオン及びニンヒドリンを含むいくつかの従来の試薬のいずれか又は組み合わせとの反応によって修飾できる。アルギニル残基の誘導体化は、グアニジン官能基の高い pK_a のため、アルカリ性条件下で反応を実施することを必要とする。さらに、これらの試薬は、アルギニンのイプシロン - アミノ基のみならず、リジンの基とも反応できる。

【 0 1 2 4 】

チロシル残基の特異的な修飾は、広範囲に、特に、芳香族ジアゾニウム化合物又はテトラニトロメタンとの反応によるチロシル残基へのスペクトル標識の導入において研究されている。最も一般的には、N - アセチルイミジゾール (imidazole) 及びテトラニトロメタンが、それぞれ O - アセチルチロシル種及び 3 - ニトロ誘導体を形成させるために使用される。

【 0 1 2 5 】

カルボキシル側鎖基 (アスパルチル又はグルタミル) は、1 - シクロヘキシル - 3 - (2 - モルホリニル - (4 - エチル) カルボジイミド又は 1 - エチル - 3 - (4 - アゾニア - 4 , 4 - ジメチルペンチル) カルボジイミドのようなカルボジイミド ($R' - N = C = N - R'$) との反応によって選択的に修飾できる。さらに、アスパルチル残基及びグルタミル残基は、アンモニウムイオンとの反応によってアスパラギニル残基及びグルタミニル残基へ変換することができる。

【 0 1 2 6 】

グルタミニル残基及びアスパラギニル残基は、対応するグルタミル残基及びアスパルチル残基へ脱アミドされ得る。別法として、温和な酸性条件下でこれらの残基を脱アミドすることもできる。これらの残基は、いずれの形態も、本発明の範囲内に含まれる。

【 0 1 2 7 】

システイニル残基は、ジスルフィド結合を排除するか又は反対に架橋を安定化するため、アミノ酸残基又はその他の部分に交換することができる。例えば、Bhatnagarら(1996)、J. Med. Chem. 39:3814-9参照。

【0128】

二官能剤による誘導体化は、ペプチド又はそれらの機能性誘導体の、水不溶性支持マトリックス又はその他の巨大分子ビヒクルへの架橋にとって有用である。一般的に使用されている架橋剤には、例えば、1,1-ビス(ジアゾアセチル)-2-フェニルエタン、グルタルアルデヒド、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、例えば4-アジドサリチル酸とのエステル、3,3'-ジチオビス(スクシンイミジルプロピオネート)のようなジスクシンイミジルエステルを含むホモ二官能性(homobifunctional)イミドエステル及びビス-N-マレイミド-1,8-オクタンのような二官能性マレイミドが含まれる。メチル-3-[(p-アジドフェニル)ジチオ]プロピオイミデート(propioimide)のような誘導体化剤は、光の存在下で架橋を形成させる能力を有する光活性化可能中間体を与える。別法として、臭化シアンにより活性化された炭水化物のような反応性水不溶性マトリックス、並びに米国特許第3,969,287号、第3,691,016号;第4,195,128号;第4,247,642号;第4,229,537号;及び第4,330,440号に記載された反応性基質が、タンパク質固定化のため利用される。

【0129】

炭水化物(オリゴ糖)基は、便利なことに、タンパク質内のグリコシル化部位であることが既知の部位へ付加され得る。一般に、O結合型オリゴ糖はセリン(Ser)残基又はトレオニン(Thr)残基へ付加され、N結合型オリゴ糖は、配列Asn-X-Ser/Thr[式中、Xは、プロリン以外の任意のアミノ酸でありうる]の一部であるアスパラギン(Asn)残基へ付加される。Xは、好ましくは、プロリン以外の19個の天然に存在するアミノ酸のいずれかである。N結合型及びO結合型のオリゴ糖の構造、並びに各型に見い出される糖残基は異なっている。両方に共通して見出される一つの糖の型は、(シアル酸と呼ばれる)N-アセチルノイラミン酸である。シアル酸は、通常、N結合型及びO結合型両方のオリゴ糖の末端残基であり、その負の電荷のため、グリコシル化合物に酸性特性を付与することができる。このような(1個又はそれ以上の)部位が、本発明の化合物のリンカーに組み込まれてもよく、好ましくは、(例えば、CHO、BHK、COSのような哺乳動物細胞における)ポリペプチド化合物の組換え作製中に細胞によってグリコシル化される。しかしながら、このような部位は、当技術分野において既知の合成法又は半合成法によって、さらにグリコシル化されてもよい。

【0130】

その他の可能な修飾には、プロリン及びリジンのヒドロキシル化、セリル残基又はトレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、Cys内の硫黄原子の酸化、リジン、アルギニンのアルファ-アミノ基及びヒスチジン側鎖のメチル化が含まれる。Creighton、Proteins: Structure and Molecule Properties(W. H. Freeman & Co., サンフランシスコ(San Francisco)), 79~86頁(1983)。

【0131】

本発明の化合物は、DNAレベルで変化させることもできる。化合物の任意の部分のDNA配列を、選択された宿主細胞とより適合性のコドンへ変化させることができる。好ましい宿主細胞である大腸菌に関して、最適化されたコドンは、当技術分野において既知である。制限部位を排除するため、又は選択された宿主細胞におけるDNAのプロセッシングを援助し得るサイレント制限部位を含めるため、コドンを置換してもよい。ビヒクル、リンカー及びペプチドのDNA配列を、前述の配列変化のいずれかを含むよう修飾することができる。

【0132】

作成法

本発明の化合物は、主として、組換えDNA技術を使用して形質転換宿主細胞において作成することができる。そのためには、ペプチドをコードする組換えDNA分子を調製する。このようなDNA分子を調製する方法は、当技術分野において周知である。例えば、適切な制限酵素を使用して、ペプチドをコードする配列をDNAから切り出すことができる。別法として、ホスホoramidate (phosphoramidate) 法のような化学合成技術を使用して、DNA分子を合成してもよい。また、これらの技術の組み合わせを使用することもできる。

【0133】

本発明は、適切な宿主においてペプチドを発現することができるベクターも含む。ベクターは、適切な発現調節配列に機能的に連結されたペプチドをコードするDNA分子を含む。DNA分子がベクターへ挿入される前又は後に、この機能的な連結を達成する方法は、周知である。発現調節配列には、プロモーター、アクチベーター、エンハンサー、オペレーター、リボソーム結合部位、開始シグナル、終止シグナル、キャッピングシグナル、ポリアデニル化シグナル及び転写又は翻訳の調節に關与するその他のシグナルが含まれる。

10

【0134】

内部にDNA分子を有する得られたベクターが、適切な宿主を形質転換するために使用される。この形質転換は、当技術分野において周知の方法を使用して実施できる。

【0135】

多数の利用可能かつ周知の宿主細胞のいずれかを、本発明の実施において使用することができる。特定の宿主の選択は、当技術分野において認識されている多数の要因に依存する。これらには、例えば、選択された発現ベクターとの適合性、DNA分子によってコードされたペプチドの毒性、形質転換効率、ペプチド回収の容易さ、発現特徴、生物学的安全性及びコストが含まれる。全ての宿主が、特定のDNA配列の発現のために等しく有効ではないことを理解し、これらの要因のバランスをとらなければならない。これらの一般的な指針として、有用な微生物宿主には、(大腸菌(*E. coli*) sp.のような)細菌、(サッカロミセス(*Saccharomyces*) sp.のような)酵母及びその他の真菌、昆虫、植物、(ヒトを含む)哺乳動物の培養細胞又は当技術分野において既知のその他の宿主が含まれる。

20

【0136】

次に、形質転換宿主を培養し精製する。宿主細胞は、所望の化合物が発現されるよう、従来の発酵条件下で培養することができる。このような発酵条件は、当技術分野において周知である。最後に、当技術分野において周知の方法によって、培養物からペプチドを精製する。

30

【0137】

この化合物は、合成法によって作成されてもよい。例えば、固相合成技術を使用することができる。適切な技術は、当技術分野において周知であり、Merrifield (1973)、Chem. Polypeptides、335~61頁(Katsoyannis及びPanayotis編); Merrifield (1963)、J. Am. Chem. Soc. 85: 2149; Davisら(1985)、Biochem. Int. 10: 394-414; Stewart及びYoung (1969)、Solid Phase Peptide Synthesis; 米国特許第3,941,763号; Finnら(1976)、The Proteins (第3版) 2: 105-253; 並びにEricksonら(1976)、The Proteins (第3版) 2: 257-527に記載されたものを含む。固相合成は、小さなペプチドを作成する最も費用対効果の高い方法であるため、個々のペプチドを作成する好ましい技術である。

40

【0138】

誘導体化されたペプチドを含有しているか又は非ペプチド基を含有している化合物は、周知の有機化学技術によって合成することができる。

【0139】

50

化合物の使用

本発明の化合物は、B細胞により媒介される自己免疫疾患の治療において特に有用であろう。特に、本発明の化合物は、全身性エリテマトーデス（SLE）を含むループス並びにループスに関連した疾患及び状態の治療、予防、寛解、診断又は予後判定において有用であろう。その他の好ましい適応症には、B細胞リンパ腫を含む、B細胞により媒介される癌が含まれる。

【0140】

本発明の化合物は、関節の炎症状態を治療するためにも使用され得る。関節の炎症状態は、世界中の数百万人の人々が様々な程度に罹患し障害されている慢性関節疾患である。慢性関節リウマチとは、滑膜に由来するパニヌスと呼ばれる増殖性、侵襲性の結合組織によって軟骨及び骨が徐々に侵食される関節の疾患である。この疾患は、包、腱鞘及び腱のような関節周囲構造のみならず、浅在筋膜、心臓血管系、肺、脾臓、リンパ節、骨格筋、神経系（中枢及び末梢）並びに眼のような関節外組織も侵す場合がある（Silberberg（1985）、Anderson's Pathology、Kissane編、II：1828）。骨関節炎とは、関節軟骨の変性変化、並びに関節周囲の骨及び軟骨の反応性の増殖を特徴とする一般的な関節疾患である。骨関節炎は、異化及び同化の刺激に対する軟骨細胞の不適切な応答によって生じうる、細胞により媒介される活動性の過程である。報告によると、初期の骨関節炎においては、関節軟骨のいくつかのマトリックス分子に変化が起こる（Thonarら（1993）、Rheumatic disease clinics of North America、Moskowitz編、19：635 - 657及びShinmeiら（1992）、Arthritis Rheum.、35：1304 - 1308）。TALL-1、TALL-1R及びそれらのモジュレーターは、これら及び関連状態の治療において有用であると考えられる。

【0141】

本発明の化合物は、

- ・急性膵炎；
- ・ALS；
- ・アルツハイマー病；
- ・喘息；
- ・アテローム性動脈硬化症；
- ・自己免疫性溶血性貧血；
- ・癌、特にB細胞に関連した癌；
- ・悪液質／食欲不振；
- ・慢性疲労症候群；
- ・肝硬変（例えば、原発性胆汁性肝硬変）；
- ・糖尿病（例えば、インスリン糖尿病）；
- ・発熱；
- ・IgA系球体腎炎及び原発性系球体腎炎を含む系球体腎炎；
- ・グッドパスチャー症候群；
- ・ギラン - バレー症候群；
- ・移植片対宿主病；
- ・橋本甲状腺炎；
- ・出血性ショック；
- ・痛覚過敏；
- ・炎症性腸疾患；
- ・骨関節炎、乾癬性関節炎及び慢性関節リウマチを含む関節の炎症状態；
- ・挫傷、捻挫、軟骨損傷、外傷、整形外科手術、感染又はその他の疾患過程に起因する炎症状態；
- ・インスリン依存性糖尿病；
- ・脳虚血を含む虚血性傷害（例えば、各々、神経変性に至る場合がある外傷、てんかん

、出血又は発作の結果としての脳傷害)；

- ・学習障害；
- ・肺疾患（例えば、ARDS）；
- ・多発性骨髄腫；
- ・多発性硬化症；
- ・重症筋無力症；
- ・骨髄性白血病（例えば、AML及びCLL）並びにその他の白血病；
- ・ミオパシー（例えば、特に敗血症における筋肉タンパク質代謝）；
- ・神経毒性（例えば、HIVによって誘導されるようなもの）；
- ・骨粗鬆症；
- ・疼痛；
- ・パーキンソン病；
- ・天疱瘡；
- ・多発性筋炎／皮膚筋炎；
- ・自己免疫性肺炎を含む肺炎；
- ・早産；
- ・乾癬；
- ・ライター病；
- ・再灌流障害；
- ・敗血症性ショック；
- ・放射線療法の副作用；
- ・シェーグレン症候群；
- ・睡眠障害；
- ・顎関節症；
- ・特発性血小板減少症及び自己免疫性新生児血小板減少症を含む血小板減少症；
- ・腫瘍転移；
- ・ブドウ膜炎；並びに
- ・脈管炎

10

20

を含む多数のさらなる疾患及び障害の治療においても有用であるかもしれない。

【0142】

30

本発明の化合物は、単独で投与されてもよいし、又は鎮痛剤、疾患修飾性抗リウマチ薬（DMARD）、非ステロイド性抗炎症剤（NSAID）並びに任意の免疫及び／もしくは炎症モジュレーターを含む、治療的に有効な量の他の薬物と組み合わせて投与されてもよい。従って、本発明の化合物は、以下のものと共に投与されてもよい。

【0143】

・エタネルセプト（etanercept）（エンブレル（Enbrel）（登録商標））、sTNF-R I、オネルセプト（onercept）、D2E7及びレミケード（Remicade）（登録商標）のようなTNFアンタゴニストを含むTNF／TNF受容体ファミリーの他のメンバーのモジュレーター

・神経増殖因子（NGF）モジュレーター

40

・アナキンラ（anakinra）のようなIL-1ra分子並びにIL-1Hy1及びIL-1Hy2のようなより最近発見されたIL-1ra様分子；1998年12月1日発行の米国特許第5,844,099号に記載されたようなIL-1「トラップ」分子；IL-1抗体；可溶性IL-1受容体等を含むIL-1阻害剤

・IL-6阻害剤（例えば、IL-6に対する抗体）

・IL-8阻害剤（例えば、IL-8に対する抗体）

・IL-18阻害剤（例えば、IL-18結合タンパク質、可溶性IL-18受容体又はIL-18抗体）

・インターロイキン-1変換酵素（ICE）モジュレーター

・インスリン様増殖因子（IGF-1、IGF-2）及びそれらのモジュレーター

50

- ・トランスフォーミング増殖因子 - (T G F -)、T G F - ファミリーメンバー及びT G F - モジュレーター
- ・繊維芽細胞増殖因子F G F - 1からF G F - 10及びF G Fモジュレーター
- ・オステオプロテジェリン(O P G)、O P Gアナログ、骨保護(o s t e o p r o t e c t i v e) 剤及びO P Gリガンド(O P G - L) に対する抗体
- ・副甲状腺ホルモン(P T H)、P T H断片及びP T H断片が組み込まれた分子(例えば、P T H (1 - 34) - F c) のような骨同化剤
- ・P A Fアンタゴニスト
- ・ケラチノサイト増殖因子(K G F)、K G F関連分子(例えば、K G F - 2) 及びK G Fモジュレーター
- ・セレブレックス(C e l e b r e x) (登録商標) 及びビオックス(V i o x x) (登録商標) のようなC O X - 2阻害剤
- ・プロスタグランジンアナログ(例えば、プロスタグランジンE)
- ・マトリックスメタロプロテイナーゼ(M M P)モジュレーター
- ・誘導型N O Sのモジュレーターを含む一酸化窒素合成酵素(N O S)モジュレーター
- ・グルココルチコイド受容体のモジュレーター
- ・グルタミン酸受容体のモジュレーター
- ・リポ多糖(L P S)レベルのモジュレーター
- ・癌遺伝子(例えば、f o s、j u n)の阻害剤及びインターフェロンを含む抗癌剤
- ・ノルアドレナリン並びにそのモジュレーター及び模倣体

10

20

医薬組成物

一般。本発明は、本発明の化合物の医薬組成物を使用する方法も提供する。このような医薬組成物は、注射投与用であってもよいし、又は経口、肺内、鼻腔内、経皮もしくはその他の投与形態用であってもよい。一般に、本発明は、医薬適合性の希釈剤、保存剤、可溶化剤、乳化剤、佐剤及び/又は担体と共に、有効量の本発明の化合物を含む医薬組成物を包含する。このような組成物は、様々な緩衝剤(例えば、トリス - H C l、酢酸塩、リン酸塩)、p H及びイオン強度の希釈剤；界面活性剤及び可溶化剤(例えば、トゥイーン80、ポリソルベート80)、抗酸化剤(例えば、アスコルビン酸、メタ重亜硫酸ナトリウム)、保存剤(例えば、チメルソール(T h i m e r s o l)、ベンジルアルコール)並びに賦形物質(例えば、乳糖、マンニトール)のような添加剤；ポリ乳酸、ポリグリコール酸等のような重合体化合物の粒状調製物又はリポソームへの材料の取り込みを含む。ヒアルロン酸が使用されてもよく、これは、循環系における持続性を促進するという効果を有する。このような組成物は、本発明のタンパク質及び誘導体の物理的状態、安定性、インビボ放出速度及びインビボクリアランス速度に影響を及ぼしうる。例えば、参照して完全に本明細書に組み込まれるR e m i n g t o n ' s P h a r m a c e u t i c a l S c i e n c e s、第18版(1990、M a c k P u b l i s h i n g C o .、イーストン、ペンシルヴェニア州(E a s t o n、P A) 18042) 1435~1712頁を参照のこと。この組成物は、液体の形態で調製されてもよいし又は凍結乾燥形態のような乾燥粉末として調製されてもよい。経皮製剤と同様に、埋め込み可能徐放性製剤も企図される。

30

40

【0144】

経口剤形

参照して完全に本明細書に組み込まれるR e m i n g t o n ' s P h a r m a c e u t i c a l S c i e n c e s (1990)、第18版、M a c k P u b l i s h i n g C o .、イーストン、ペンシルヴェニア州(E a s t o n P A) 18042のチャプター89に一般に記載されている経口固体剤形が、本発明における使用のため企図される。固体剤形には、錠剤、カプセル剤、丸剤、トローチ剤もしくはロゼンジ剤(l o z e n g e s)、カシエ剤又はペレット剤(p e l l e t s) が含まれる。(例えば、米国特許第4, 925, 673号で報告されたプロテイノイドマイクロスフェアのような) リポソーム又はプロテイノイドへの封入も、本発明の組成物を製剤化するために使用することが

50

できる。リボソーム封入を使用してもよく、リボソームは、様々な重合体により誘導体化されてもよい（例えば、米国特許第5,013,556号）。治療薬のための可能な固体剤形の説明は、参照して完全に本明細書に組み込まれる、G. S. Banker及びC. T. Rhodes編のModern Pharmaceuticals (1979)のチャプター10 (Marshall, K.) に与えられている。一般に、この製剤は、本発明の化合物と、胃環境からの保護を可能にし腸内で生物学的活性を有する材料を放出する不活性成分とを含むであろう。

【0145】

前記の本発明の化合物の経口剤形も、特に企図される。必要であれば、化合物は、経口送達が有効であるよう、化学的に修飾されてもよい。一般に、企図される化学的修飾は、
(a) タンパク質分解の阻害；及び (b) 胃又は腸から血流への取り込み、を許容する少なくとも1個の部分、化合物分子自体へ付加することである。化合物の全体的な安定性の増加及び体内循環時間の増加も望まれる。本発明における共有結合的に付加されるビヒクルとして有用な部分も、この目的のため使用され得る。このような部分の例には、PEG、エチレングリコールとプロピレングリコールとの共重合体、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン及びポリプロリンが含まれる。例えば、Abuchowski及びDavis、Soluble Polymer-Enzyme Adducts、Enzymes as Drugs (1981)、Hocenberg及びRoberts編、Wiley-Interscience、
ニューヨーク、ニューヨーク州 (New York, NY)、367~83頁；Newmarkら (1982)、J. Appl. Biochem. 4: 185-9を参照のこと。
使用できるその他の重合体は、ポリ-1,3-ジオキソラン及びポリ-1,3,6-チオキソカン (tioxocane) である。前述のように、薬学的使用のため好ましいのは、PEG部分である。

【0146】

経口送達剤形に関して、本発明の治療用化合物の吸収を増強するための担体として、N-(8-[2-ヒドロキシベンゾイル]アミノ)カプリル酸ナトリウム (SNAC) のような修飾された脂肪族アミノ酸の塩を使用することも可能である。SNACを使用したヘパリン製剤の臨床の有効性は、Emisphere Technologiesにより実施された第二相試験において証明されている。米国特許第5,792,451号「経口薬物送達組成物及び方法 (Oral drug delivery composition and methods)」を参照のこと。

【0147】

本発明の化合物は、粒子サイズ約1mmの顆粒又はペレットの形態の微小多重粒子 (multiparticulates) として製剤中に含まれてもよい。カプセル投与用の材料は、粉末、軽度に圧縮されたプラグ又はさらには錠剤として製剤化されてもよい。この治療薬は、圧縮によって調製されてもよい。

【0148】

着色剤及び芳香剤は、全て、含まれていてもよい。例えば、タンパク質（又は誘導体）を（リボソーム又はマイクロスフェアへの封入等により）製剤化し、次いで着色剤及び芳香剤を含有している冷飲料のような食品にさらに含有させることもできる。

【0149】

不活性材料により本発明の化合物を希釈すること、又はその容積を増加させることが可能である。これらの希釈剤には、炭水化物、特にマンニトール、乳糖、無水乳糖、セルロース、ショ糖、修飾型デキストラン及びデンプンが含まれ得る。第三リン酸カルシウム、炭酸マグネシウム及び塩化ナトリウムを含むある種の無機塩も、増量剤として使用できる。いくつかの商業的に入手可能な希釈剤は、ファストフロー (Fast-Flow)、エンデックス (Emdex)、STA-Rx1500、エンコンプレス (Emcompress) 及びアビセル (Avicell) である。

【0150】

治療薬の固体剤形への製剤化において崩壊剤が含まれてもよい。崩壊剤として使用される材料には、以下に限定されないが、デンプンに基づく市販の崩壊剤エクスプロタブ (ExploTab) を含むデンプンが含まれる。デンプングリコール酸ナトリウム、アンバーライト (Amberlite)、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ウルトラミロベクチン (ultramylpectin)、アルギン酸ナトリウム、ゼラチン、オレンジピール、酸性 (acid) カルボキシメチルセルロース、天然海綿及びベントナイトは、全て、使用できる。崩壊剤のもう一つの型は、不溶性の陽イオン交換樹脂である。粉末ゴムが、崩壊剤及び結合剤として使用されてもよく、これらには、天草、カラヤゴム又はトラガカントゴムのような粉末ゴムが含まれ得る。アルギン酸及びそのナトリウム塩も、崩壊剤として有用である。

10

【0151】

硬い錠剤が形成されるよう治療剤をつなぎ合わせるために結合剤が使用されてもよく、これらには、アラビアゴム、トラガカントゴム、デンプン及びゼラチンのような天然生成物由来の材料が含まれる。他には、メチルセルロース (MC)、エチルセルロース (EC) 及びカルボキシメチルセルロース (CMC) が含まれる。ポリビニルピロリドン (PVP) 及びヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) の両方は、治療薬を粒状にするためアルコール性溶液中で使用されうる。

【0152】

製剤化過程におけるスティッキングを防止するため、抗摩擦剤が、治療薬の製剤化において含まれてもよい。滑沢剤が、治療薬とダイ壁との間の層として使用されてもよく、これらには、以下に限定されないが、そのマグネシウム塩及びカルシウム塩を含むステアリン酸、ポリテトラフルオロエチレン (PTFE)、流動パラフィン、植物油並びにロウが含まれ得る。ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム、様々な分子量のポリエチレングリコール、カーボワックス (Carbowax) 4000 及び 6000 のような可溶性の潤滑剤も使用できる。

20

【0153】

製剤化中の薬物の流動性を改良し、圧縮中の再編成を補助しうる流動促進剤 (glidants) が添加されてもよい。この流動促進剤には、デンプン、タルク、発熱性シリカ及びシリコアルミネート水和物 (hydrated silicoaluminate) が含まれうる。

30

【0154】

水性環境への本発明の化合物の溶解を補助するため、湿潤剤として界面活性剤が添加されてもよい。界面活性剤には、ラウリル硫酸ナトリウム、ジオクチルスルホコハク酸ナトリウム及びジオクチルスルホン酸ナトリウムのようなアニオン界面活性剤が含まれうる。カチオン界面活性剤が使用されてもよく、これらには、塩化ベンザルコニウム又は塩化ベンゼトニウムが含まれうる。界面活性剤として製剤中に含まれる可能性のある非イオン性界面活性剤としては、ラウロマクロゴール 400、ステアリン酸ポリオキシシル 40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 10、50 及び 60、モノステアリン酸グリセロール、ポリソルベート 40、60、65 及び 80、ショ糖脂肪酸エステル、メチルセルロース並びにカルボキシメチルセルロースが挙げられる。これらの界面活性剤は、単独で、又は種々の比率の混合物として、このタンパク質又は誘導体の製剤中に存在しうる。

40

【0155】

この化合物の取り込みを増強するための添加剤が、製剤に含まれていてもよい。この特性を有する可能性のある添加剤は、例えば、脂肪酸であるオレイン酸、リノール酸及びリノレン酸である。

【0156】

放出制御製剤が望ましい場合もある。拡散又は浸出いずれかのメカニズムによる放出を許容する不活性マトリックス、例えばゴムに、本発明の化合物を組み込むことができる。徐々に変性するマトリックス、例えばアルギン酸塩、多糖を、製剤へ組み込むこともできる。本発明の化合物の制御放出のもう一つの型は、オロス (Oros) 治療システム (A

50

l z a C o r p .) に基づく方法によるものである。即ち、浸透圧作用によって水が浸入し単一の小さな開口部から薬物を押し出すことを可能にする半透膜に、その薬物が包囲される。いくつかの腸溶性コーティングも、放出遅延効果を有する。

【 0 1 5 7 】

その他のコーティングも、製剤化のため使用できる。これらには、コーティングパンにおいて適用できる多様な糖が含まれる。この治療剤は、フィルムコーティング錠として与えられてもよく、この場合に使用される材料は、二群に分類される。第一は、非腸溶性材料であり、これらには、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、メチルヒドロキシ - エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピル - メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、プロビドン (p r o v i d o n e) 及びポリエチレングリコールが含まれる。第二の群は、一般的にはフタル酸のエステルである腸溶性材料からなる。

10

【 0 1 5 8 】

最適なフィルムコーティングを提供するため、材料の混合物が使用されてもよい。フィルムコーティングは、パンコーティング装置において、流動床において、又は圧縮コーティングにより実施され得る。

【 0 1 5 9 】

肺内送達形態。本発明のタンパク質 (又はそれらの誘導体) の肺内送達も、本発明において企図される。このタンパク質 (又は誘導体) は、吸入により哺乳動物の肺に送達され、肺上皮裏打ちを通過して血流へ移行する。これに関する他の報告には、A d j e i ら、P h a r m a . R e s . (1 9 9 0) 7 : 5 6 5 - 9 ; A d j e i ら (1 9 9 0) 、I n t e r n a t l . J . P h a r m a c e u t i c s 6 3 : 1 3 5 - 4 4 (酢酸ロイプロリド) ; B r a q u e t ら (1 9 8 9) 、J . C a r d i o v a s c . P h a r m a c o l . 1 3 (s u p p l . 5) : s . 1 4 3 - 1 4 6 (エンドセリン - 1) ; H u b b a r d ら (1 9 8 9) 、A n n a l s I n t . M e d . 3 : 2 0 6 - 1 2 (1 - アンチトリプシン) ; S m i t h ら (1 9 8 9) 、J . C l i n . I n v e s t . 8 4 : 1 1 4 5 - 6 (1 - プロテイナーゼ) ; O s w e i n ら (1 9 9 0 年 3 月) 、「A e r o s o l i z a t i o n o f P r o t e i n s 」、P r o c . S y m p . R e s p . D r u g D e l i v e r y I I 、K e y s t o n e 、C o l o r a d o (組換えヒト成長ホルモン) ; D e b s ら (1 9 8 8) 、J . I m m u n o l . 1 4 0 : 3 4 8 2 - 8 (インターフェロン - 及び腫瘍壊死因子) 並びに P l a t z ら、米国特許第 5 , 2 8 4 , 6 5 6 号 (顆粒球コロニー刺激因子) が含まれる。

20

30

【 0 1 6 0 】

以下に限定されないが、全て当業者に周知である噴霧器、定量噴霧式吸入器及び粉末吸入器を含む、治療用生成物の肺内送達用に設計された広範囲の機械的装置が、本発明の実施における使用のため企図される。本発明の実施に適した商業的に入手可能な装置のいくつかの具体例は、M a l l i n c k r o d t , I n c . (セントルイス、ミズーリ州 (S t . L o u i s , M i s s o u r i)) 製の U l t r a v e n t 噴霧器 ; M a r q u e s t M e d i c a l P r o d u c t s (エングルウッド、コロラド州 (E n g l e w o o d , C o l o r a d o)) 製の A c o r n I I 噴霧器 ; G l a x o I n c . (リサーチトライアングルパーク、ノースカロライナ州 (R e s e a r c h T r i a n g l e P a r k , N o r t h C a r o l i n a)) 製の V e n t o l i n 定量噴霧式吸入器 ; 並びに F i s o n s C o r p . (ベッドフォード、マサチューセッツ州 (B e d f o r d , M a s s a c h u s e t t s)) 製の S p i n h a l e r 粉末吸入器である。

40

【 0 1 6 1 】

このような装置は、全て、本発明の化合物の分配に適した製剤の使用を必要とする。典型的には、各製剤は、利用される装置の型に特異的であり、療法において有用な希釈剤、佐剤及び / 又は担体に加え、適切な推進材料の使用を含んでいてもよい。

【 0 1 6 2 】

本発明の化合物は、最も有利には、遠位肺への最も効果的な送達のため、 $10\mu\text{m}$ (又

50

はミクロン)未満、最も好ましくは0.5~5μmの平均粒子サイズを有する粒状形態で調製されるべきである。

【0163】

医薬適合性の担体には、トレハロース、マンニトール、キシリトール、ショ糖、乳糖及びソルビトールのような炭水化物が含まれる。製剤中に使用するためのその他の成分には、DPPC、DOPC、DSPC及びDOPCが含まれ得る。天然又は合成の界面活性剤を使用することができる。(このタンパク質又はアナログの誘導体化における使用とは別に)PEGを使用してもよい。シクロデキストランのようなデキストランを使用することができる。胆汁酸塩及びその他の関連エンハンサーを使用してもよい。セルロース及びセルロース誘導体を使用してもよい。緩衝液製剤における使用のように、アミノ酸を使用してもよい。

10

【0164】

また、リポソーム、マイクロカプセルもしくはマイクロスフェア、包接錯体又はその他の型の担体の使用も、企図される。

【0165】

ジェット式又は超音波式いずれかの噴霧器と共に使用するのに適した製剤は、典型的には、溶液1mL当たり生物学的活性を有するタンパク質約0.1mgから25mgという濃度で水に溶解した本発明の化合物を含むであろう。この製剤は、(例えば、タンパク質の安定化及び浸透圧の制御のため)緩衝液及び単糖を含んでいてもよい。噴霧器製剤は、エアロゾル形成中の溶液の原子化によって引き起こされるタンパク質の表面により誘導される凝集を減少させるか又は防止するため、界面活性剤を含有していてもよい。

20

【0166】

定量噴霧式吸入装置と共に使用するための製剤は、一般に、界面活性剤の補助により推進剤に懸濁した本発明の化合物を含有している微細に粉碎された粉末を含むであろう。この推進剤は、トリクロロフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタノール及び1,1,1,2-テトラフルオロエタン又はそれらの組み合わせを含む、クロロフルオロカーボン、ハイドロクロロフルオロカーボン、ハイドロフルオロカーボン又は炭化水素のような、この目的のために利用される任意の従来の材料であってよい。適切な界面活性剤には、トリオレイン酸ソルビタン及びダイズレシチンが含まれる。オレイン酸も、界面活性剤として有用であるかもしれない。

30

【0167】

粉末吸入装置から分配するための製剤は、本発明の化合物を含有している微細に粉碎された乾燥粉末を含むであろう。そして、それらは、装置からの粉末の分散を助長する量、例えば製剤の50重量%から90重量%の、乳糖、ソルビトール、ショ糖、マンニトール、トレハロース又はキシリトールのような賦形剤を含んでいてもよい。

【0168】

鼻腔内送達形態。本発明の化合物の鼻腔内送達も、企図される。鼻腔内送達では、肺のように生成物の沈着を必要とすることなく、治療用生成物を鼻へ投与した後、タンパク質が直接血流へ移行することができる。鼻腔内送達用の製剤には、デキストラン又はシクロデキストランを含むものが含まれる。その他の粘膜を介した輸送による送達も、企図される。

40

【0169】

投薬量。前記状態を治療するための方法に含まれる投薬計画は、薬物の作用を修飾する様々な要因、例えば患者の年齢、状態、体重、性別及び食事、感染の重度、投与の時間並びにその他の臨床的要因を考慮して、主治医によって決定されるであろう。一般に、その1日計画は、体重1キログラム当たり0.1マイクログラムから1000マイクログラムの本発明の化合物、好ましくは1キログラム当たり0.1マイクログラムから150マイクログラムという範囲にあるべきである。

【0170】

特定の好ましい実施形態

50

本発明者らは、下記表 4 に列挙された好ましいペプチドのための好ましい構造を決定した。「 Λ 」という記号は、本明細書に記載されたリンカーのいずれかであってもよいし、又は単に通常のペプチド結合を表してもよい（即ち、リンカーが存在しない）。タンデムのリピート及びリンカーは、明瞭のためダッシュによって隔離されて示されている。

【 0 1 7 1 】

【表 4】

表 4－好ましい実施形態

配列／構造	配列番号
LPGCKWDLLIKQWVCDPL- Λ -V ¹	44
V ¹ - Λ -LPGCKWDLLIKQWVCDPL	45
LPGCKWDLLIKQWVCDPL- Λ - LPGCKWDLLIKQWVCDPL- Λ -V ¹	46
V ¹ - Λ -LPGCKWDLLIKQWVCDPL- Λ - LPGCKWDLLIKQWVCDPL	47
SADCYFDILTKSDVCTSS- Λ -V ¹	48
V ¹ - Λ -SADCYFDILTKSDVCTSS	49
SADCYFDILTKSDVTSS- Λ -SADCYFDILTKSDVTSS - Λ -V ¹	50
V ¹ - Λ -SADCYFDILTKSDVTSS- Λ - SADCYFDILTKSDVTSS	51
FHDCKWDLLTKQWVCHGL- Λ -V ¹	52
V ¹ - Λ -FHDCKWDLLTKQWVCHGL	53
FHDCKWDLLTKQWVCHGL- Λ - FHDCKWDLLTKQWVCHGL- Λ -V ¹	54
V ¹ - Λ -FHDCKWDLLTKQWVCHGL- Λ - FHDCKWDLLTKQWVCHGL	55

【 0 1 7 2 】

「V¹」は、本明細書において既に定義されたようなFcドメインである。表 4 に列挙されたものに加え、本発明者らは、Fc二量体の各鎖が異なるペプチド配列に連結されている異種二量体、例えば各Fcが表 2 から選択された異なる配列に連結されているものをさらに企図する。

【 0 1 7 3 】

本発明の化合物は、全て、PCT出願WO 99 / 2 5 0 4 4 に記載された方法によって調製できる。

【 0 1 7 4 】

限定ではなく例示的である以下の実施例によって、本発明をさらに説明する。

【実施例 1】

【 0 1 7 5 】

ペプチド

ペプチドファージディスプレイ

1. 磁性ビーズ調製

A. Fc-TALL-1 の磁性ビーズへの固定化

製造業者からのビーズストック100 μ l 当たりFc-TALL-1 8 μ g という濃度で、組換えFc-TALL-1 タンパク質をプロテインAダイナビーズ (Dynabeads) (Dynal) へ固定化した。磁石を使用してチューブの片側へビーズを引き込み、ピペットで液体を除去することにより、ビーズをリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で 2 回洗浄し、PBS に再懸濁させた。上記の濃度でFc-TALL-1 タンパク質を洗浄されたビーズへ添加し、室温で 1 時間回転させながらインキュベートした。次いで、最終

濃度 1 % でウシ血清アルブミン (B S A) を添加し、回転させながら 4 時間で一晚インキュベートすることにより、F c - T A L L - 1 でコーティングされたビーズをブロッキングした。次いで、得られた F c - T A L L - 1 でコーティングされたビーズを、P B S T (0 . 0 5 % トウイーン - 2 0 を含む P B S) で 2 回洗浄した後、選択手法に供した。

【 0 1 7 6 】

B . ネガティブ選択ビーズ調製

さらにネガティブ選択のためのビーズも調製した。各パニング条件のため、製造業者からのビーズストック 2 5 0 μ l を、F c - T A L L - 1 とのインキュベーション工程を省略した点を除き、上記の手法 (セクション 1 A) に供した。最後の洗浄工程において、ビーズを 5 0 μ l に 5 等分した。

10

【 0 1 7 7 】

2 . T A L L - 1 結合ファージの選択

A . 全体的な戦略

2 個の繊維状ファージライブラリー、T N 8 - I X (5×10^9 個の独立の形質転換体) 及び T N 1 2 - I (1.4×10^9 個の独立の形質転換体) (D y a x C o r p .) を、T A L L - 1 結合ファージを選択するために使用した。各ライブラリーを、p H 2 溶出又は「ビーズ溶出」 (セクション 2 E) のいずれかに供した。従って、4 つの異なるパニング条件を、T A L L - 1 プロジェクトのために実施した (p H 2 溶出法を使用した T N 8 - I X 、ビーズ溶出法を使用した T N 8 - I X 、p H 2 溶出法を使用した T N 1 2 - I 及びビーズ溶出法を使用した T N 1 2 - I) 。各条件について 3 回の選択を実施した。

20

【 0 1 7 8 】

B . ネガティブ選択

各パニング条件について、約 1 0 0 ランダムライブラリー当量 (T N 8 - I X については 5×10^{11} p f u 、T N 1 2 - I については 1.4×10^{11} p f u) を、ライブラリーストックから等分し、P B S T で 3 0 0 μ l に希釈した。ネガティブ選択用に調製されたビーズ (セクション 1 B) の最初の 5 0 μ l アリコートから最後の洗浄液を引き出した後、3 0 0 μ l の希釈されたライブラリーストックをビーズに添加した。得られた混合物を、回転させながら室温で 1 0 分間インキュベートした。ファージ上清を磁石を使用して引き出し、もう一回のネガティブ選択工程のため、第二の 5 0 μ l アリコートに添加した。このようにして、5 回のネガティブ選択工程を実施した。

30

【 0 1 7 9 】

C . F c - T A L L - 1 タンパク質でコーティングされたビーズを使用した選択

最後のネガティブ選択工程 (セクション 1 B) 後のファージ上清を、最後の洗浄工程 (セクション 1 A) 後の F c - T A L L - 1 でコーティングされたビーズに添加した。この混合物を、回転させながら室温で 2 時間インキュベートし、特異的なファージを標的タンパク質に結合させた。上清を廃棄した後、ビーズを P B S T で 7 回洗浄した。

【 0 1 8 0 】

D . 結合ファージの p H 2 溶出

最後の洗浄工程 (セクション 2 C) の後、C B S T (5 0 m M クエン酸ナトリウム、1 5 0 m M 塩化ナトリウム、0 . 0 5 % トウイーン - 2 0 、p H 2) 2 0 0 μ l を添加することにより、結合ファージを磁気ビーズから溶出させた。室温で 5 分間インキュベートした後、溶出したファージを含有している液体を引き出し、もう一つのチューブへ移した。C B S T 2 0 0 μ l を添加し、5 分間インキュベートすることにより、溶出工程を再び繰り返した。2 回の溶出工程からの液体を合わせ、p H を中和するため 2 M トリス溶液 (p H 8) 1 0 0 μ l を添加した。M i n A 塩溶液 (6 0 m M K_2HPO_4 、3 3 m M KH_2PO_4 、7 . 6 m M (NH_4) SO_4) 及び 1 . 7 m M クエン酸ナトリウム) 5 0 0 μ l を添加して、最終容量を 1 m l にした。

40

【 0 1 8 1 】

E . 「ビーズ溶出」

最後の洗浄液を引き出した後 (セクション 2 C) 、M i n A 塩溶液 1 m l をビーズに

50

添加した。このビーズ混合物を、感染（セクション 3 A 及び 3 B）のため濃縮細菌試料に直接添加した。

【 0 1 8 2 】

3 . 増幅

A . 播種細胞の調製

新鮮な大腸菌（X L - 1 B l u e M R F '）培養物を、 $12.5 \mu\text{g} / \text{ml}$ テトラサイクリンを含有している L B 培地中で $\text{OD}_{600} = 0.5$ になるまで増殖させた。各パニング条件について、 20 ml のこの培養物を氷上で冷却し、遠心分離した。細菌ペレットを、M i n A 塩溶液 1 ml に再懸濁させた。

【 0 1 8 3 】

B . 形質導入

異なる溶出法（セクション 2 D 及び 2 E）からの各混合物を、濃縮細菌試料（セクション 3 A）に添加し、 15 分間 37°C でインキュベートした。N Z C Y M 培地（ $2 \times$ N Z C Y M、 $50 \mu\text{g} / \text{ml}$ アンピシリン） 2 ml を各混合物へ添加し、室温で 15 分間インキュベートした。得られた 4 ml の溶液を、 $50 \mu\text{g} / \text{ml}$ アンピシリンを含有している大型 N Z C Y M 寒天プレートに播種し、 37°C で一晩インキュベートした。

【 0 1 8 4 】

C . ファージ採集

大型 N Z C Y M 寒天プレート上で一晩増殖させた各細菌 / ファージ混合物（セクション 3 B）を、L B 培地 35 ml 中に剥離し、寒天プレートをさらに 35 ml の L B 培地でさらに濯いだ。得られた L B 培地中の細菌 / ファージ混合物を、細菌をペレット化するため遠心分離した。ファージ上清 50 ml を新鮮なチューブに移し、P E G 溶液（ 20% P E G 8 0 0 0、 3.5 M 酢酸アンモニウム） 12.5 ml を添加し、ファージを沈殿させるため 2 時間氷上でインキュベートした。沈殿したファージを遠心分離し、ファージ再懸濁緩衝液（ 250 mM N a C l、 100 mM トリス $\text{pH} 8$ 、 1 mM E D T A） 6 ml に再懸濁させた。このファージ溶液を、残存している細菌を遠心分離し、P E G 溶液 1.5 ml を添加することにより再度ファージを沈殿させることにより、さらに精製した。遠心分離工程の後、ファージペレットを P B S $400 \mu\text{l}$ に再懸濁させた。この溶液を、残存する細菌片を除去するため、最後の遠心分離に供した。得られたファージ調製物を、標準的なブランク形成アッセイ（M o l e c u l a r C l o n i n g、M a n i a t i s ら、第 3 版）によって力価測定した。

【 0 1 8 5 】

4 . さらに 2 回の選択及び増幅

2 回目においては、選択及び増幅の工程（セクション 2 及び 3）を実施するために、1 回目からの増幅されたファージ（ 10^{10} pfu ）（セクション 3 C）をインプットファージとして使用した。次に、2 回目からの増幅されたファージ（ 10^{10} pfu ）を、3 回目の選択及び増幅（セクション 2 及び 3）を実施するため、インプットファージとして使用した。3 回目の溶出工程（セクション 2 D 及び 2 E）の後、ブランク形成アッセイ（セクション 3 C）の場合と同様に、溶出したファージの小さな画分を播種した。個々のブランクを拾い上げ、各ウェルに T E 緩衝液 $100 \mu\text{l}$ を含有している 96 穴マイクロタイタープレートに入れた。ファージを T E 緩衝液中に溶出させるため、これらのマスタプレートに 37°C のインキュベーター内で 1 時間インキュベートした。

【 0 1 8 6 】

5 . クローン分析（ファージ E L I S A 及び配列決定）

ファージ E L I S A 及び配列決定法により、ファージクローンを分析した。これら 2 つのアッセイからの結果の組み合わせに基づき、配列のランキングを行った。

【 0 1 8 7 】

A . ファージ E L I S A

OD_{600} が 0.5 に達するまで、X L - 1 B l u e M R F ' 培養物を増殖させた。この培養物 $30 \mu\text{l}$ を、 96 穴マイクロタイタープレートの各ウェルに等分した。溶出

10

20

30

40

50

したファージ（セクション4）10 µlを各ウェルに添加し、室温で15分間細菌に感染させた。12.5 µg/mlテトラサイクリン及び50 µg/mlアンピシリンを含有しているLB培地130 µlを各ウェルに添加した。次いで、マイクロタイタープレート（37）で一晩インキュベートした。4）で一晩かけて96穴マキシソープ（Maxisorp）プレート（NUNC）に組換えTALL-1タンパク質（PBS中1 µg/ml）をコーティングした。対照として、組換えFc-Traillタンパク質を、TALL-1タンパク質と同じモル濃度で別のマキシソーププレートにコーティングした。

【0188】

翌日、これらのタンパク質でコーティングされたマキシソーププレート中の液体を廃棄し、37）で1時間2%BSA溶液300 µlで各ウェルをブロッキングした。BSA溶液を廃棄し、ウェルをPBST溶液で3回洗浄した。最後の洗浄工程の後、PBST50 µlを、それらのタンパク質でコーティングされたマキシソーププレートの各ウェルへ添加した。96穴マイクロタイタープレート中の50 µlの一晩培養物を、各々、TALL-1でコーティングされたプレート及び対照Fc-Traillでコーティングされたプレートの対応するウェルに移した。2種類のプレート中の100 µlの混合物を、室温で1時間インキュベートした。液体をマキシソーププレートから廃棄し、ウェルをPBSTで5回洗浄した。HRP結合抗M13抗体（Pharmacia）を1:7,500に希釈し、希釈された溶液100 µlを、室温1時間インキュベートするため、マキシソーププレートの各ウェルに添加した。この液体を再び廃棄し、ウェルをPBSTで7回洗浄した。呈色反応を起こさせるためテトラメチルベンジジン（TMB）基質（Sigma）100 µlを各ウェルに添加し、5N H₂SO₄溶液50 µlにより反応を停止させた。OD₄₅₀を、プレートリーダー（Molecular Devices）で読み取った。

【0189】

B. ファージクロンの配列決定

各ファージクロンについて、配列決定鋳型をPCR法により調製した。以下のオリゴヌクレオチド対を、約500ヌクレオチドの断片を増幅するために使用した。

【0190】

【化22】

プライマー#1 (5'-CGGCGCAACTATCGGTATCAAGCTG-3') (配列番号: 56)

配列番号及びプライマー#2 (5'-CATGTACCGTAACACTGAGTTTCGTC-3') (配列番号: 57)

以下の混合物を各クロンのため調製した。

【0191】

【表 5】

試 薬	容量 (μL) / チューブ
d H ₂ O	26.25
50%グリセロール	10
10B PCR緩衝液 (w/o MgCl ₂)	5
25mM MgCl ₂	4
10mM dNTP混合物	1
100μM プライマー1	0.25
100μM プライマー2	0.25
Taqポリメラーゼ	0.25
TE中のファージ (セクション4)	3
最終反応容量	50

10

【0192】

サーモサイクラー (Gene Amp PCR System 9700、Applied Biosystems) を、以下のプログラムを実行するために使用した：94 5分；[94 30秒、55 30秒、72 45秒] × 30サイクル；72 7分；4に冷却。各PCR反応物5μlを1%アガロースゲル上で泳動することにより、このPCR産物をチェックした。各反応からの残りの45μlのPCR産物を、製造業者のプロトコルに従い、キアクイックマルチウェル (QIAquick Multiwell) PCR精製キット (Qiagen) を使用して清浄化した。次いで、得られた産物を、製造業者により推奨されたプロトコルに従い、ABI 377シーケンサー (Perkin-Elmer) を使用して配列決定した。

20

【0193】

6. 配列ランキング及びコンセンサス配列決定

30

A. 配列ランキング

可変ヌクレオチド配列から翻訳されたペプチド配列 (セクション5B) を、ELISAデータと相関させた。TALL-1でコーティングされたウェルにおいて高いOD₄₅₀を示し、Fc-Traillでコーティングされたウェルで低いOD₄₅₀を示したクローンを、より重要であると見なした。複数回存在する配列も、重要であると見なした。ペプチド又はペプチドボディとしてのさらなる分析のため、これらの基準に基づき候補配列を選択した。TN8-IXライブラリー及びTN12-Iライブラリーから、それぞれ5個及び9個の候補ペプチド配列が選択された。

【0194】

B. コンセンサス配列決定

40

TN12-Iライブラリーから選択された配列の大多数が、極めて保存されたDBLモチーフを含有していた。このモチーフは、TN8-IBライブラリーから選択された配列にも観察された。もう一つのモチーフPFPE (配列番号110) も、TN8-IBライブラリーから入手された配列に観察された。

【0195】

コンセンサスペプチドFHDCKWDL LTKQWVCHGL (配列番号58) を、DBLモチーフに基づき設計した。TN12-Iライブラリーに由来するペプチドが最も活性の高いペプチドであったため、上記のランキング基準 (セクション5A) に基づき、上位26個のペプチド配列をDBLモチーフにより整列化した。下線が施された「コアアミノ酸配列」は、各位置に最も多く存在するアミノ酸を決定することにより入手された。コ

50

ア配列に隣接している２個のシステインは、T N 1 2 - I ライブラリーにおいて固定されたアミノ酸であった。コンセンサスペプチド内のアミノ酸配列の残りは、候補ペプチドの１つであるT A L L - 1 - 1 2 - 1 0（表２、配列番号３７）から採られたものである。このコンセンサス配列に由来するペプチド及びペプチボディは、Ｂ細胞増殖アッセイにおいて最も活性が高かった。

【実施例２】

【０１９６】

ペプチボディ

各ペプチドの単量体がヒトI g G 1のFc領域とインフレーションで融合している１２個のT A L L - 1 阻害性ペプチボディのセット（表５）を構築した。各T A L L - 1 阻害性ペプチボディは、そのペプチドと、５個のグリシン残基及び１個のバリン残基で構成されたリンカーとをコードする二重鎖をN d e I - S a l I断片として生成させるため、表６に示されたオリゴヌクレオチド対をアニール化することにより構築された。これらの二重鎖分子を、やはりN d e I及びS a l Iで消化された、ヒトFc遺伝子を含むベクター（本明細書に記載のp A M G 2 1 - R A N K - F c）とライゲートさせた。得られたライゲーション混合物を、エレクトロポレーションにより大腸菌株2596細胞（本明細書に記載されたG M 2 2 1）に形質転換した。組換えタンパク質産物を産生し、かつ正確なヌクレオチド配列を有する遺伝子融合体を保有する能力に関して、クローンをスクリーニングした。各ペプチボディについて１個のこのようなクローンを選択した。この融合タンパク質のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を、図４Ａから４Ｆに示す。

【０１９７】

【表６】

表５ T A L L - 1 阻害性ペプチボディを生成させるために使用されたペプチド配列及びオリゴヌクレオチド

ペプチボディ	ペプチボディ配列番号	ペプチド配列	センスオリゴヌクレオチド	アンチセンスオリゴヌクレオチド
TALL-1-8-1-a	29	PGTCFPFPWECTHA	2517-24	2517-25
TALL-1-8-2-a	30	WGACWFPFWECFKE	2517-26	2517-27
TALL-1-8-4-a	31	VPFCDLLTKHCFEA	2517-28	2517-29
TALL-1-12-4-a	32	GSRCKYKWDVLTKQCFHH	2517-30	2517-31
TALL-1-12-3-a	33	LPGCKWDLLIKQWVCDPL	2517-32	2517-33
TALL-1-12-5-a	34	SADCYFDILTKSDVCTSS	2517-34	2517-35
TALL-1-12-8-a	35	SDDCMYDQLTRMFICSNL	2517-36	2517-37
TALL-1-12-9-a	36	DLNCKYDELTYKEWCQFN	2521-92	2521-93

TALL-1-12-10-a	37	FHDCKYDLLTRQMVCHGL	2521-94	2521-95
TALL-1-12-11-a	38	RNHCFWDHLLKQDICPSP	2521-96	2521-97
TALL-1-12-14-a	39	ANQCWWDSLTKKNVCEFF	2521-98	2521-99
TALL-1-コンセンサス	58	FHDCKWDLLIKQWVCHGL	2551-48	2551-49

【０１９８】

【表 7】

表 5 B T A L L - 1 阻害性ペプチボディ

ペプチボディ	ペプチボディ 配列番号	ペプチド配列			
TALL-1-8- 1-a	111	MPGTCFFFPW VFLFPPKPKD DGVEVHNAKT KCKVSNKALP KNQVSLTCLV SDGSFFFLYSK SLSLSPGK	ECTHAGGGGG TLMISRTPEV KPREEQYNST APIEKTISKA KGFYPSDIAV LTVDKSRWQQ	VDKTHTCPPC TCVVVDVSHE YRVVSVLTVL KGQPREPQVY EWESNGQPEN GNVFSCSVMH	PAPELLGGPS DPEVKFNWYV HQDWLNGKEY TLPPSRDELT NYKTTTPVLD EALHNHYTQK
TALL-1-8- 2-a	112	MWGACWFPFW VFLFPPKPKD DGVEVHNAKT KCKVSNKALP KNQVSLTCLV SDGSFFFLYSK SLSLSPGK	ECFKEGGGGG TLMISRTPEV KPREEQYNST APIEKTISKA KGFYPSDIAV LTVDKSRWQQ	VDKTHTCPPC TCVVVDVSHE YRVVSVLTVL KGQPREPQVY EWESNGQPEN GNVFSCSVMH	PAPELLGGPS DPEVKFNWYV HQDWLNGKEY TLPPSRDELT NYKTTTPVLD EALHNHYTQK
TALL-1-8- 4-a	113	MVPFCDLLTK VFLFPPKPKD DGVEVHNAKT KCKVSNKALP KNQVSLTCLV SDGSFFFLYSK SLSLSPGK	HCFEAGGGGG TLMISRTPEV KPREEQYNST APIEKTISKA KGFYPSDIAV LTVDKSRWQQ	VDKTHTCPPC TCVVVDVSHE YRVVSVLTVL KGQPREPQVY EWESNGQPEN GNVFSCSVMH	PAPELLGGPS DPEVKFNWYV HQDWLNGKEY TLPPSRDELT NYKTTTPVLD EALHNHYTQK
TALL-1-12- 4-a	114	MGRCKYKWD GGPSVFLFPP NWYVDGVEVH GKEYKCKVSN DELTKNQVSL PVLDSGGSFF YTQKSLSLSP	VLTKQCFHHG KPKDTLMISR NAKTKPREEQ KALPAPIEKT TCLVKGFYPS LYSKLTVDKS GK	GGGGVDKTHT TPEVTCVVVD YNSTYRVVSV ISKAKGQPRE DIAVEWESNG RWQQGNVFSC SVMHEALHNH	CPPCPAPELL VSHEDPEVKF LTVLHQDWLN PQVYTLPPSR QPENNYKTTP SVMHEALHNH
TALL-1-12- 3-a	115	MLPGCKWDL GGPSVFLFPP NWYVDGVEVH GKEYKCKVSN DELTKNQVSL PVLDSGGSFF YTQKSLSLSP	IKQWVCDPLG KPKDTLMISR NAKTKPREEQ KALPAPIEKT TCLVKGFYPS LYSKLTVDKS GK	GGGGVDKTHT TPEVTCVVVD YNSTYRVVSV ISKAKGQPRE DIAVEWESNG RWQQGNVFSC SVMHEALHNH	CPPCPAPELL VSHEDPEVKF LTVLHQDWLN PQVYTLPPSR QPENNYKTTP SVMHEALHNH
TALL-1-12- 5-a	116	MSADCYFDIL GGPSVFLFPP NWYVDGVEVH GKEYKCKVSN DELTKNQVSL PVLDSGGSFF YTQKSLSLSP	TKSDVCTSSG KPKDTLMISR NAKTKPREEQ KALPAPIEKT TCLVKGFYPS LYSKLTVDKS GK	GGGG VDKTHT TPEVTCVVVD YNSTYRVVSV ISKAKGQPRE DIAVEWESNG RWQQGNVFSC SVMHEALHNH	CPPCPAPELL VSHEDPEVKF LTVLHQDWLN PQVYTLPPSR QPENNYKTTP SVMHEALHNH
TALL-1-12- 8-a	117	MSDDCMYDQL GGPSVFLFPP NWYVDGVEVH GKEYKCKVSN DELTKNQVSL	TRMFICSNLG KPKDTLMISR NAKTKPREEQ KALPAPIEKT TCLVKGFYPS	GGGGVDKTHT TPEVTCVVVD YNSTYRVVSV ISKAKGQPRE DIAVEWESNG	CPPCPAPELL VSHEDPEVKF LTVLHQDWLN PQVYTLPPSR QPENNYKTTP

10

20

30

		PVLDSGDSFF YTQKSLSLSP	LYSKLTVDKS GK	RWQQGNVFSC	SVMHEALHNNH
TALL-1-12-9-a	118	MDLNCKYDEL GGPSVFLFPP NWYVDGVEVH GKEYKCKVSN DELTKNQVSL PVLDSGDSFF YTQKSLSLSP	TYKEWCQFNG KPKDTLMISR NAKTKPREEQ KALPAPIEKT TCLVKGFYPS LYSKLTVDKS GK	GGGGVDKTHT TPEVTCVVVD YNSTYRVVSV ISKAKGQPRE DIAVEWESNG RWQQGNVFSC	CPPCPAPELL VSHEDPEVKF LTVLHQDWLN PQVYTLPPSR QPENNYKTTP SVMHEALHNNH
TALL-1-12-10-a	119	MFHDCKYDLL GGPSVFLFPP NWYVDGVEVH GKEYKCKVSN DELTKNQVSL PVLDSGDSFF YTQKSLSLSP	TRQMVCHGLG KPKDTLMISR NAKTKPREEQ KALPAPIEKT TCLVKGFYPS LYSKLTVDKS GK	GGGGVDKTHT TPEVTCVVVD YNSTYRVVSV ISKAKGQPRE DIAVEWESNG RWQQGNVFSC	CPPCPAPELL VSHEDPEVKF LTVLHQDWLN PQVYTLPPSR QPENNYKTTP SVMHEALHNNH
TALL-1-12-11-a	120	MRNHCFWDHL GGPSVFLFPP NWYVDGVEVH GKEYKCKVSN DELTKNQVSL PVLDSGDSFF YTQKSLSLSP	LKQDICPSPG KPKDTLMISR NAKTKPREEQ KALPAPIEKT TCLVKGFYPS LYSKLTVDKS GK	GGGGVDKTHT TPEVTCVVVD YNSTYRVVSV ISKAKGQPRE DIAVEWESNG RWQQGNVFSC	CPPCPAPELL VSHEDPEVKF LTVLHQDWLN PQVYTLPPSR QPENNYKTTP SVMHEALHNNH
TALL-1-12-14-a	121	MANQCWWDSL GGPSVFLFPP NWYVDGVEVH GKEYKCKVSN DELTKNQVSL PVLDSGDSFF YTQKSLSLSP	TKKNVCEFFG KPKDTLMISR NAKTKPREEQ KALPAPIEKT TCLVKGFYPS LYSKLTVDKS GK	GGGGVDKTHT TPEVTCVVVD YNSTYRVVSV ISKAKGQPRE DIAVEWESNG RWQQGNVFSC	CPPCPAPELL VSHEDPEVKF LTVLHQDWLN PQVYTLPPSR QPENNYKTTP SVMHEALHNNH
TALL-1- コンセンサス	122	MFHDCKWDL GGPSVFLFPP NWYVDGVEVH GKEYKCKVSN DELTKNQVSL PVLDSGDSFF YTQKSLSLSP	TKQWVCHGLG KPKDTLMISR NAKTKPREEQ KALPAPIEKT TCLVKGFYPS LYSKLTVDKS GK	GGGGVDKTHT TPEVTCVVVD YNSTYRVVSV ISKAKGQPRE DIAVEWESNG RWQQGNVFSC	CPPCPAPELL VSHEDPEVKF LTVLHQDWLN PQVYTLPPSR QPENNYKTTP SVMHEALHNNH
TALL-1 12-3 タンデム 二量体	123	MLPGCKWDL HMLPGCKWDL LGGPSVFLFP FNWYVDGVEV NGKEYKCKVS RDELTKNQVS PPVLDSGDSF HYTQKSLSL	IKQWVCDPLG LIKQWVCDPL PKPKDTLMIS HNAKTKPREE NKALPAPIEK LTCLVKGFYP FLYSKLTVDK PGK	SGSATGGSGS GGGGVDKTH RTPEVTCVVV QYNSTYRVVS TISKAKGQPR SDIAVEWESN SRWQQGNVFS	TASSGSGSAT TCPPCPAPEL DVSHEDPEVK VLTVLHQDWL EPQVYTLPPS GQPENNYKTT CSVMHEALHN
TALL-1 コンセンサス タンデム 二量体	124	MFHDCKWDL HMFHDCKWDL LGGPSVFLFP FNWYVDGVEV NGKEYKCKVS RDELTKNQVS PPVLDSGDSF HYTQKSLSL	TKQWVCHGLG LTKQWVCHGL PKPKDTLMIS HNAKTKPREE NKALPAPIEK LTCLVKGFYP FLYSKLTVDK PGK	SGSATGGSGS GGGGVDKTH RTPEVTCVVV QYNSTYRVVS TISKAKGQPR SDIAVEWESN SRWQQGNVFS	TASSGSGSAT TCPPCPAPEL DVSHEDPEVK VLTVLHQDWL EPQVYTLPPS GQPENNYKTT CSVMHEALHN

10

20

30

【表 8】

表 6 ペプチボディ構築において使用されたオリゴヌクレオチドの配列

オリゴ ヌクレオチド ID番号	配列 番号	配 列
2517-24	71	TAT GCC GGG TAC TTG TTT CCC GTT CCC GTG GGA ATG CAC TCA CGC TGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-25	72	TCG ACC CCA CCG CCT CCT GGA GCG TGA GTG CAT TCC CAC GGG AAG CCG AAA CAA GTA CCC GGC A
2517-26	73	TAT GTG GGG TGC TTG TTG GCC GTT CCC GTG GGA ATG TTT CAA AGA AGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-27	74	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCT TCT TTG AAA CAT TCC CACGGG AAC GGC CAA CAAGCA CCC CAC A
2517-28	75	TAT GGT TCC GTT CTG TGA CCT GCT GAC TAA ACA CTG TTT CGA AGC TGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-29	76	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCA GCT TCG AAA CAG TGT TTA GTC AGC AGG TCA CAGAAC GGA ACC A
2517-30	77	TAT GGG TTC TCG TTG TAA ATA CAA ATG GGA CGT TCT GAC TAA ACA GTG TTT CCA CCA CGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-31	78	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCG TGG TGG AAA CAC TGT TTA GTC AGA ACG TCC CAT TTG TAT TTA CAA CGA GAA CCC A
2517-32	79	TAT GCT GCC GGG TTG TAA ATG GGA CCT GCT GAT CAA ACA GTG GGT TTG TGA CCC GCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-33	80	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGC GGG TCA CAA ACC CAC TGT TTG ATC AGC AGG TCC CAT TTA CAA CCC GGC AGC A
2517-34	81	TAT GTC TGC TGA CTG TTA CTT CGA CAT CCT GAC TAA ATC TGA CGT TTG TAC TTC TTC TGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-35	82	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCA GAA GAA GTA CAA ACG TCA GAT TTA GTC AGG ATG TCG AAG TAA CAG TCA GCA GAC A
2517-36	83	TAT GTC TGA CGA CTG TAT GTA CGA CCA GCT GAC TCG TAT GTT CAT CTG TTC TAA CCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2517-37	84	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGG TTA GAA CAG ATG AAC ATA CGA GTC AGC TGG TCG TAC ATA CAG TCG TCA GAC A
2521-92	85	TAT GGA CCT GAA CTG TAA ATA CGA CGA ACT GAC TTA CAA AGA ATG GTG TCA GTT CAA CGG TGG AGG CGG TGG GG
25221-93	86	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCG TTG AAC TGA CAC CAT TCT TTG TAA GTC AGTTTCG TCG TAT TTA CAG TTC AGG TCC A
2521-94	87	TAT GTT CCA CGA CTG TAA ATA CGA CCT GCT GAC TCG TCA GAT GGT TTG TCA CGG TCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2521-95	88	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGA CCG TGA CAA ACC ATC TGA CGA GTC AGC AGG TCG TAT TTA CAG TCG TGG AAC A
2521-96	89	TAT GCG TAA CCA CTG TTT CTG GGA CCA CCT GCT GAA ACA

10

20

30

40

		GGA CAT CTG TCC GTC TCC GGG TGG AGG CGG TGG GG
2521-97	90	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC GGA GAC GGA CAG ATG TCC TGT TTC AGC AGG TGG TCC CAG AAA CAG TGG TTA CGC A
2521-98	91	TAT GGC TAA CCA GTG TTG GTG GGA CTC TCT GCT GAA AAA AAA CGT TTG TGA ATT CTT CGG TGG AGG CGG TGG GG
2521-99	92	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCG AAG AAT TCA CAA ACG TTT TTT TTC AGC AGA GAG TCC CAC CAA CAC TGG TTA GCC A
2551-48	93	TAT GTT CCA CGA CTG CAA ATG GGA CCT GCT GAC CAA ACA GTG GGT TTG CCA CGG TCT GGG TGG AGG CGG TGG GG
2551-49	94	TCG ACC CCA CCG CCT CCA CCC AGA CCG TGG CAA ACC CAC TGT TTG GTC AGC AGG TCC CAT TTG CAG TCG TGG AAC A

10

【 0 2 0 0 】

p A M G 2 1 - R A N K - F c ベクター

p A M G 2 1。発現プラスミド p A M G 2 1 (A T C C 登録番号 9 8 1 1 3) は、A m g e n 発現ベクター p C F M 1 6 5 6 (A T C C # 6 9 5 7 6) から誘導することができ、p C F M 1 6 5 6 は、米国特許第 4 , 7 1 0 , 4 7 3 号に記載された A m g e n 発現ベクター系から下記により誘導することができる。

【 0 2 0 1 】

・ T 4 ポリメラーゼ酵素により末端を充填した後、平滑末端ライゲーションを行うことにより、2 個の内因性 N d e I 制限部位を破壊すること；

20

・ 合成 P_L プロモーターを含有している特有の A a t I I 制限部位と C l a I 制限部位との間の D N A 配列を、P_L プロモーターを含有している p C F M 6 3 6 (特許第 4 , 7 1 0 , 4 7 3 号) から得られた類似した断片 (下記の配列番号 9 5 を参照のこと) と交換すること；及び

・ 特有の C l a I 制限部位と K p n I 制限部位との間の小さな D N A 配列を、配列番号 9 6 の配列を有するオリゴヌクレオチドと置換することによって、記載された p C F M 8 3 6 プラスミド (米国特許第 4 , 7 1 0 , 4 7 3 号) から誘導することができる。

【 0 2 0 2 】

【 化 2 3 】

30

配列番号 : 9 5

AatII

5' CTAATTCCGCTCTCACCTACCAAACAATGCCCCCTGCAAAAAATAAATTCATAT-

3' TGCAGATTAAGGCGAGAGTGGATGGTTTGTTACGGGGGGACGTTTTTTATTTAAGTATA-

-AAAAAACATACAGATAACCATCTGCGGTGATAAATTATCTCTGGCGGTGTTGACATAAA-

-TTTTTTGTATGTCTATTGGTAGACGCCACTATTTAATAGAGACCGCCACAACGTATTT-

-TACCACTGGCGGTGATACTGAGCACAT 3'

-ATGGTGACCGCCACTATGACTCGTGTAGC 5'

Clal

40

配列番号 : 9 6

5' CGATTTGATTCTAGAAGGAGGAATAACATATGGTTAACGCGTTGGAATTCGGTAC

3'

3' TAAACTAAGATCTTCCTCCTTATTGTATACCAATTGCGCAACCTTAAGC 5'

ClalKpnI

【 0 2 0 3 】

次いで、P C R 重複オリゴヌクレオチド突然変異誘発及び D N A 配列置換により、一連の部位特異的塩基変化を作成することにより、p C F M 1 6 5 6 から発現プラスミド p A

50

M G 2 1 を誘導することができる。プラスミド複製プロモーター P_{c o p B} の直ぐ 5' 側の B g l I I 部位 (プラスミド b p # 1 8 0) から出発して、プラスミド複製遺伝子に進む、その塩基対変化は、下記表 7 に示されるようなものである。

【 0 2 0 4 】

【 表 9 】

表 7 - p A M G 2 1 に生じた塩基対変化

<u>pAMG21 bp#</u>	<u>pCFM1656におけるbp</u>	<u>pAMG21において変化したbp</u>	
# 204	T/A	C/G	10
# 428	A/T	G/C	
# 509	G/C	A/T	
# 617	--	2個のG/C bpの挿入	
# 679	G/C	T/A	
# 980	T/A	C/G	
# 994	G/C	A/T	
# 1004	A/T	C/G	
# 1007	C/G	T/A	
# 1028	A/T	T/A	
# 1047	C/G	T/A	20
# 1178	G/C	T/A	
# 1466	G/C	T/A	
# 2028	G/C	1bpの欠失	
# 2187	C/G	T/A	
# 2480	A/T	T/A	
# 2499-2502	<u>AGTG</u> TCAC	<u>GTCA</u> CAGT	30
# 2642	<u>TCCGAGC</u> AGGCTCG	7bpの欠失	
# 3435	G/C	A/T	
# 3446	G/C	A/T	
# 3643	A/T	T/A	

【 0 2 0 5 】

特有の A a t I I 制限部位 (p C F M 1 6 5 6 の 4 3 6 4 位) と S a c I I 制限部位 (p C F M 1 6 5 6 の 4 5 8 5 位) との間の D N A 配列は、下記 D N A 配列 (配列番号 9 7) に置換される。

【 0 2 0 6 】

【化 2 4】

[AatII 粘着末端] 5' GCGTAACGTATGCATGGTCTCC-
 (pAMG21の4358位) 3' TGCACGCATTGCATACGTACCAGAGG-

-CCATGCGAGAGTAGGGAAGTCCAGGCATCAAATAAAACGAAAGGCTCAGTCGAAAGACT-
 -GGTACGCTCTCATCCCTTGACGGTCCGTAGTTTATTTTGCTTTCCGAGTCAGCTTTCTGA-

-GGGCCTTTCGTTTATCTGTTGTTTGTGCGGTGAACGCTCTCCTGAGTAGGACAAATCCGC-
 -CCCGGAAAGCAAAATAGACAACAAACAGCCACTTGCGAGAGGACTCATCCTGTTTAGGCG-

-CGGGAGCGGATTTGAACGTTGCGAAGCAACGGCCCGGAGGGTGGCGGGCAGGACGCCCCG-
 -GCCCTCGCCTAACTTGCAACGCTTCGTTGCCGGGCCTCCACCGCCCCGTCTGCGGGCG-

-CATAAACTGCCAGGCATCAAATTAAGCAGAAGGCCATCCTGACGGATGGCCTTTTTTGCGT-
 -GTATTTGACGGTCCGTAGTTTAATTCGTCTTCCGGTAGGACTGCCTACCGGAAAAACGCA-

AatII

-TTCTACAAACTCTTTTGTTTATTTTCTAAATACATTCAAATATGGACGTCGTACTTAAAC-
 -AAGATGTTTGAGAAAACAAATAAAAAGATTTATGTAAGTTTATACCTGCAGCATGAATTG-

-TTTTAAAGTATGGGCAATCAATTGCTCCTGTTAAATTTGCTTTAGAAATACTTTGGCAGC-
 -AAAATTTTCATACCCGTTAGTTAACGAGGACAATTTTAACGAAATCTTTATGAAACCGTCG-

-GGTTTGTGTTGATTGAGTTTCATTTGCGCATTGGTTAAATGGAAAGTGACCGTGCGCTTAC-
 -CCAAACAACATAACTCAAAGTAAACGCGTAACCAATTTACCTTTCACCTGGCACGCGAATG-

-TACAGCCTAATATTTTTGAAATATCCCAAGAGCTTTTTCTTCGCGATGCCACGCTAAAC-
 -ATGTCGGATTATAAAAACCTTTATAGGGTTCTCGAAAAAGGAAGCGTACGGGTGCGATTG-

-ATTCTTTTTCTCTTTTGTTTAAATCGTTGTTTGATTATTATTTGCTATATTTATTTTTTC-
 -TAAGAAAAAGAGAAAACCAATTTAGCAACAACTAAATAATAAACGATATAAATAAAAAAG-

-GATAATTATCAACTAGAGAAGGAACAATTAATGGTATGTTTACACGCATGTAAAAATA-
 -CTATTAATAGTTGATCTCTTCCTTGTTAATTACCATAACAAGTATGTGCGTACATTTTTAT-

-AACTATCTATATAGTTGTCTTTCTCTGAATGTGCAAACTAAGCATTCGGAAGCCATTAT-
 -TTGATAGATATATCAACAGAAAGAGACTTACACGTTTGTATTCGTAAGGCTTCGGTAATA-

-TAGCAGTATGAATAGGGAACTAAACCCAGTGATAAGACCTGATGATTTGCTTCTTTAA-
 -ATCGTCATACTTATCCCTTTGATTTGGGTCACTATTCTGGACTACTAAAGCGAAGAAAT-

-TTACATTTGGAGATTTTTTATTTACAGCATTGTTTCAAATATATTCCAATTAATCGGTG-
 -AATGTAAACCTCTAAAAAATAAATGTTCGTAACAAAAGTTTATATAAGGTAAATAGCCAC-

-AATGATTTGGAGTTAGAATAATCTACTATAGGATCATATTTTATTAAATTAGCGTCATCAT-
 -TTACTAACCTCAATCTTATTAGATGATATCCTAGTATAAAATAATTTAATCGCAGTAGTA-

-AATATTCGCTCCATTTTTTAGGGTAATTATCCAGAATTGAAATATCAGATTTAACCATAG-
 -TTATAACGGAGGTAAAAAATCCCATTAATAGGTCTTAACCTTATAGTCTAAATTTGGTATC-

-AATGAGGATAAATGATCGCGAGTAAATAATATTCACAATGTACCATTTTAGTCATATCAG-
 -TTACTCCTATTTACTAGCGCTCATTTATTATAAGTGTTACATGGTAAATCAGTATAGTC-

-ATAAGCATTGATTAATATCATTATTGCTTCTACAGGCTTTAATTTTATTAATTATCTGT-
 -TATTCGTAACCTAATTATAGTAATAACGAAGATGTCCGAAATTAAATAAATTAATAAGACA-

-AAGTGTCGTCGGCATTTATGTCTTTCATACCCATCTCTTTATCCTTACCTATGTTTGTGTC-
 -TTCACAGCAGCCGTAAATACAGAAAGTATGGGTAGAGAAATAGGAATGGATAACAAACAG-

-GCAAGTTTTGCGTGTTATATATCATTAACGGAATAGATTGACATTTGATTCATAATAA-
 -CGTTCAAACGCACAATATATAGTAATTTTGCCATTATCTAACTGTAACTAAGATTATT-

-ATTGGATTTTTGTACACTATTATATCGCTTGAAATACAATTGTTTAACATAAGTACCTG-
 -TAACCTAAAAACAGTGTGATAATATAGCGAAGTTTATGTTAACAAATTGTATTCATGGAC-

10

20

30

40

-TAGGATCGTACAGGTTTACGCAAGAAAATGGTTTGTATAGTCGATTAATCGATTTGATT-
 -ATCCTAGCATGTCCAAATGCGTTCTTTTACCAAACAATATCAGCTAATTAGCTAAACTAA-
 -CTAGATTTGTTTTAACTAATTAAAGGAGGAATAACATATGGTTAACGCGTTGGAATTCGA-
 -GATCTAAACAAAATTGATTAATTTCTCTCTTATTGTATACCAATTGCGCAACCTTAAGCT-

SacII

-GCTCACTAGTGTGACCTGCAGGGTACCATGGAAGCTTACTCGAGGATCCGCGGAAAGAA-
 -CGAGTGATCACAGCTGGACGTCCCATGGTACCTTCGAATGAGCTCCTAGGCGCCTTTCTT-
 -GAAGAAGAAGAAGAAAGCCCCGAAAGGAAGCTGAGTTGGCTGCTGCCACCGCTGAGCAATA-
 -CTTCTTCTTCTTCTTTTCGGGCTTTCTTCGACTCAACCGACGACGGTGGCGACTCGTTAT-
 -ACTAGCATAACCCCTTGGGGCTCTTAAACGGGTCTTGAGGGGTTTTTTTGCTGAAAGGAGG-
 -TGATCGTATTGGGGAACCCCGAGATTGCCCCAGAACTCCCCAAAAACGACTTTCTCTCC-
 -AACCGCTCTTCACGCTCTTCACGC 3' [SacII 粘着末端]
 -TTGGCGAGAAGTGCGAGAAGTG 5' (pAMG21の5904位)

10

【0207】

この置換DNA配列の粘着末端のライゲーションの過程で、外側のAatII部位及びSacII部位は破壊される。置換されたDNAには、特有のAatII部位及びSacII部位が存在する。

【0208】

FcのN末端に融合したヒトRANKをコードする遺伝子を、Amgen株#4125を生成させるため、NdeI-BamHI断片としてpAMG21とライゲートさせた。この構築物を、RANKとFcとの接合部にバリンコドン挿入するため修飾した。隣接するバリンコドン及びアスパラギン酸コドンは、特有のSalI部位を作り出す。これは、特有のNdeI部位とSalI部位との間のFc3のN末端のペプチドの融合を可能にする。RANK配列は、新たなNdeI-SalI断片の挿入の際に欠失する。このベクターの配列を、図5Aから5Mに示す。

20

【0209】

GM221 (Amgen #2596)。Amgen宿主株#2596は、E. coli Genetic Stock Center、Yale University、New Haven、Connecticut (CGSC株6159) から入手される大腸菌W1485の誘導体であるAmgen株#393から誘導した大腸菌K-12株である。これは、初期ebg領域の温度感受性ラムダリプレッサーcI857s7及び後期ebg領域(68分)のlacI^Qリプレッサーの両方を含有するように修飾されている。これら2個のリプレッサー遺伝子の存在は、多様な発現系でのこの宿主の使用を可能にするが、これらのリプレッサーは、いずれもluxP_Rからの発現には適していない。未形質転換宿主は、抗生物質耐性を有していない。

30

【0210】

cI857s7遺伝子のリボソーム結合部位は、増強されたRBSを含むよう修飾されている。これは、ebgオペロンのGenbank登録番号M64441Gb__Baにおいて番号付けられたヌクレオチド1170位と1411位との間に挿入されており、その間のebg配列は欠失している。このインサートの配列を以下に示す。ここで、小文字は、以下に示されるインサート(配列番号98)の両側に隣接しているebg配列を表す。

40

【0211】

【化 2 5】

ttattttcgtGCGGCCGCACCATTTATCACCGCCAGAGGTAAACTAGTCAACACGCACGGTGTAGATAT
 TTATCCCTTGCGGTGATAGATTGAGCACATCGATTTGATTCTAGAAGGAGGGATAATATATGAG
 CACAAAAAGAAACCATTAAACACAAGAGCAGCTTGAGGACGCACGTCGCCTTAAAGCAATTTA
 TGAATAAGAAAGAAATGAACCTTGCTTATCCAGGAATCTGTCGCAGACAAGATGGGGATGGG
 GCAGTCAGGCGTTGGTGTCTTATTTAATGGCATCAATGCATTAATGCTTATAACGCCGCATTGC
 TTACAAAAATTCTCAAAGTTAGCGTTGAAGAATTTAGCCCTTCAATCGCCAGAGAATCTACGAG
 ATGTATGAAGCGGTAGTATGCAGCCGTCAGTTAGAAGTGAGTATGAGTACCCTGTTTTTCTCA
 TGTTACAGGCAGGGATGTTCTCACCTAAGCTTAGAACCTTTACCAAAGGTGATGCGGAGAGATGG
 GTAAGCACAAACCAAAAAAGCCAGTGATTCTGCATTCTGGCTTGAGGTTGAAGGTAATTCCATGA
 CCGCACCAACAGGCTCCAAGCCAAGCTTTCCTGACGGAATGTTAATTCTCGTTGACCCTGAGCA
 GGCTGTTGAGCCAGGTGATTTCTGCATAGCCAGACTTGGGGGTGATGAGTTTACCTTCAAGAAA
 CTGATCAGGGATAGCGGTCAGGTGTTTTTACAACCACTAAACCCACAGTACCCAATGATCCCAT
 GCAATGAGAGTTGTTCCGTTGTGGGGAAAGTTATCGCTAGTCAGTGGCCTGAAGAGACGTTTGG
 CTGATAGACTAGTGGATCCACTAGTgtttctgccc

10

【0 2 1 2】

M M e b g - c I 8 5 7 s 7 e n h a n c e d R B S # 4 と呼ばれる組換えファージを使用して、この構築物を F ' t e t / 3 9 3 の染色体に伝達した。組換え及び分解の後、前記の染色体インサートのみが細胞内に残る。それを、F ' t e t / G M 1 0 1 と改名した。次いで、e b g オペロンの G e n b a n k 登録番号 M 6 4 4 4 1 G b _ B a において番号付けられたヌクレオチド 2 4 9 3 位と 2 9 3 7 位との間に l a c I ^Q 構築物を伝達し、その間の e b g 配列を欠失させることにより、F ' t e t / G M 1 0 1 を修飾した。インサートの配列を以下に示す。ここで、小文字は、以下に示されるインサート（配列番号 9 9）の両側に隣接している e b g 配列を表す。

20

【0 2 1 3】

【化 2 6】

ggcggaaccGACGTCCATCGAATGGTGCAAAACCTTTTCGCGGTATGGCATGATAGCGCCCGGAAGA
 GAGTCAATTCAGGGTGGTGAATGTGAAACCAGTAACGTTATACGATGTGCGCAGAGTATGCCGGT
 GTCTCTTATCAGACCGTTTCCCGCGTGGTGAACCAGGCCAGCCACGTTTCTGCGAAAAACGCGGG
 AAAAAATCGAAGCGGCGATGGCGGAGCTGAATTACATTCCTCAACCGCGTGGCACAACAACCTGG
 CGGGCAAACAGTCGCTCCTGATTGGCGTTGCCACCTCCAGTCTGGCCCTGCACGCGCCGTCGCA
 AATTGTGCGGCGGATTAATCTCGCGCCGATCAACTGGGTGCCAGCGTGGTGGTGTGCGATGGTA
 GAACGAAGCGGCGTCGAAGCCTGTAAAGCGGCGGTGCACAATCTTCTCGCGCAACGCGTCAGTG
 GGCTGATCATTAACCTATCCGCTGGATGACCAGGATGCCATTGCTGTGGAAGCTGCCTGCACTAA
 TGTTCCGGCGTTATTTCTTGATGTCTCTGACCAGACACCCATCAACAGTATTATTTCTCCCATGA
 AGACGGTACGCGATGGGCGTGGAGCATCTGGTTCGATTGGGTCAACAGCAAATCGCGCTGTTA
 GCGGGCCCATTAAGTTCTGTCTCGGCGCTGCGTCTGGCTGGCTGGCATAAATATCTCACTCG
 CAATCAAATTCAGCCGATAGCGGAACGGGAAGGCGACTGGAGTGCCATGTCCGGTTTTCAACAA
 ACCATGCAAATGCTGAATGAGGGCATCGTTCCCACTGCGATGCTGGTTGCCAACGATCAGATGG
 CGCTGGGCGCAATGCGCGCCATTACCGAGTCCGGGCTGCGCGTTGGTGCGGATATCTCGGTAGT
 GGGATACGACGATACCGAAGACAGCTCATGTTATATCCCGCCGTTAACCAACATCAAACAGGAT
 TTTGCGCTGCTGGGGCAAACAGCGTGGACCGCTTGTGCAACTCTCTCAGGGCCAGGCGGTGA
 AGGGCAATCAGCTGTTGCCGCTCTCACTGGTGAAGAAAGAAACCAACCTGGCGCCCAATACGCA
 AACCGCCTCTCCCGCGCGTTGGCCGATTCAATAGCAGCTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGG
 AAAGCGGACAGTAAGGTACCATAGGATCCaggcacagga

30

【0 2 1 4】

この構築物を、A G e b g - L a c I Q # 5 と呼ばれる組換えファージを使用して、F ' t e t / G M 1 0 1 の染色体に伝達した。組換え及び分解の後、前記の染色体インサートのみが細胞内に残る。それを、F ' t e t / G M 2 2 1 と改名した。L B 中の 2 5 μ g / m l の濃度のアクリジンオレンジを使用して、F ' t e t エピソームを株から除去した。この除去された株を、テトラサイクリン感受性として同定し、G M 2 2 1 として保管した。

40

【0 2 1 5】

大腸菌における発現。各 p A M G 2 1 - F c 融合構築物を含む大腸菌 G M 2 2 1 の培養物を、ルリアブロス (L u r i a B r o t h) 培地中で 3 7 °C で増殖させた。l u x P R プロモーターからの遺伝子産物発現の誘導を、2 0 n g / m l の最終濃度で合成自己誘

50

導因子N-(3-オキソヘキサノイル)-DL-ホモセリンラク톤を培養培地に添加することにより達成した。培養物を、さらに3時間37℃でインキュベートした。3時間後、細菌培養物を、封入体の存在に関して顕微鏡検によって検査し、次いで遠心分離によって収集した。誘導された培養物には屈折封入体が観察され、このことから、Fc融合体が大腸菌においては不溶性画分に産生される可能性が最も高いことが示された。細胞ペレットを、10%β-メルカプトエタノールを含有しているレムリ(Laemmli)試料緩衝液への再懸濁によって直接溶解させ、SDS-PAGEによって分析した。各々の場合において、適切な分子量の強いクーマシー(Coomassie)染色バンドが、SDS-PAGEゲル上に観察された。

【実施例3】

10

【0216】

TALL-1ペプチボディはTALL-1により媒介されるB細胞増殖を阻害する
ネガティブ選択(MACS CD43(Ly-48)マイクロビーズ(Microbeads)、Miltenyi Biotech, Auburn, CA)によって、C57BL/6の脾臓からマウスBリンパ球を単離した。精製された(10^5 個の)B細胞を、MEM、10%熱不活化FCS、 5×10^{-5} Mβ-メルカプトエタノール、100U/mlペニシリン、100μg/mlストレプトマイシンの中で、示された量の組換えTALL-1ペプチボディと共に、10ng/ml TALL-1タンパク質及び2μg/mlヤギF(ab')₂抗マウスIgM(Jackson ImmunoResearch Laboratory, West Grove, Pennsylvania)を含む96穴平底組織培養プレートにおいてトリプリケートで37℃、5%CO₂で4日間培養した。18時間のインキュベーション時間の後、放射性³[H]チミジンの取り込みにより増殖を測定した。

20

【実施例4】

【0217】

TALL-1ペプチボディはTALL-1とその受容体との結合を阻止する
Reacti-Gel 6x(Pierce)に、ヒトAGP3(TALL-1としても知られる。Khareら、Proc. Natl. Acad. Sci. 97:3370-3375, 2000)をプレコーティングし、BSAによりブロッキングした。100pM及び40pMのAGP3ペプチボディ試料を、示された様々な濃度のヒトAGP3と共に室温で8時間インキュベートした後、ヒトAGP3でコーティングされたビーズに通した。ビーズ結合ペプチボディの量を、蛍光(Cy5)標識ヤギ抗ヒトFc抗体(Jackson Immune Research)により定量した。結合シグナルは、結合平衡時の遊離ペプチボディの濃度に比例する。解離平衡定数(K_D)を、二重曲線一部位均一結合モデル(KinEx(登録商標)ソフトウェア)を使用して、競合曲線の非線形回帰から入手した。AGP3ペプチボディ(配列番号123)とヒトAGP3との結合に関するK_Dは、約4pMである(図9)。

30

【0218】

このAGP3ペプチボディがヒトAGP3と同様にマウスAGP3の結合も中和し得るか否かを決定するため、ピアコア中和アッセイを利用した。全ての実験を、室温にてピアコア3000で実施した。ヒトTACI-Fcタンパク質(Xiaら、J. Exp. Med. 192, 137-144, 2000)を、10mM酢酸塩pH4.0を使用して、2900RUのレベルにB1チップへ固定化した。ブランクのフローセルを、バックグラウンド対照として使用した。0.005%P20を含有しているPBS(カルシウム又はマグネシウムを含まない)のランニングバッファーを使用して、1nM組換えヒトAGP3(ランニングバッファー+0.1mg/ml BSA中)を、示された様々な量のAGP3ペプチボディ(x軸)の非存在下及び存在下でインキュベートした後、受容体表面に注入した。再生は、8mMグリシンpH1.5、1分間、25mM 3-[シクロヘキシルアミノ]-1-プロパンスルホン酸(CAPS)pH10.5、1M NaCl、1分間を使用して実施した。マウスAGP3結合の決定については、ヒトhisタグ化TACI

40

50

を、上記の緩衝液で1000RUに固定化した。5nM組換えマウスAGP3（ランニングバッファー+0.1mg/ml BSA中）を、図11に示された様々な量のAGP3ペプチボディ（x軸）の非存在下及び存在下でインキュベートした後、受容体表面に注入した。再生は、10mM HCl pH2、30秒、2回により実施した。AGP3ペプチボディ（配列番号123）の非存在下に対する存在下でのヒトAGP3及びマウスAGP3の両方の相対結合を測定した（y軸）。相対結合応答は、 $(RU - RU_{blank} / RU_0 - RU_{blank})$ として決定した。AGP3ペプチボディ（配列番号123）は、ヒト及びマウス両方のAGP3と受容体TACIとの結合を阻害した（図10A及び10B）。

【0219】

このAGP3ペプチボディがAGP3と3個の受容体（TACI、BCMA及びBAFFR）全てとの結合を阻止するか否かを調査するため、組換え可溶性受容体TACIタンパク質、BCMAタンパク質及びBAFFRタンパク質をCM5チップに固定化した。10mM酢酸塩、pH4を使用して、ヒトTACI-Fcを、6300RUに固定化し、ヒトBCMA-Fcを5000RUに固定化し、BAFFR-Fcを6000RUに固定化した。1nM組換えヒトAGP3（0.1mg/ml BSA及び0.1mg/mlヘパリンを含有しているランニングバッファー中）又は1nM組換えAPRILタンパク質（Yuら、Nat. Immunol.、1:252-256、2000）を、示された量のAGP3ペプチボディと共にインキュベートした後、各受容体表面に注入した。AGP3実験のための再生は、8mMグリシン、pH1.5、1分、続いて25mM CAPS、pH10.5、1M NaCl、1分間により行った。APRIL実験のための再生は、8mMグリシン、pH2、1分、続いて25mM CAPS、pH10.5、1M NaCl、1分により実施した。AGP3又はAPRILの相対結合を測定した。AGP3ペプチボディ（配列番号123）は、AGP3と3個の受容体全てとの結合を阻止した（図11A）。AGP3ペプチボディは、APRILとこれらの受容体との結合には影響しなかった（図11B）。

【実施例5】

【0220】

AGP3ペプチボディはAGP3により媒介されるB細胞増殖を阻止する

ネガティブ選択（MACS CD43（Ly-48）マイクロビーズ、Miltenyi Biotech、Auburn、CA）によって、C57BL/6の脾臓からマウスBリンパ球を単離した。精製された（ 10^5 個の）B細胞を、最小必須培地（MEM）、10%熱不活化ウシ胎仔血清（FCS）、 5×10^{-5} M 2-メルカプトエタノール、100U/mlペニシリン、100µg/mlストレプトマイシンの中で、示された量の組換えAGP3ペプチボディ（配列番号123）と共に、10ng/ml AGP3（TALL-1）タンパク質及び2µg/mlヤギF(ab')₂抗マウスIgM（Jackson ImmunoResearch Laboratory、West Grove、Pennsylvania）を含む96穴平底組織培養プレートにおいてトリプリケートで37、5%CO₂で4日間培養した。18時間のインキュベーション時間の後、放射性³[H]チミジンの取り込みにより増殖を測定した。

【実施例6】

【0221】

マウスにおけるAGP3により刺激されるIg産生に対するAGP3ペプチボディ

マウス（9~14週齢及び体重19~21gのBalb/c雌）を、Charles River Laboratories、Wilmington、MAより購入した。マウス（n=10）を、5日連続で1日1回、1mg/KgのヒトAGP3により腹腔内処理した後、5mg/Kgもしくは0.5mg/KgのAGP3ペプチボディ（配列番号123）、又は生理食塩水、又は5mg/KgのヒトFcにより処理した。他のマウスは未処理のままにした。血清IgM及びIgAを測定するため、6日目にマウスを屠殺し、IgM及びIgAをELISAによって測定した。簡単に説明すると、プレートに、IgM

10

20

30

40

50

又はIgAに特異的な捕捉抗体(Southern Biotechnology Associates、Birmingham、AL)をコーティングし、ブロッキングし、標準(Calbiochem、San Diego、CAのIgM及びSouthern Biotechnology AssociatesのIgA)又は試験試料の希釈物を添加した。捕捉されたIgを、IgM又はIgAに特異的なビオチン化抗体(Southern Biotechnology Associates)、ニュートラアビジン(neutravidin)結合ペルオキシダーゼ(Pierce、Rockford、IL)及びテトラメチルベンジジン(TMB)マイクロウェルペルオキシダーゼ基質(KPL、Gaithersburg、MD)を使用して可視化した。光学密度を、サーモマックス(Thermomax)ELISAリーダー(Molecular Devices、Menlo Park、CA)で定量した。

10

【0222】

ヒトAGP3により刺激される血清中のIgM及びIgAのレベルの増加は、5mg/Kgの抗AGP3ペプチボディ(配列番号123)によって阻止され、0.5mg/Kgによっては阻止されなかった(図12A及び12B)。

【実施例7】

【0223】

AGP3ペプチボディはマウスにおいて脾臓B細胞数を低下させた

マウス(前記、n=7)を、7日連続で、5mg/Kgもしくは1.5mg/Kgもしくは0.5mg/KgのAGP3ペプチボディ(配列番号123)、又は生理食塩水、又は5mg/KgのヒトFcにより腹腔内処理した。脾臓B細胞数を計数するため、8日目にマウスを屠殺した。脾臓を、生理食塩水中に収集し、細胞懸濁物を得るため手動の均質化によって穏和に破碎した。全細胞数を、H1Eカウンター(Technicon、Tarrytown、NY)により入手した。CD3に対するフルオレセインイソチオシアネート(FITC)結合Ab及びB220に対するフィコエリトリン(PE)結合Ab(PharMingen、San Diego、CA)並びにFACScanアナライザー(Becton and Dickinson、Mountain View、CA)を使用した免疫蛍光二重染色及びフローサイトメトリーによって、B細胞の割合(%)を導出した。B細胞はCD3-B220+として同定した。全ての用量において、AGP3ペプチボディ(配列番号123)は、用量応答的に脾臓B細胞数を減少させた(図12A及び12B)(配列番号123)。

20

30

【0224】

【表10】

表8

AGP3 Pbは正常マウスにおいてB細胞数を低下させる

n=7	用量 (1日1回×7)	脾臓B細胞 (1×10^6)	SD	t 検定
生理食塩水		51.3	9.6	
Fc	5mg/Kg	45.5	7.1	
ペプチボディ	5mg/Kg	20.1	3.8	1.37856E-05
	1.5mg/Kg	22.6	6.9	5.10194E-05
	0.5mg/Kg	25.8	3.6	0.000111409

40

【実施例8】

【0225】

AGP3ペプチボディはマウスCIAモデルにおいて関節炎重度を低下させた

50

8～12週齢のDBA/1マウス(Jackson Laboratories、Bar Harbor、MEから入手)を、完全フロイントアジュバント(Difco)で乳化されたウシコラーゲンII型(bCII)(University of Utahから購入)により、尾の基部において皮内免疫感作した。各注射は、100 μ gのbCIIを含有している100 μ lであった。初回免疫感作の3週間後、不完全フロイントアジュバントで乳化されたbCIIにより、マウスを追加免疫感作した。追加免疫感作の日から4週間、処理を開始した。マウスを関節炎の発症に関して調査した。以前に記載されたようにして(Khareら、J. Immunol. 155:3653-9、1995)、四肢全てを個々に0～3にスコア化した。従って、各動物について、関節炎重度は0～12の範囲となり得る。AGP3(配列番号123)ペプチボディ処理は、関節炎スコアの重度を有意に低下させた(図13)。

10

【0226】

抗コラーゲン抗体レベルの分析のため、最終処理の1週間後(35日目)に、血清試料を採取した。高結合ELISAプレート(Immulon、Nunc)に、炭酸緩衝液中のウシCIIの4 μ g/ml溶液50 μ lをコーティングし、プレートを冷却装置内で一晚冷却した。プレートを冷水により3回洗浄した。PBS/.05%トウイン20/1%BSAで構成されたブロッキング溶液75 μ lを使用して、1時間、非特異的結合をブロッキングした。試料を、希釈液プレートにおいて1:25、1:100、1:400及び1:1600に(ブロッキング緩衝液で)希釈し、これらの試料25 μ lを、100 μ l/ウェルという最終容量で、最終希釈率100、400、1600及び6400となるよう、ELISAプレートの各ウェルに添加した。室温で3時間インキュベートした後、プレートを再び3回洗浄した。ブロッキング緩衝液で希釈された二次抗体(ラット抗マウスIgM、IgG2a、IgG2b、IgG1、IgG3-HRP)100 μ lを各ウェルに添加し、プレートを少なくとも2時間インキュベートした。プレートを4回洗浄した。TMB溶液(Sigma)100 μ lを各ウェルに添加し、25%硫酸50 μ lを使用して反応を停止させた。プレートを、450nmにおいてELISAプレートリーダーを使用して読み取った。ODを、単位/mlを表す標準プールと比較した。AGP3ペプチボディ(配列番号123)処理は、PBS又はFc対照処理群と比較して、血清中の抗コラーゲンII IgG1、IgG3、IgG2a及びIgG2bのレベルを低下させた(図14)。

20

30

【実施例9】

【0227】

NZB/NZWループスマウスにおけるAGP3ペプチボディの処理

5ヶ月齢のループスの素因を有するNZB \times NZBWF1マウスを、PBS、又は示された用量のAGP3ペプチボディもしくはヒトFcタンパク質により、週3回8週間、腹腔内処理した。処理前に、アルブスティックス試薬ストリップ(Bayer AG)を用いて、尿中タンパク質に関して動物をプレスクリーニングした。100mg/dlを越える尿中タンパク質を有するマウスは、研究に含めなかった。尿中タンパク質を、実験期間中、毎月評価した。AGP3ペプチボディ(配列番号123)処理は、タンパク尿症開始を遅延させ、生存率を改善した(図15及び15B)。

40

【0228】

AGP3ペプチボディ処理は、マウスにおいてB細胞数を低下させた。Balb/cマウスに、示された量のAGP3ペプチボディ(配列番号123)又はヒトFcタンパク質の腹腔内注射を7日間毎日与えた。8日目、脾臓を収集し、表8に示されるようなB220+B細胞に関するFACS分析に供した。

【0229】

以上、本発明を十分に記載したが、本明細書に記載されたような本発明の本旨及び範囲を逸脱することなく、多くの変化及び修飾をこれらに施しうるものが、当業者には明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

50

【 0 2 3 0 】

【図 1】 I g G 1 抗体から導出されうる例示的な F c 二量体を示す。図中の「 F c 」は、本明細書における「 F c ドメイン」の意味に含まれる任意の F c バリエーションを表す。「 X¹」及び「 X²」は、下記定義のようなペプチド又はリンカー - ペプチド組み合わせを表す。特定の二量体は、以下の通りである。 A、D：単一ジスルフィド結合二量体。 I g G 1 抗体は、典型的には、抗体のヒンジ領域に 2 個のジスルフィド結合を有している。図 1 A 及び 1 D 中の F c ドメインは、2 個のジスルフィド結合部位の間での短縮によって、又はシステイニル残基の非反応性残基（例えばアラニル）への置換によって形成され得る。図 1 A においては、F c ドメインはペプチドのアミノ末端で連結されており、図 1 D においては、カルボキシル末端で連結されている。 B、E：二重ジスルフィド結合二量体。この F c ドメインは、F c ドメイン鎖内の両方のシステイニル残基が保持されるような親抗体の短縮によって、又はこのような F c ドメインをコードする配列を含む構築物からの発現によって形成され得る。図 1 B においては、F c ドメインはペプチドのアミノ末端で連結されており、図 1 E においては、カルボキシル末端で連結されている。 C、F：非共有結合二量体。この F c ドメインは、短縮又は置換のいずれかによるシステイニル残基の排除によって形成され得る。宿主細胞中に存在する他のタンパク質のシステイニル残基とのシステイニル残基反応によって形成される不純物を回避するため、システイニル残基を排除することが望ましい場合がある。F c ドメインの非共有結合性の結合は、二量体を維持するのに十分である。異なる型の抗体（例えば、I g G 2、I g M）から導出された F c ドメインを使用することにより、その他の二量体も形成され得る。

【図 2】薬理学的活性を有するペプチドのタンデムリピートを特色とする、本発明の好ましい化合物の構造を示す。図 2 A は、単鎖分子を示し、その分子のための DNA 構築物も表し得る。図 2 B は、リンカー - ペプチド部分が二量体の一方の鎖のみに存在する二量体を示す。図 2 C は、両方の鎖にペプチド部分を有する二量体を示す。図 2 C の二量体は、ある種の宿主細胞においては、図 3 A に示される単鎖をコードする DNA 構築物の発現により、自然に形成されるであろう。その他の宿主細胞においては、二量体の形成にとって都合のよい条件の下に細胞を置くか、又は二量体をインビトロで形成させることができる。

【図 3】本発明において使用され得るヒト I g G 1 F c の例示的な核酸配列及びアミノ酸配列（それぞれ配列番号 1 及び 2）を示す。

【図 4 A】ペプチド及びリンカーをコードする N d e I - S a l I 断片のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列（配列番号 3 から 27）を示す。

【図 4 B】ペプチド及びリンカーをコードする N d e I - S a l I 断片のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列（配列番号 3 から 27）を示す。

【図 4 C】ペプチド及びリンカーをコードする N d e I - S a l I 断片のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列（配列番号 3 から 27）を示す。

【図 4 D】ペプチド及びリンカーをコードする N d e I - S a l I 断片のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列（配列番号 3 から 27）を示す。

【図 4 E】ペプチド及びリンカーをコードする N d e I - S a l I 断片のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列（配列番号 3 から 27）を示す。

【図 4 F】ペプチド及びリンカーをコードする N d e I - S a l I 断片のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列（配列番号 3 から 27）を示す。

【図 5 A】本発明の F c 連結分子を構築するために使用された p A M G 2 1 - R A N K - F c ベクターのヌクレオチド配列（配列番号 28）を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。・プロモーター領域 P c o p B、P r e p A、R N A I、A P H I I、l u x P R 及び l u x P L；・A P H I I、l u x R の m R N A；・タンパク質 c o p B タンパク質、c o p T、r e p A I、r e p A 4、A P H I I、l u x R、R A N K 及び F c のコーディング配列及びアミノ酸配列；・タンパク質 c o p B、C R P の結合部位；・ヘアピン T 1、T 2、T 7 及び t o o p；・l u x タンパク質のオペレーター部位；・P f l l l 0 8 I、B g l I I、S c a I、B m n I

、DrdII、DraIII、BstBI、AceIII、AflII、PflMI、BglI、SfiI、BstEII、BspLulII、NspV、BplI、EagI、BcgI、NsiI、BsaI、Psp1406I、AatII、BsmI、NruI、NdeI、ApaLI、Acc65I、KpnI、SalI、AccI、BspEI、AhdI、BspHI、EcoNI、BsrGI、BmaI、SmaI、SexAI、BamHI及びB1pIの酵素制限部位。

【図5B】本発明のFc連結分子を構築するために使用されたpAMG21-RANK-Fcベクターのヌクレオチド配列(配列番号28)を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。・プロモーター領域PcopB、PrepA、RNAI、APHII、luxPR及びluxPL; ・APHII、luxRのmRNA; ・タンパク質copBタンパク質、copT、repAI、repA4、APHII、luxR、RANK及びFcのコーディング配列及びアミノ酸配列; ・タンパク質copB、CRPの結合部位; ・ヘアピンT1、T2、T7及びtoop; ・luxタンパク質のオペレーター部位; ・Pfl11108I、BglII、ScaI、BmnI、DrdII、DraIII、BstBI、AceIII、AflII、PflMI、BglI、SfiI、BstEII、BspLulII、NspV、BplI、EagI、BcgI、NsiI、BsaI、Psp1406I、AatII、BsmI、NruI、NdeI、ApaLI、Acc65I、KpnI、SalI、AccI、BspEI、AhdI、BspHI、EcoNI、BsrGI、BmaI、SmaI、SexAI、BamHI及びB1pIの酵素制限部位。

【図5C】本発明のFc連結分子を構築するために使用されたpAMG21-RANK-Fcベクターのヌクレオチド配列(配列番号28)を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。・プロモーター領域PcopB、PrepA、RNAI、APHII、luxPR及びluxPL; ・APHII、luxRのmRNA; ・タンパク質copBタンパク質、copT、repAI、repA4、APHII、luxR、RANK及びFcのコーディング配列及びアミノ酸配列; ・タンパク質copB、CRPの結合部位; ・ヘアピンT1、T2、T7及びtoop; ・luxタンパク質のオペレーター部位; ・Pfl11108I、BglII、ScaI、BmnI、DrdII、DraIII、BstBI、AceIII、AflII、PflMI、BglI、SfiI、BstEII、BspLulII、NspV、BplI、EagI、BcgI、NsiI、BsaI、Psp1406I、AatII、BsmI、NruI、NdeI、ApaLI、Acc65I、KpnI、SalI、AccI、BspEI、AhdI、BspHI、EcoNI、BsrGI、BmaI、SmaI、SexAI、BamHI及びB1pIの酵素制限部位。

【図5D】本発明のFc連結分子を構築するために使用されたpAMG21-RANK-Fcベクターのヌクレオチド配列(配列番号28)を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。・プロモーター領域PcopB、PrepA、RNAI、APHII、luxPR及びluxPL; ・APHII、luxRのmRNA; ・タンパク質copBタンパク質、copT、repAI、repA4、APHII、luxR、RANK及びFcのコーディング配列及びアミノ酸配列; ・タンパク質copB、CRPの結合部位; ・ヘアピンT1、T2、T7及びtoop; ・luxタンパク質のオペレーター部位; ・Pfl11108I、BglII、ScaI、BmnI、DrdII、DraIII、BstBI、AceIII、AflII、PflMI、BglI、SfiI、BstEII、BspLulII、NspV、BplI、EagI、BcgI、NsiI、BsaI、Psp1406I、AatII、BsmI、NruI、NdeI、ApaLI、Acc65I、KpnI、SalI、AccI、BspEI、AhdI、BspHI、EcoNI、BsrGI、BmaI、SmaI、SexAI、BamHI及びB1pIの酵素制限部位。

【図5E】本発明のFc連結分子を構築するために使用されたpAMG21-RANK-Fcベクターのヌクレオチド配列(配列番号28)を示す。これらの図面は、以下のもの

を含む多数の核酸の特色を同定する。 ・プロモーター領域 P c o p B、P r e p A、R N A I、A P H I I、l u x P R 及び l u x P L； ・A P H I I、l u x R の m R N A； ・タンパク質 c o p B タンパク質、c o p T、r e p A I、r e p A 4、A P H I I、l u x R、R A N K 及び F c のコーディング配列及びアミノ酸配列； ・タンパク質 c o p B、C R P の結合部位； ・ヘアピン T 1、T 2、T 7 及び t o o p； ・l u x タンパク質のオペレーター部位； ・P f l l l 1 0 8 I、B g l I I、S c a I、B m n I、D r d I I、D r a I I I、B s t B I、A c e I I I、A f l I I、P f l M I、B g l I、S f i I、B s t E I I、B s p L u l l I、N s p V、B p l I、E a g I、B c g I、N s i I、B s a I、P s p l 4 0 6 I、A a t I I、B s m I、N r u I、N d e I、A p a l I、A c c 6 5 I、K p n I、S a l I、A c c I、B s p E I、A h d I、B s p H I、E c o n I、B s r G I、B m a I、S m a I、S e x A I、B a m H I 及び B l p I の酵素制限部位。

10

【図 5 F】本発明の F c 連結分子を構築するために使用された p A M G 2 1 - R A N K - F c ベクターのヌクレオチド配列（配列番号 2 8）を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。 ・プロモーター領域 P c o p B、P r e p A、R N A I、A P H I I、l u x P R 及び l u x P L； ・A P H I I、l u x R の m R N A； ・タンパク質 c o p B タンパク質、c o p T、r e p A I、r e p A 4、A P H I I、l u x R、R A N K 及び F c のコーディング配列及びアミノ酸配列； ・タンパク質 c o p B、C R P の結合部位； ・ヘアピン T 1、T 2、T 7 及び t o o p； ・l u x タンパク質のオペレーター部位； ・P f l l l 1 0 8 I、B g l I I、S c a I、B m n I、D r d I I、D r a I I I、B s t B I、A c e I I I、A f l I I、P f l M I、B g l I、S f i I、B s t E I I、B s p L u l l I、N s p V、B p l I、E a g I、B c g I、N s i I、B s a I、P s p l 4 0 6 I、A a t I I、B s m I、N r u I、N d e I、A p a l I、A c c 6 5 I、K p n I、S a l I、A c c I、B s p E I、A h d I、B s p H I、E c o n I、B s r G I、B m a I、S m a I、S e x A I、B a m H I 及び B l p I の酵素制限部位。

20

【図 5 G】本発明の F c 連結分子を構築するために使用された p A M G 2 1 - R A N K - F c ベクターのヌクレオチド配列（配列番号 2 8）を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。 ・プロモーター領域 P c o p B、P r e p A、R N A I、A P H I I、l u x P R 及び l u x P L； ・A P H I I、l u x R の m R N A； ・タンパク質 c o p B タンパク質、c o p T、r e p A I、r e p A 4、A P H I I、l u x R、R A N K 及び F c のコーディング配列及びアミノ酸配列； ・タンパク質 c o p B、C R P の結合部位； ・ヘアピン T 1、T 2、T 7 及び t o o p； ・l u x タンパク質のオペレーター部位； ・P f l l l 1 0 8 I、B g l I I、S c a I、B m n I、D r d I I、D r a I I I、B s t B I、A c e I I I、A f l I I、P f l M I、B g l I、S f i I、B s t E I I、B s p L u l l I、N s p V、B p l I、E a g I、B c g I、N s i I、B s a I、P s p l 4 0 6 I、A a t I I、B s m I、N r u I、N d e I、A p a l I、A c c 6 5 I、K p n I、S a l I、A c c I、B s p E I、A h d I、B s p H I、E c o n I、B s r G I、B m a I、S m a I、S e x A I、B a m H I 及び B l p I の酵素制限部位。

30

40

【図 5 H】本発明の F c 連結分子を構築するために使用された p A M G 2 1 - R A N K - F c ベクターのヌクレオチド配列（配列番号 2 8）を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。 ・プロモーター領域 P c o p B、P r e p A、R N A I、A P H I I、l u x P R 及び l u x P L； ・A P H I I、l u x R の m R N A； ・タンパク質 c o p B タンパク質、c o p T、r e p A I、r e p A 4、A P H I I、l u x R、R A N K 及び F c のコーディング配列及びアミノ酸配列； ・タンパク質 c o p B、C R P の結合部位； ・ヘアピン T 1、T 2、T 7 及び t o o p； ・l u x タンパク質のオペレーター部位； ・P f l l l 1 0 8 I、B g l I I、S c a I、B m n I、D r d I I、D r a I I I、B s t B I、A c e I I I、A f l I I、P f l M I、B g l I、S f i I、B s t E I I、B s p L u l l I、N s p V、B p l I、E a g I、

50

B c g I、N s i I、B s a I、P s p l 4 0 6 I、A a t I I、B s m I、N r u I、N d e I、A p a l I、A c c 6 5 I、K p n I、S a l I、A c c I、B s p E I、A h d I、B s p H I、E c o n I、B s r G I、B m a I、S m a I、S e x A I、B a m H I 及び B l p I の酵素制限部位。

【図 5 I】本発明の F c 連結分子を構築するために使用された p A M G 2 1 - R A N K - F c ベクターのヌクレオチド配列（配列番号 2 8）を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。・プロモーター領域 P c o p B、P r e p A、R N A I、A P H I I、l u x P R 及び l u x P L；・A P H I I、l u x R の m R N A；・タンパク質 c o p B タンパク質、c o p T、r e p A I、r e p A 4、A P H I I、l u x R、R A N K 及び F c のコーディング配列及びアミノ酸配列；・タンパク質 c o p B、C R P の結合部位；・ヘアピン T 1、T 2、T 7 及び t o o p；・l u x タンパク質のオペレーター部位；・P f l l l 1 0 8 I、B g l I I、S c a I、B m n I、D r d I I、D r a I I I、B s t B I、A c e I I I、A f l I I、P f l M I、B g l I、S f i I、B s t E I I、B s p L u l l I、N s p V、B p l I、E a g I、B c g I、N s i I、B s a I、P s p l 4 0 6 I、A a t I I、B s m I、N r u I、N d e I、A p a l I、A c c 6 5 I、K p n I、S a l I、A c c I、B s p E I、A h d I、B s p H I、E c o n I、B s r G I、B m a I、S m a I、S e x A I、B a m H I 及び B l p I の酵素制限部位。

10

【図 5 J】本発明の F c 連結分子を構築するために使用された p A M G 2 1 - R A N K - F c ベクターのヌクレオチド配列（配列番号 2 8）を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。・プロモーター領域 P c o p B、P r e p A、R N A I、A P H I I、l u x P R 及び l u x P L；・A P H I I、l u x R の m R N A；・タンパク質 c o p B タンパク質、c o p T、r e p A I、r e p A 4、A P H I I、l u x R、R A N K 及び F c のコーディング配列及びアミノ酸配列；・タンパク質 c o p B、C R P の結合部位；・ヘアピン T 1、T 2、T 7 及び t o o p；・l u x タンパク質のオペレーター部位；・P f l l l 1 0 8 I、B g l I I、S c a I、B m n I、D r d I I、D r a I I I、B s t B I、A c e I I I、A f l I I、P f l M I、B g l I、S f i I、B s t E I I、B s p L u l l I、N s p V、B p l I、E a g I、B c g I、N s i I、B s a I、P s p l 4 0 6 I、A a t I I、B s m I、N r u I、N d e I、A p a l I、A c c 6 5 I、K p n I、S a l I、A c c I、B s p E I、A h d I、B s p H I、E c o n I、B s r G I、B m a I、S m a I、S e x A I、B a m H I 及び B l p I の酵素制限部位。

20

30

【図 5 K】本発明の F c 連結分子を構築するために使用された p A M G 2 1 - R A N K - F c ベクターのヌクレオチド配列（配列番号 2 8）を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。・プロモーター領域 P c o p B、P r e p A、R N A I、A P H I I、l u x P R 及び l u x P L；・A P H I I、l u x R の m R N A；・タンパク質 c o p B タンパク質、c o p T、r e p A I、r e p A 4、A P H I I、l u x R、R A N K 及び F c のコーディング配列及びアミノ酸配列；・タンパク質 c o p B、C R P の結合部位；・ヘアピン T 1、T 2、T 7 及び t o o p；・l u x タンパク質のオペレーター部位；・P f l l l 1 0 8 I、B g l I I、S c a I、B m n I、D r d I I、D r a I I I、B s t B I、A c e I I I、A f l I I、P f l M I、B g l I、S f i I、B s t E I I、B s p L u l l I、N s p V、B p l I、E a g I、B c g I、N s i I、B s a I、P s p l 4 0 6 I、A a t I I、B s m I、N r u I、N d e I、A p a l I、A c c 6 5 I、K p n I、S a l I、A c c I、B s p E I、A h d I、B s p H I、E c o n I、B s r G I、B m a I、S m a I、S e x A I、B a m H I 及び B l p I の酵素制限部位。

40

【図 5 L】本発明の F c 連結分子を構築するために使用された p A M G 2 1 - R A N K - F c ベクターのヌクレオチド配列（配列番号 2 8）を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。・プロモーター領域 P c o p B、P r e p A、R N A I、A P H I I、l u x P R 及び l u x P L；・A P H I I、l u x R の m R N A

50

; ・タンパク質 *copB* タンパク質、*copT*、*repA* I、*repA* 4、*APH* I I、*luxR*、*RANK* 及び *Fc* のコーディング配列及びアミノ酸配列; ・タンパク質 *copB*、*CRP* の結合部位; ・ヘアピン *T* 1、*T* 2、*T* 7 及び *toop*; ・*lux* タンパク質のオペレーター部位; ・*Pfl* 11108 I、*Bgl* I I、*Sca* I、*Bmn* I、*Drd* I I、*Dra* I I I、*Bst* B I、*Ace* I I I、*Afl* I I、*Pfl* M I、*Bgl* I、*Sfi* I、*Bst* E I I、*Bsp* L u l l I、*Nsp* V、*Bpl* I、*Eag* I、*Bcg* I、*Nsi* I、*Bsa* I、*Psp* 1406 I、*Aat* I I、*Bsm* I、*Nru* I、*Nde* I、*Apa* L I、*Acc* 65 I、*Kpn* I、*Sal* I、*Acc* I、*Bsp* E I、*Ahd* I、*Bsp* H I、*Eco* N I、*Bsr* G I、*Bma* I、*Sma* I、*Sex* A I、*Bam* H I 及び *Blp* I の酵素制限部位。

10

【図5M】本発明の *Fc* 連結分子を構築するために使用された *pAMG21-RANK-Fc* ベクターのヌクレオチド配列 (配列番号 28) を示す。これらの図面は、以下のものを含む多数の核酸の特色を同定する。 ・プロモーター領域 *PcopB*、*PrepA*、*RNA* I、*APH* I I、*luxPR* 及び *luxPL*; ・*APH* I I、*luxR* の mRNA; ・タンパク質 *copB* タンパク質、*copT*、*repA* I、*repA* 4、*APH* I I、*luxR*、*RANK* 及び *Fc* のコーディング配列及びアミノ酸配列; ・タンパク質 *copB*、*CRP* の結合部位; ・ヘアピン *T* 1、*T* 2、*T* 7 及び *toop*; ・*lux* タンパク質のオペレーター部位; ・*Pfl* 11108 I、*Bgl* I I、*Sca* I、*Bmn* I、*Drd* I I、*Dra* I I I、*Bst* B I、*Ace* I I I、*Afl* I I、*Pfl* M I、*Bgl* I、*Sfi* I、*Bst* E I I、*Bsp* L u l l I、*Nsp* V、*Bpl* I、*Eag* I、*Bcg* I、*Nsi* I、*Bsa* I、*Psp* 1406 I、*Aat* I I、*Bsm* I、*Nru* I、*Nde* I、*Apa* L I、*Acc* 65 I、*Kpn* I、*Sal* I、*Acc* I、*Bsp* E I、*Ahd* I、*Bsp* H I、*Eco* N I、*Bsr* G I、*Bma* I、*Sma* I、*Sex* A I、*Bam* H I 及び *Blp* I の酵素制限部位。

20

【図6A】発現プラスミド *pAMG21* (ATCC 登録番号 98113) を形成させるため、*pCFM1656* の特有の *Aat* I I 制限部位 (*pCFM1656* の 4364 位) と *Sac* I I 制限部位 (*pCFM1656* の 4585 位) との間に挿入された DNA 配列 (配列番号 97) を示す。

【図6B】発現プラスミド *pAMG21* (ATCC 登録番号 98113) を形成させるため、*pCFM1656* の特有の *Aat* I I 制限部位 (*pCFM1656* の 4364 位) と *Sac* I I 制限部位 (*pCFM1656* の 4585 位) との間に挿入された DNA 配列 (配列番号 97) を示す。

30

【図7】*TALL-1* ペプチボディ (配列番号 70) が、*TALL-1* により媒介される B 細胞増殖を阻害することを示す。B6 マウスから精製された B 細胞 (10^5 個) を、 10 ng/ml *TALL-1* + $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ 抗 Ig M 抗体の存在下で、示された量の *TALL-1* コンセンサスペプチボディと共に、96 穴プレートにおいてトリPLICATEで培養した。増殖は、パルスの最後の 18 時間における放射性 [^3H] チミジン取り込みにより測定された。示されたデータは、トリPLICATEウェルの平均 \pm SD を表す。

【図8】*TALL-1* N 末端タンデム二量体ペプチボディ (下記表 5 B 中の配列番号 123、124) が、*TALL-1* により媒介される B 細胞増殖の阻害にとって好ましいことを示す。B6 マウスから精製された B 細胞 (10^5 個) を、 10 ng/ml *TALL-1* + $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ 抗 Ig M 抗体の存在下で、示された量の *TALL-1* 12-3 ペプチボディ及び *TALL-1* コンセンサスペプチボディ (表 5 B の配列番号 115 及び 122) 又は関連する二量体ペプチボディ (配列番号 123、124) と共に、96 穴プレートにおいてトリPLICATEで培養した。増殖は、パルスの最後の 18 時間における放射性 [^3H] チミジン取り込みによって測定された。示されたデータは、トリPLICATEウェルの平均 \pm SD を表す。

40

【図9】*AGP3* ペプチボディは高い親和性で *AGP3* と結合する。解離平衡定数 (K_D) は、二重曲線一部位均一結合モデル (*dual-curve one-site homogeneous binding model*) (*KinEx* (登録商標) ソフトウ

50

エア)を使用して、競争曲線の非線形回帰から得られた。AGP3ペプチボディのヒトAGP3との結合に関する K_D は、約4 pMである(配列番号123)。

【図10A】AGP3ペプチボディは、ピアコア(Biacore)競合アッセイにおいて、ヒトAGP3及びマウスAGP3の両方を阻止する。可溶性ヒトTACITANパク質を、B1チップに固定化した。1 nM組換えヒトAGP3タンパク質(上パネル)又は5 nM組換えマウスAGP3タンパク質(下パネル)を、示された量のAGP3ペプチボディと共にインキュベートした後、受容体の表面の上に注入した。ヒトAGP3及びマウスAGP3の相対結合応答を示した(配列番号123)。

【図10B】AGP3ペプチボディは、ピアコア(Biacore)競合アッセイにおいて、ヒトAGP3及びマウスAGP3の両方を阻止する。可溶性ヒトTACITANパク質を、B1チップに固定化した。1 nM組換えヒトAGP3タンパク質(上パネル)又は5 nM組換えマウスAGP3タンパク質(下パネル)を、示された量のAGP3ペプチボディと共にインキュベートした後、受容体の表面の上に注入した。ヒトAGP3及びマウスAGP3の相対結合応答を示した(配列番号123)。

【図11A】AGP3ペプチボディは、ピアコア競合アッセイにおいて、AGP3と、3個の受容体TACI、BCMA及びBAFFR全てとの結合を阻止した。組換え可溶性受容体TACITANパク質、BCMAタンパク質及びBAFFRTANパク質をCM5チップに固定化した。1 nM組換えヒトAGP3(上パネル)を、示された量のAGP3ペプチボディと共にインキュベートした後、各受容体表面の上に注入した。AGP3の相対結合を測定した。同様に、1 nM組換えAPRILタンパク質を、示された量のAGP3ペプチボディと共にインキュベートした後、各受容体表面の上に注入した。AGP3ペプチボディは、APRILと3個の受容体全てとの結合を阻害しなかった(配列番号123)。

【図11B】AGP3ペプチボディは、ピアコア競合アッセイにおいて、AGP3と、3個の受容体TACI、BCMA及びBAFFR全てとの結合を阻止した。組換え可溶性受容体TACITANパク質、BCMAタンパク質及びBAFFRTANパク質をCM5チップに固定化した。1 nM組換えヒトAGP3(上パネル)を、示された量のAGP3ペプチボディと共にインキュベートした後、各受容体表面の上に注入した。AGP3の相対結合を測定した。同様に、1 nM組換えAPRILタンパク質を、示された量のAGP3ペプチボディと共にインキュベートした後、各受容体表面の上に注入した。AGP3ペプチボディは、APRILと3個の受容体全てとの結合を阻害しなかった(配列番号123)。

【図12A】AGP3ペプチボディは、ヒトAGP3の接種によって誘導されるマウス血清免疫グロブリンレベル増加を阻害する。Balb/cマウスに、1日1回7日間、示された用量の生理食塩水、ヒトFc又はAGP3ペプチボディと共に1 mg/KgヒトAGP3タンパク質を腹腔内注射し、8日目に採血した。血清中の全IgM及びIgAレベルを、ELISAによって測定した(配列番号123)。

【図12B】AGP3ペプチボディは、ヒトAGP3の接種によって誘導されるマウス血清免疫グロブリンレベル増加を阻害する。Balb/cマウスに、1日1回7日間、示された用量の生理食塩水、ヒトFc又はAGP3ペプチボディと共に1 mg/KgヒトAGP3タンパク質を腹腔内注射し、8日目に採血した。血清中の全IgM及びIgAレベルを、ELISAによって測定した(配列番号123)。

【図13】AGP3ペプチボディ処理は、マウスCIAモデルにおいて関節炎重度を低下させた。8~12週齢のDBA/1雄マウスを、完全フロイントアジュバントで乳化されたウシコラーゲンII型(bCII)で、尾の基部において皮内免疫感作し、初回免疫感作の3週間後に、不完全フロイントアジュバントで乳化されたbCIIで追加免疫感作した。示された投薬量のAGP3ペプチボディによる処理を、追加免疫感作の日から4週間開始した。以前に記載されたようにして(Khareら、J. Immunol. 155: 3653-9, 1995)、四肢全てを個々に関節炎重度に関して0~3にスコア化した(配列番号123)。

【図14】AGP3ペプチボディ処理は、マウスCIAモデルにおいて抗コラーゲン抗体生成を阻害した。前記のような最終処理の1週間後(35日目)に血清試料を採取した。

10

20

30

40

50

血清中の抗コラーゲン I I 抗体レベルを、E L I S A 分析によって決定した（配列番号 1 2 3 ）。

【図 1 5 A】A G P 3 ペプチボディ処理は、N Z B / N Z W ループスマウスにおいて、タンパク尿症開始を遅延させ、生存率を改善した。5 ヶ月齢のループスの素因を有する N Z B × N Z B W F 1 マウスを、P B S、又は示された用量の A G P 3 ペプチボディ（配列番号 1 2 3 ）もしくはヒト F c タンパク質により、週 3 回 8 週間、腹腔内処理した。アルブスティックス（A l b u s t i x）試薬ストリップ（B a y e r A G）を用いて、実験期間中、毎月、尿中タンパク質を評価した。

【図 1 5 B】A G P 3 ペプチボディ処理は、N Z B / N Z W ループスマウスにおいて、タンパク尿症開始を遅延させ、生存率を改善した。5 ヶ月齢のループスの素因を有する N Z B × N Z B W F 1 マウスを、P B S、又は示された用量の A G P 3 ペプチボディ（配列番号 1 2 3 ）もしくはヒト F c タンパク質により、週 3 回 8 週間、腹腔内処理した。アルブスティックス（A l b u s t i x）試薬ストリップ（B a y e r A G）を用いて、実験期間中、毎月、尿中タンパク質を評価した。

【図 1 6 A】好ましい T A L L - 1 結合ペプチボディ（配列番号 1 8 9 及び 1 2 3 ）の核酸配列及びアミノ酸配列を示す。

【図 1 6 B】好ましい T A L L - 1 結合ペプチボディ（配列番号 1 8 9 及び 1 2 3 ）の核酸配列及びアミノ酸配列を示す。

【配列表】

A-743 PCT.ST25.txt
SEQUENCE LISTING

<110> AMGEN INC.

<120> PEPTIDES AND RELATED MOLECULES THAT BIND TO TALL-1

<130> A-743

<140> NOT YET ASSIGNED

<141> 2002-05-13

<150> US 60/290,196

<151> 2001-05-11

<160> 197

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 684

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(684)

<223>

<400> 1

atg gac aaa act cac aca tgt cca cct tgt cca gct ccg gaa ctc ctg	48
Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu	
1 5 10 15	
ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc	96
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu	
20 25 30	
atg atc tcc ccg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc	144
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser	
35 40 45	
cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag	192
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu	
50 55 60	
gtg cat aat gcc aag aca aag ccg ccg gag gag cag tac aac agc acg	240
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr	
65 70 75 80	
tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat	288
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn	
85 90 95	
ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc ctc cca gcc ccc	336
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro	
100 105 110	
atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag	384
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	
115 120 125	
gtg tac acc ctg ccc cca tcc ccg gat gag ctg acc aag aac cag gtc	432
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val	
130 135 140	
agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg	480
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	

10

20

30

40

A-743 PCT.ST25.txt

145	150	155	160	
gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct				528
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro	165	170	175	
ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc				576
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr	180	185	190	
gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg				624
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val	195	200	205	
atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg				672
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu	210	215	220	
tct ccg ggt aaa				684
Ser Pro Gly Lys				
225				

<210> 2
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2

Met Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu	
1 5 10 15	
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu	
20 25 30	
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser	
35 40 45	
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu	
50 55 60	
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr	
65 70 75 80	
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn	
85 90 95	
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro	
100 105 110	
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln	
115 120 125	
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val	
130 135 140	
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val	
145 150 155 160	

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 210 215 220

10

Ser Pro Gly Lys
 225

<210> 3
 <211> 62
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragment

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(61)
 <223>

20

<400> 3
 t atg ccg ggt act tgt ttc ccg ttc ccg tgg gaa tgc act cac gct ggt 49
 Met Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala Gly
 1 5 10 15

gga ggc ggt ggg g 62
 Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 4
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragment

30

<400> 4

Met Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 5
 <211> 62
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

A-743 PCT.ST25.txt

<220>

<223> NdeI to SalI fragment

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(61)

<223>

<400> 5

t atg tgg ggt gct tgt tgg ccg ttc ccg tgg gaa tgt ttc aaa gaa ggt	49
Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly	
1 5 10 15	

gga ggc ggt ggg g	62	10
Gly Gly Gly Gly		
20		

<210> 6

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> NdeI to SalI fragment

<400> 6

Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly
20

<210> 7

<211> 62

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> NdeI to SalI fragments

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(61)

<223>

<400> 7

t atg gtt ccg ttc tgt gac ctg ctg act aaa cac tgt ttc gaa gct ggt	49
Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly	
1 5 10 15	

gga ggc ggt ggg g	62
Gly Gly Gly Gly	
20	

<210> 8

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

10

20

30

40

A-743 PCT.ST25.txt

<223> NdeI to SalI fragments

<400> 8

Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 9

<211> 74

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> NdeI to SalI fragments

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(73)

<223>

<400> 9

t atg ggt tct cgt tgt aaa tac aaa tgg gac gtt ctg act aaa cag tgt 49
 Met Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys
 1 5 10 15

ttc cac cac ggt gga ggc ggt ggg g 74
 Phe His His Gly Gly Gly Gly
 20

20

<210> 10

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> NdeI to SalI fragments

<400> 10

Met Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys
 1 5 10 15

Phe His His Gly Gly Gly Gly
 20

30

<210> 11

<211> 74

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> NdeI to SalI fragments

<220>

<221> CDS

<222> (2)..(73)

<223>

A-743 PCT.ST25.txt

<400> 11
 t atg ctg ccg ggt tgt aaa tgg gac ctg ctg atc aaa cag tgg gtt tgt 49
 Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15
 gac ccg ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
 Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 12
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments
 <400> 12

10

Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15
 Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 13
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments
 <220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(73)
 <223>

20

<400> 13
 t atg tct gct gac tgt tac ttc gac atc ctg act aaa tct gac gtt tgt 49
 Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
 1 5 10 15
 act tct tct ggt gga ggc ggt ggg g 74
 Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly
 20

30

<210> 14
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments
 <400> 14

Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
 1 5 10 15
 Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Gly
 20

40

A-743 PCT.ST25.txt

<210> 15
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(73)
 <223>

<400> 15 10
 t atg tct gac gac tgt atg tac gac cag ctg act cgt atg ttc atc tgt 49
 Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys
 1 5 10 15
 tct aac ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
 Ser Asn Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 16
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

<400> 16 20
 Met Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys
 1 5 10 15
 Ser Asn Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 17
 <211> 76
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(73)
 <223>

<400> 17 30
 t atg gac ctg aac tgt aaa tac gac gaa ctg act tac aaa gaa tgg tgt 49
 Met Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys
 1 5 10 15
 cag ttc aac ggg gtg gag gcg gtg ggg 76
 Gln Phe Asn Gly Val Glu Ala Val
 20

A-743 PCT.ST25.txt

<210> 18
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

<400> 18

Met Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys
 1 5 10 15

Gln Phe Asn Gly Val Glu Ala Val
 20

10

<210> 19
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(73)
 <223>

<400> 19
 t atg ttc cac gac tgt aaa tac gac ctg ctg act cgt cag atg gtt tgt 49
 Met Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys 20
 1 5 10 15

cac ggt ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
 His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 20
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

<400> 20

30

Met Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys
 1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 21
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

A-743 PCT.ST25.txt

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(73)
 <223>

<400> 21
 t atg cgt aac cac tgt ttc tgg gac cac ctg ctg aaa cag gac atc tgt 49
 Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
 1 5 10 15
 ccg tct ccg ggt gga ggc ggt ggg g 74
 Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 22
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments
 <400> 22

Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
 1 5 10 15

Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 23
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(73)
 <223>

<400> 23
 t atg gct aac cag tgt tgg tgg gac tct ctg ctg aaa aaa aac gtt tgt 49
 Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Leu Lys Lys Asn Val Cys
 1 5 10 15
 gaa ttc ttc ggt gga ggc ggt ggg g 74
 Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 24
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

<400> 24

A-743 PCT.ST25.txt

Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Leu Lys Lys Asn Val Cys
 1 5 10 15

Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 25
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

10

<220>
 <221> CDS
 <222> (2)..(73)
 <223>

<400> 25
 t atg ttc cac gac tgc aaa tgg gac ctg ctg acc aaa cag tgg gtt tgc 49
 Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

cac ggt ctg ggt gga ggc ggt ggg g 74
 His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 26
 <211> 24
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> NdeI to SalI fragments

<400> 26

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Gly
 20

<210> 27
 <211> 7285
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> pAMG21-RANK-Fc vector

<400> 27
 gatcagcagt ccccggaaca tcgtagctga cgccttcgcg ttgctcagtt gtccaacccc 60
 ggaaacggga aaaagcaagt ttccccgct cccggcggtt caataactga aaaccatact 120
 atttcacagt ttaaatcaca ttaaagcaca gtaatccccg ttgatttgtg cgccaacaca 180
 gatcttcgtc acaattctca agtcgctgat ttcaaaaaac tgtagtatcc tctgcgaaac 240
 gatccctggt tgagtattga ggaggcgaga tgtcgcagac agaaaatgca gtgacttcct 300

40

A-743 PCT.ST25.txt

cattgagtca aaagcgggttt gtgcgcagag gtaagcctat gactgactct gagaaacaaa	360
tggccgttgt tgcaagaaaa cgtcttacac acaagagat aaaagttttt gtcaaaaatc	420
ctctgaagga tctcatgggt gagtactgcg agagagaggg gataacacag gctcagttcg	480
ttgagaaaaat catcaaagat gaactgcaaa gactggatat actaaagtaa agactttact	540
ttgtggcgta gcatgctaga ttactgatcg ttaaggaat tttgtggctg gccacgccgt	600
aagggtggcaa ggaactgggt ctgatgtgga ttacaggag ccagaaaagc aaaaaccccg	660
ataatcttct tcaacttttg cgagtacgaa aagattaccg gggcccactt aaaccgtata	720
gccacaatt cagctatgcg gggagtatag ttatatgcc ggaaaagttc aagacttctt	780
tctgtgctcg ctcttctgc gcattgtaag tgcaggatgg tgtgactgat cttcaccaaa	840
cgtattaccg ccaggtaaag aaccggaatc cgtgtttac accccgtgaa ggtgcaggaa	900
cgtcgaagtt ctgcgaaaaa ctgatggaaa aggcgggtgg cttcacttcc cgttttgatt	960
tggccattca tgtgggcac gcccgttcgc gtgatctgcg tcgccgtatg ccaccagtgc	1020
tgcgtcgtcg ggctattgat gcgctcttgc aggggctgtg tttccactat gacccgtcg	1080
ccaaccgcgt ccagtgtctc atcaccacgc tggccattga gtgcggactg gcgacggagt	1140
ctgctgccgg aaaactctcc atcaccgcgt ccaccgcgt cctgacgttc ctgtcagagc	1200
tgggactgat tacctaccag acggaatatg acccgcttat cgggtgtctac attccgaccg	1260
atatcacgtt cacatctgca ctgtttgctg cctcgtatgt atcagaggag gcagtgccg	1320
ccgcgcgcgc cagccgtgtg gtatgggaaa acaacaacg caaaaagcag gggctggata	1380
ccctgggcat ggatgaactg atagcgaaag cctggcggtt tgttcgtgag cgttttcgca	1440
gttatcagac agagcttaag tcccgtggaa taaagcgtgc ccgtgcgcgt cgtgatgcgg	1500
acagggaacg tcaggatatt gtcaccctgg tgaacgcga gctgacgcgc gaaatcgccg	1560
aaggcgctt cactgccaat cgtgagcgcg taaaacgcga agttgagcgt cgtgtgaagg	1620
agcgcatgat tctgtcacgt aaccgtaatt acagccggct ggccacagct tccccctgaa	1680
agtgcctcc tctgaataat ccggcctgcg ccggaggctt ccgcacgtct gaagccgcac	1740
agcgacaaaa aaatcagcac cacatacaaa aaacaacctc atcatccagc ttctggtgca	1800
tccggccccc cctgttttcg atacaaaaca cgctcacag acggggaatt ttgcttatcc	1860
acattaaact gcaagggaact tcccataag gttacaaccg ttcattgcat aaagcgccat	1920
ccgccagcgt tacagggtgc aatgtatctt ttaaacacct gtttatatct cctttaaact	1980
acttaattac attcatttaa aaagaaaacc tattcactgc ctgtccttgg acagacagat	2040
atgcacctcc caccgcaagc ggccggcccc taccggagcc gctttagtta caacactcag	2100
acacaaccac cagaaaaacc ccggtccagc gcagaactga aaccacaaag cccctccctc	2160
ataactgaaa agcggccccc ccccggtccg aagggccgga acagagtcgc ttttaattat	2220
gaatgttgta actacttcat catcgctgtc agtcttctcg ctggaagttc tcagtacacg	2280
ctcgtaaagc gccctgacgg ccgcctaacg cggagatacg ccccgacttc gggtaaaccc	2340

10

20

30

40

A-743 PCT.ST25.txt

tctgtcgggac	cactccgacc	gcgcacagaa	gctctctcat	ggctgaaagc	gggtatggtc	2400
tgccaggggt	ggggatgggt	aaggtgaaat	ctatcaatca	gtaccggctt	acgccggggt	2460
tccgggggtt	tactcctgtt	tcataatatga	aacaacaggt	caccgccttc	catgccgctg	2520
atgcggcata	tcctggtaac	gatatctgaa	ttgttatata	tgtgtatata	cgtggtaatg	2580
acaaaaatag	gacaagttaa	aaatttacag	gcgatgcaat	gattcaaaca	cgtaatcaat	2640
atcgggggtg	ggcgaagaac	tccagcatga	gatccccgcg	ctggaggatc	atccagccgg	2700
cgtcccgga	aacgattccg	aagcccaacc	tttcatagaa	ggcggcgggtg	gaatcgaaat	2760
ctcgtgatgg	caggttgggc	gtcgttgggt	cggtcatttc	gaacccaga	gtcccgctca	2820
gaagaactcg	tcaagaaggc	gatagaaggc	gatgcgctgc	gaatcgggag	cggcgatacc	2880
gtaaagcacg	aggaagcggg	cagcccattc	gccgccaaagc	tcttcagcaa	tatcacgggt	2940
agccaacgct	atgtcctgat	agcggtcgcg	cacacccagc	cggccacagt	cgatgaatcc	3000
agaaaagcgg	ccattttcca	ccatgatatt	cggcaagcag	gcacgcocat	gagtcacgac	3060
gagatcctcg	ccgtcgggca	tgcgcgcctt	gagcctggcg	aacagttcgg	ctggcgcgag	3120
ccctgatgc	tcttcgtcca	gatcatcctg	atcgacaaga	ccggcttcca	tccgagtacg	3180
tgtcgcctcg	atgcgatgtt	tgcgttgggt	gtcgaatggg	caggtagccg	gatcaagcgt	3240
atgcagccgc	cgcattgcat	cagccatgat	ggatactttc	tccgcaggag	caaggtgaga	3300
tgacaggaga	tcctgcccgc	gcacttcgcc	caatagcagc	cagtcccttc	ccgcttcagt	3360
gacaacgtcg	agcacagctg	cgcaaggaa	gcccgtcgtg	gccagccacg	atagccgcgc	3420
tgcctcgtcc	tgcaattcat	tcaggacacc	ggacaggctg	gtcttgacaa	aaagaaccgg	3480
gcgcccctgc	gctgacagcc	ggaacacggc	ggcatcagag	cagccgattg	tctgttgtgc	3540
ccagtcatag	ccgaatagcc	tctccaccca	agcggccgga	gaacctgcgt	gcaatccatc	3600
ttgttcaatc	atgcgaaacg	atcctcatcc	tgtctcttga	tctgatcttg	atccctcgcg	3660
ccatcagatc	cttggcggca	agaaagccat	ccagtttact	ttgcaggggt	tcccaacctt	3720
accagagggc	gcccagctg	gcaattccgg	ttcgtcttgc	gtccataaaa	ccgcccagtc	3780
tagctatcgc	catgtaagcc	cactgcaagc	tacctgcttt	ctctttgcgc	ttgcgttttc	3840
ccttgctcag	atagccaggt	agctgacatt	catccggggg	cagcaccggt	tctgcggact	3900
ggctttctac	gtgttccgct	tccttttagca	gcccttgccg	cctgagtgtc	tgcggcagcg	3960
tgaagctaca	tatatgtgat	ccgggcaaat	cgtgaatat	tccttttgtc	tccgaccatc	4020
aggcaactga	gtcgtgtgtc	ttttcgtgac	attcagttcg	ctgcgtcac	ggctctggca	4080
gtgaatgggg	gtaaatggca	ctacaggcgc	cttttatgga	ttcatgcaag	gaaactaccc	4140
ataatacaag	aaaagcccg	cacgggcttc	tcagggcgtt	ttatggcggg	tctgctatgt	4200
ggtgctatct	gactttttgc	tgttcagcag	ttcctgcctt	ctgattttcc	agtctgacca	4260
cttcggatta	tcccgtgaca	ggtcattcag	actggcta	gtacccagta	aggcagcgg	4320
atcatcaaca	ggcttaccgc	tcttactgtc	gaagacgtgc	gtaacgtatg	catggctctc	4380

10

20

30

40

A-743 PCT.ST25.txt

ccatgcgaga gtaggggaact gccaggcatc aaataaaaacg aaaggctcag tcgaaagact 4440
 gggcccttctg ttttatctgt tgtttgtcgg tgaacgctct cctgagtagg acaaatccgc 4500
 cgggagcgga tttgaacggt gcgaagcaac ggcccggagg gtggcgggca ggacgccgc 4560
 cataaactgc caggcatcaa attaagcaga aggccatcct gacggatggc ctttttgcgt 4620
 ttctacaaac tcttttgggt atttttctaa atacattcaa atatggacgt cgtacttaac 4680
 ttttaaagta tgggcaatca attgctcctg ttaaaattgc tttagaata ctttggcagc 4740
 ggtttgttgt attgagtttc atttgcgcct tgggttaaag gaaagtgacc gtgcgcttac 4800
 tacagcctaa tatttttgaa atatcccaag agcttttttc ttcgcctgcc cagcctaaac 4860
 attcttttct tcttttgggt aaatcgttgt ttgatttatt atttgcctata tttatttttc 4920
 gataattatc aactagagaa ggaacaatta atgggtatgt catcacgca tgtaaaaata 4980
 aactatctat atagttgtct ttctctgaat gtgcaaaact aagcattccg aagccattat 5040
 tagcagtatg aatagggaaa ctaaaccagc tgataagacc tgatgatttc gcttctttaa 5100
 ttacatttgg agatttttta ttacagcat tgttttcaa tatattccaa ttaatcgggtg 5160
 aatgatttga gttagaataa tctactatag gatcatattt tattaaatta gcgtcatcat 5220
 aatattgcct ccatttttta gggtaattat ccagaattga aatatcagat ttaaccatag 5280
 aatgaggata aatgatcgcg agtaaataat attcacaatg taccatttta gtcatatcag 5340
 ataagcattg attaatatca ttattgcttc tacaggcttt aattttatta attattctgt 5400
 aagtgtcgtc ggcatttatg tctttcatac ccattctttt atccttacct attgtttgtc 5460
 gcaagttttg cgtgttatat atcattaaaa cggtaataga ttgacatttg attctaataa 5520
 attggatttt tgtcacacta ttatatcgct tgaaatacaa ttgtttaaca taagtaacctg 5580
 taggatcgta caggtttacg caagaaaatg gtttgttata gtcgattaat cgatttgatt 5640
 ctgattttgt tttaactaat taaaggagga ataacatatg atcgctccac catgcaccag 5700
 tgagaagcat tatgagcatc tgggacgggt ctgtaacaaa tgtgaaccag gaaagtacat 5760
 gtcttctaaa tgcactacta cctctgacag tgtatgtctg ccctgtggcc cggatgaata 5820
 cttggatagc tggaatgaag aagataaatg cttgctgcat aaagtittgt atacaggcaa 5880
 ggccttggtg gccgtgggtc cgggcaacag tacgaccccc cggcgctgcg cgtgcacggc 5940
 tgggtaccac tggagccagg actgcgagtg ctgccgccgc aacaccgagt gcgcgccggg 6000
 cctgggcgcc cagcaccctg tgcagctcaa caaggacaca gtgtgcaaac cttgccttgc 6060
 aggtacttct tctgatgcct ttctctccac ggacaaatgc agaccctgga ccaactgtac 6120
 ctctcttggg aagagagtag aacatcatgg gacagagaaa tccgatgtgg tttgcagttc 6180
 ttctctgcca gctagaaaac caccaaatga accccatgtt tacgtcgaca aaactcacac 6240
 atgtccacct tgtccagctc cggaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc 6300
 aaaacccaag gacacccctc tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtggtgga 6360
 cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca 6420

10

20

30

40

A-743 PCT.ST25.txt

taatgccaaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt 6480
 cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa 6540
 caaagccctc ccagccccc aagagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga 6600
 accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct 6660
 gacctgacctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg 6720
 gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt 6780
 cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg 6840
 ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct cctgtctctc 6900
 gggtaaataa tggatccgcg gaaagaagaa gaagaagaag aaagcccgaa aggaagctga 6960
 gttggctgct gccaccgctg agcaataact agcataaccc cttggggcct ctaaaccgggt 7020
 cttgaggggt tttttgctga aaggaggaac cgtctttcac gctcttcacg cggataaata 7080
 agtaacgacg cggtcagta atgacctcag aactccatct ggatttggtc agaacgctcg 7140
 gttgccgcgc ggctgttttt attggtgaga atcgcagcaa cttgtcgcgc caatcgagcc 7200
 atgtcgtcgt caacgacccc ccattcaaga acagcaagca gcattgagaa ctttgggaatc 7260
 cagtcctctt tccacctgct gaccg 7285

10

<210> 28
 <211> 7285
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> pAMG21-RANK-Fc vector

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Xaa (Pos1,2,3,15,16,17) are each independently absent or amino acid residues;
 Xaa (Pos5,6,7,9,13) are each independently amino acid residues.

<400> 28

Gly Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Cys Cys Cys Cys Gly Gly
 1 5 10 15

30

Ala Ala Cys Ala Thr Cys Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Gly
 20 25 30

Cys Cys Thr Thr Cys Gly Cys Gly Thr Thr Gly Cys Thr Cys Ala Gly
 35 40 45

Thr Thr Gly Thr Cys Cys Ala Ala Cys Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala
 50 55 60

Ala Cys Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Gly Thr
 65 70 75 80

A-743 PCT.ST25.txt

Thr Thr Thr Cys Cys Cys Cys Gly Cys Thr Cys Cys Cys Gly Gly Cys
 85 90 95
 Gly Thr Thr Thr Cys Ala Ala Thr Ala Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala
 100 105 110
 Ala Cys Cys Ala Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Ala
 115 120 125
 Gly Thr Thr Thr Ala Ala Ala Thr Cys Ala Cys Ala Thr Thr Ala Ala
 130 135 140
 Ala Cys Gly Ala Cys Ala Gly Thr Ala Ala Thr Cys Cys Cys Cys Gly
 145 150 155 160
 Thr Thr Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr Gly Cys Gly Cys Cys Ala Ala
 165 170 175
 Cys Ala Cys Ala Gly Ala Thr Cys Thr Thr Cys Gly Thr Cys Ala Cys
 180 185 190
 Ala Ala Thr Thr Cys Thr Cys Ala Ala Gly Thr Cys Gly Cys Thr Gly
 195 200 205
 Ala Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Ala Ala Cys Thr Gly Thr Ala
 210 215 220
 Gly Thr Ala Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Cys Gly Ala Ala Ala Cys
 225 230 235 240
 Gly Ala Thr Cys Cys Cys Thr Gly Thr Thr Thr Gly Ala Gly Thr Ala
 245 250 255
 Thr Thr Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Cys Gly Ala Gly Ala Thr Gly
 260 265 270
 Thr Cys Gly Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Gly
 275 280 285
 Cys Ala Gly Thr Gly Ala Cys Thr Thr Cys Cys Thr Cys Ala Thr Thr
 290 295 300
 Gly Ala Gly Thr Cys Ala Ala Ala Ala Gly Cys Gly Gly Thr Thr Thr
 305 310 315 320
 Gly Thr Gly Cys Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Thr Ala Ala Gly Cys
 325 330 335
 Cys Thr Ala Thr Gly Ala Cys Thr Gly Ala Cys Thr Cys Thr Gly Ala
 340 345 350

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Gly Ala Ala Ala Cys Ala Ala Ala Thr Gly Gly Cys Cys Gly Thr Thr
 355 360 365
 Gly Thr Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Cys Gly Thr Cys
 370 375 380
 Thr Thr Ala Cys Ala Cys Ala Cys Ala Ala Gly Ala Gly Ala Thr
 385 390 395 400
 Ala Ala Ala Ala Gly Thr Thr Thr Thr Gly Thr Cys Ala Ala Ala
 405 410 415
 Ala Ala Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Gly Gly Ala Thr Cys
 420 425 430
 Thr Cys Ala Thr Gly Gly Thr Thr Gly Ala Gly Thr Ala Cys Thr Gly
 435 440 445
 Cys Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Gly Gly Ala Thr Ala
 450 455 460
 Ala Cys Ala Cys Ala Gly Gly Cys Thr Cys Ala Gly Thr Thr Cys Gly
 465 470 475 480
 Thr Thr Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Cys Ala Thr Cys Ala Ala
 485 490 495
 Ala Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Ala Gly Ala
 500 505 510
 Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala Thr Ala Cys Thr Ala Ala Ala Gly Thr
 515 520 525
 Ala Ala Ala Gly Ala Cys Thr Thr Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Thr
 530 535 540
 Gly Gly Cys Gly Thr Ala Gly Cys Ala Thr Gly Cys Thr Ala Gly Ala
 545 550 555 560
 Thr Thr Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Gly Thr Thr Thr Ala Ala Gly
 565 570 575
 Gly Ala Ala Thr Thr Thr Thr Gly Thr Gly Gly Cys Thr Gly Gly Cys
 580 585 590
 Cys Ala Cys Gly Cys Cys Gly Thr Ala Ala Gly Gly Thr Gly Gly Cys
 595 600 605
 Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Thr Gly Gly Thr Thr Cys Thr Gly Ala
 610 615 620

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Thr Gly Thr Gly Gly Ala Thr Thr Thr Ala Cys Ala Gly Gly Ala Gly
 625 630 635 640
 Cys Cys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Cys Ala Ala Ala Ala Cys
 645 650 655
 Cys Cys Cys Gly Ala Thr Ala Ala Thr Cys Thr Thr Cys Thr Thr Cys
 660 665 670
 Ala Ala Cys Thr Thr Thr Thr Gly Cys Gly Ala Gly Thr Ala Cys Gly
 675 680 685
 Ala Ala Ala Ala Gly Ala Thr Thr Ala Cys Cys Gly Gly Gly Gly Cys
 690 695 700
 Cys Cys Ala Cys Thr Thr Ala Ala Ala Cys Cys Gly Thr Ala Thr Ala
 705 710 715 720
 Gly Cys Cys Ala Ala Cys Ala Ala Thr Thr Cys Ala Gly Cys Thr Ala
 725 730 735
 Thr Gly Cys Gly Gly Gly Gly Ala Gly Thr Ala Thr Ala Gly Thr Thr
 740 745 750
 Ala Thr Ala Thr Gly Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Gly Thr
 755 760 765
 Thr Cys Ala Ala Gly Ala Cys Thr Thr Cys Thr Thr Thr Cys Thr Gly
 770 775 780
 Thr Gly Cys Thr Cys Gly Cys Thr Cys Cys Thr Thr Cys Thr Gly Cys
 785 790 795 800
 Gly Cys Ala Thr Thr Gly Thr Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly
 805 810 815
 Ala Thr Gly Gly Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr
 820 825 830
 Thr Cys Ala Cys Cys Ala Ala Ala Cys Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys
 835 840 845
 Cys Gly Cys Cys Ala Gly Gly Thr Ala Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys
 850 855 860
 Cys Gly Ala Ala Thr Cys Cys Gly Gly Thr Gly Thr Thr Thr Ala Cys
 865 870 875 880
 Ala Cys Cys Cys Cys Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala
 885 890 895

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Gly Gly Ala Ala Cys Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Thr Thr Cys Thr
 900 905 910
 Gly Cys Gly Ala Ala Ala Ala Cys Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ala
 915 920 925
 Ala Ala Ala Gly Gly Cys Gly Gly Thr Gly Gly Gly Cys Thr Thr Cys
 930 935 940
 Ala Cys Thr Thr Cys Cys Cys Gly Thr Thr Thr Thr Gly Ala Thr Thr
 945 950 955 960
 Thr Cys Gly Cys Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr Gly Thr Gly Gly Cys
 965 970 975
 Gly Cys Ala Cys Gly Cys Cys Cys Gly Thr Thr Cys Gly Cys Gly Thr
 980 985 990
 Gly Ala Thr Cys Thr Gly Cys Gly Thr Cys Gly Cys Cys Gly Thr Ala
 995 1000 1005
 Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Thr Gly Cys Thr Gly Cys
 1010 1015 1020
 Gly Thr Cys Gly Thr Cys Gly Gly Gly Cys Thr Ala Thr Thr Gly
 1025 1030 1035
 Ala Thr Gly Cys Gly Cys Thr Cys Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly
 1040 1045 1050
 Gly Gly Cys Thr Gly Thr Gly Thr Thr Thr Cys Cys Ala Cys Thr
 1055 1060 1065
 Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys Gly Cys Thr Gly Gly Cys Cys Ala
 1070 1075 1080
 Ala Cys Cys Gly Cys Gly Thr Cys Cys Ala Gly Thr Gly Cys Thr
 1085 1090 1095
 Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Cys Ala Cys Gly Cys Thr Gly Gly
 1100 1105 1110
 Cys Cys Ala Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Cys Gly Gly Ala Cys
 1115 1120 1125
 Thr Gly Gly Cys Gly Ala Cys Gly Gly Ala Gly Thr Cys Thr Gly
 1130 1135 1140
 Cys Thr Gly Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr
 1145 1150 1155

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Cys Ala
 1160 1165 1170
 Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys Gly Thr
 1175 1180 1185
 Thr Cys Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Ala Gly Cys Thr Gly Gly
 1190 1195 1200
 Gly Ala Cys Thr Gly Ala Thr Thr Ala Cys Cys Thr Ala Cys Cys
 1205 1210 1215
 Ala Gly Ala Cys Gly Gly Ala Ala Thr Ala Thr Gly Ala Cys Cys
 1220 1225 1230
 Cys Gly Cys Thr Thr Ala Thr Cys Gly Gly Gly Thr Gly Cys Thr
 1235 1240 1245
 Ala Cys Ala Thr Thr Cys Cys Gly Ala Cys Cys Gly Ala Thr Ala
 1250 1255 1260
 Thr Cys Ala Cys Gly Thr Thr Cys Ala Cys Ala Thr Cys Thr Gly
 1265 1270 1275
 Cys Ala Cys Thr Gly Thr Thr Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Cys
 1280 1285 1290
 Thr Cys Gly Ala Thr Gly Thr Ala Thr Cys Ala Gly Ala Gly Gly
 1295 1300 1305
 Ala Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly
 1310 1315 1320
 Cys Gly Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Thr Gly
 1325 1330 1335
 Thr Gly Gly Thr Ala Thr Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Ala
 1340 1345 1350
 Ala Ala Cys Ala Ala Cys Gly Cys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Cys
 1355 1360 1365
 Ala Gly Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala Cys Cys Cys
 1370 1375 1380
 Thr Gly Gly Gly Cys Ala Thr Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Cys
 1385 1390 1395
 Thr Gly Ala Thr Ala Gly Cys Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Thr
 1400 1405 1410

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Gly Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr Gly Thr Thr Cys Gly Thr Gly
 1415 1420 1425
 Ala Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr Cys Gly Cys Ala Gly Thr Thr
 1430 1435 1440
 Ala Thr Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Gly Cys Thr Thr Ala
 1445 1450 1455
 Ala Gly Thr Cys Cys Cys Gly Thr Gly Gly Ala Ala Thr Ala Ala
 1460 1465 1470
 Ala Gly Cys Gly Thr Gly Cys Cys Cys Gly Thr Gly Cys Gly Cys
 1475 1480 1485
 Gly Thr Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Cys Gly Gly Ala Cys Ala
 1490 1495 1500
 Gly Gly Gly Ala Ala Cys Gly Thr Cys Ala Gly Gly Ala Thr Ala
 1505 1510 1515
 Thr Thr Gly Thr Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Ala
 1520 1525 1530
 Ala Ala Cys Gly Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Gly Cys
 1535 1540 1545
 Gly Cys Gly Ala Ala Ala Thr Cys Gly Cys Gly Gly Ala Ala Gly
 1550 1555 1560
 Gly Gly Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Cys Cys Ala
 1565 1570 1575
 Ala Thr Cys Gly Thr Gly Ala Gly Gly Cys Gly Gly Thr Ala Ala
 1580 1585 1590
 Ala Ala Cys Gly Cys Gly Ala Ala Gly Thr Thr Gly Ala Gly Cys
 1595 1600 1605
 Gly Thr Cys Gly Thr Gly Thr Gly Ala Ala Gly Gly Ala Gly Cys
 1610 1615 1620
 Gly Cys Ala Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr Gly Thr Cys Ala Cys
 1625 1630 1635
 Gly Thr Ala Ala Cys Cys Gly Thr Ala Ala Thr Thr Ala Cys Ala
 1640 1645 1650
 Gly Cys Cys Gly Gly Cys Thr Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala Gly
 1655 1660 1665

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Gly Thr
 1670 1675 1680
 Gly Ala Cys Cys Thr Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Thr Ala
 1685 1690
 Ala Thr Cys Cys Gly Gly Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Cys Gly
 1700 1705 1710
 Gly Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys Cys Gly Cys Ala Cys Gly Thr
 1715 1720 1725
 Cys Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Gly Ala Cys Ala Gly Cys
 1730 1735 1740
 Gly Cys Ala Cys Ala Ala Ala Ala Ala Ala Thr Cys Ala Gly Cys
 1745 1750 1755
 Ala Cys Cys Ala Cys Ala Thr Ala Cys Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 1760 1765 1770
 Cys Ala Ala Cys Cys Thr Cys Ala Thr Cys Ala Thr Cys Cys Ala
 1775 1780 1785
 Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Thr Gly Cys Ala Thr Cys Cys
 1790 1795 1800
 Gly Gly Cys Cys Cys Cys Cys Cys Cys Thr Gly Thr Thr Thr Thr
 1805 1810 1815
 Cys Gly Ala Thr Ala Cys Ala Ala Ala Ala Cys Ala Cys Gly Cys
 1820 1825 1830
 Cys Thr Cys Ala Cys Ala Gly Ala Cys Gly Gly Gly Gly Ala Ala
 1835 1840 1845
 Thr Thr Thr Thr Gly Cys Thr Thr Ala Thr Cys Cys Ala Cys Ala
 1850 1855 1860
 Thr Thr Ala Ala Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala
 1865 1870 1875
 Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Ala Thr Ala Ala Gly Gly Thr Thr
 1880 1885 1890
 Ala Cys Ala Ala Cys Cys Gly Thr Thr Cys Ala Thr Gly Thr Cys
 1895 1900 1905
 Ala Thr Ala Ala Ala Gly Cys Gly Cys Cys Ala Thr Cys Cys Gly
 1910 1915 1920

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Cys Cys Ala Gly Cys Gly Thr Thr Ala Cys Ala Gly Gly Gly Thr
 1925 1930 1935
 Gly Cys Ala Ala Thr Gly Thr Ala Thr Cys Thr Thr Thr Thr Ala
 1940 1945 1950
 Ala Ala Cys Ala Cys Cys Thr Gly Thr Thr Thr Ala Thr Ala Thr
 1955 1960 1965
 Cys Thr Cys Cys Thr Thr Thr Ala Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr
 1970 1975 1980
 Thr Ala Ala Thr Thr Ala Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr Thr Thr
 1985 1990 1995
 Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Cys Cys Thr Ala Thr
 2000 2005 2010
 Thr Cys Ala Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Thr Cys Cys Thr Thr
 2015 2020 2025
 Gly Gly Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Gly Ala Thr Ala Thr Gly
 2030 2035 2040
 Cys Ala Cys Cys Thr Cys Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys Ala Ala
 2045 2050 2055
 Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly Gly Cys Cys Cys Cys Thr Ala Cys
 2060 2065 2070
 Cys Gly Gly Ala Gly Cys Cys Gly Cys Thr Thr Thr Ala Gly Thr
 2075 2080 2085
 Thr Ala Cys Ala Ala Cys Ala Cys Thr Cys Ala Gly Ala Cys Ala
 2090 2095 2100
 Cys Ala Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
 2105 2110 2115
 Cys Cys Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys Gly Cys Ala
 2120 2125 2130
 Gly Ala Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Cys Ala Ala
 2135 2140 2145
 Ala Gly Cys Cys Cys Cys Thr Cys Cys Cys Thr Cys Ala Thr Ala
 2150 2155 2160
 Ala Cys Thr Gly Ala Ala Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Cys
 2165 2170 2175

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Cys Gly Cys Cys Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly Ala Ala Gly
 2180 2185 2190
 Gly Gly Cys Cys Gly Gly Ala Ala Cys Ala Gly Ala Gly Thr Cys
 2195 2200 2205
 Gly Cys Thr Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Ala Thr Gly Ala Ala
 2210 2215 2220
 Thr Gly Thr Thr Gly Thr Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr Thr Cys
 2225 2230 2235
 Ala Thr Cys Ala Thr Cys Gly Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Thr
 2240 2245 2250
 Cys Thr Thr Cys Thr Cys Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Gly Thr
 2255 2260 2265
 Thr Cys Thr Cys Ala Gly Thr Ala Cys Ala Cys Gly Cys Thr Cys
 2270 2275 2280
 Gly Thr Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys
 2285 2290 2295
 Gly Gly Cys Cys Cys Gly Cys Thr Ala Ala Cys Gly Cys Gly Gly
 2300 2305 2310
 Ala Gly Ala Thr Ala Cys Gly Cys Cys Cys Cys Gly Ala Cys Thr
 2315 2320 2325
 Thr Cys Gly Gly Gly Thr Ala Ala Ala Cys Cys Cys Thr Cys Gly
 2330 2335 2340
 Thr Cys Gly Gly Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala
 2345 2350 2355
 Cys Cys Gly Cys Gly Cys Ala Cys Ala Gly Ala Ala Gly Cys Thr
 2360 2365 2370
 Cys Thr Cys Thr Cys Ala Thr Gly Gly Cys Thr Gly Ala Ala Ala
 2375 2380 2385
 Gly Cys Gly Gly Gly Thr Ala Thr Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly
 2390 2395 2400
 Cys Ala Gly Gly Gly Cys Thr Gly Gly Gly Gly Ala Thr Gly Gly
 2405 2410 2415
 Gly Thr Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Ala Ala Thr Cys Thr Ala
 2420 2425 2430

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Thr Cys Ala Ala Thr Cys Ala Gly Thr Ala Cys Cys Gly Gly Cys
 2435 2440 2445
 Thr Thr Ala Cys Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Thr Thr Cys Gly
 2450 2455 2460
 Gly Cys Gly Gly Thr Thr Thr Thr Ala Cys Thr Cys Cys Thr Gly
 2465 2470 2475
 Thr Thr Thr Cys Ala Thr Ala Thr Ala Thr Gly Ala Ala Ala Cys
 2480 2485 2490
 Ala Ala Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Cys Cys Thr
 2495 2500 2505
 Thr Cys Cys Ala Thr Gly Cys Cys Gly Cys Thr Gly Ala Thr Gly
 2510 2515 2520
 Cys Gly Gly Cys Ala Thr Ala Thr Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala
 2525 2530 2535
 Ala Cys Gly Ala Thr Ala Thr Cys Thr Gly Ala Ala Thr Thr Gly
 2540 2545 2550
 Thr Thr Ala Thr Ala Cys Ala Thr Gly Thr Gly Thr Ala Thr Ala
 2555 2560 2565
 Thr Ala Cys Gly Thr Gly Gly Thr Ala Ala Thr Gly Ala Cys Ala
 2570 2575 2580
 Ala Ala Ala Ala Thr Ala Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Thr Thr
 2585 2590 2595
 Ala Ala Ala Ala Ala Thr Thr Thr Ala Cys Ala Gly Gly Cys Gly
 2600 2605 2610
 Ala Thr Gly Cys Ala Ala Thr Gly Ala Thr Thr Cys Ala Ala Ala
 2615 2620 2625
 Cys Ala Cys Gly Thr Ala Ala Thr Cys Ala Ala Thr Ala Thr Cys
 2630 2635 2640
 Gly Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Cys Gly Ala Ala Gly Ala
 2645 2650 2655
 Ala Cys Thr Cys Cys Ala Gly Cys Ala Thr Gly Ala Gly Ala Thr
 2660 2665 2670
 Cys Cys Cys Cys Gly Cys Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Ala
 2675 2680 2685

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Thr Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Cys Gly Thr
 2690 2695 2700
 Cys Cys Cys Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys Gly Ala Thr Thr Cys
 2705 2710 2715
 Cys Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Thr Thr
 2720 2725 2730
 Cys Ala Thr Ala Gly Ala Ala Gly Gly Cys Gly Gly Cys Gly Gly
 2735 2740 2745
 Thr Gly Gly Ala Ala Thr Cys Gly Ala Ala Ala Thr Cys Thr Cys
 2750 2755 2760
 Gly Thr Gly Ala Thr Gly Gly Cys Ala Gly Gly Thr Thr Gly Gly
 2765 2770 2775
 Gly Cys Gly Thr Cys Gly Cys Thr Thr Gly Gly Thr Cys Gly Gly
 2780 2785 2790
 Thr Cys Ala Thr Thr Thr Cys Gly Ala Ala Cys Cys Cys Cys Ala
 2795 2800 2805
 Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys Gly Cys Thr Cys Ala Gly Ala Ala
 2810 2815 2820
 Gly Ala Ala Cys Thr Cys Gly Thr Cys Ala Ala Gly Ala Ala Gly
 2825 2830 2835
 Gly Cys Gly Ala Thr Ala Gly Ala Ala Gly Gly Cys Gly Ala Thr
 2840 2845 2850
 Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys Gly Ala Ala Thr Cys Gly Gly Gly
 2855 2860 2865
 Ala Gly Cys Gly Gly Cys Gly Ala Thr Ala Cys Cys Gly Thr Ala
 2870 2875 2880
 Ala Ala Gly Cys Ala Cys Gly Ala Gly Gly Ala Ala Gly Cys Gly
 2885 2890 2895
 Gly Thr Cys Ala Gly Cys Cys Cys Ala Thr Thr Cys Gly Cys Cys
 2900 2905 2910
 Gly Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Cys Thr Thr Cys Ala Gly Cys
 2915 2920 2925
 Ala Ala Thr Ala Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Thr Ala Gly Cys
 2930 2935 2940

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Cys Ala Ala Cys Gly Cys Thr Ala Thr Gly Thr Cys Cys Thr Gly
 2945 2950 2955
 Ala Thr Ala Gly Cys Gly Gly Thr Cys Cys Gly Cys Cys Ala Cys
 2960 2965 2970
 Ala Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala
 2975 2980 2985
 Gly Thr Cys Gly Ala Thr Gly Ala Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala
 2990 2995 3000
 Ala Ala Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Ala Thr Thr Thr Thr Cys
 3005 3010 3015
 Cys Ala Cys Cys Ala Thr Gly Ala Thr Ala Thr Thr Cys Gly Gly
 3020 3025 3030
 Cys Ala Ala Gly Cys Ala Gly Gly Cys Ala Thr Cys Gly Cys Cys
 3035 3040 3045
 Ala Thr Gly Ala Gly Thr Cys Ala Cys Gly Ala Cys Gly Ala Gly
 3050 3055 3060
 Ala Thr Cys Cys Thr Cys Gly Cys Cys Gly Thr Cys Gly Gly Gly
 3065 3070 3075
 Cys Ala Thr Gly Cys Gly Cys Gly Cys Cys Thr Thr Gly Ala Gly
 3080 3085 3090
 Cys Cys Thr Gly Gly Cys Gly Ala Ala Cys Ala Gly Thr Thr Cys
 3095 3100 3105
 Gly Gly Cys Thr Gly Gly Cys Gly Cys Gly Ala Gly Cys Cys Cys
 3110 3115 3120
 Cys Thr Gly Ala Thr Gly Cys Thr Cys Thr Thr Cys Gly Thr Cys
 3125 3130 3135
 Cys Ala Gly Ala Thr Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys
 3140 3145 3150
 Gly Ala Cys Ala Ala Gly Ala Cys Cys Gly Gly Cys Thr Thr Cys
 3155 3160 3165
 Cys Ala Thr Cys Cys Gly Ala Gly Thr Ala Cys Gly Thr Gly Cys
 3170 3175 3180
 Thr Cys Gly Cys Thr Cys Gly Ala Thr Gly Cys Gly Ala Thr Gly
 3185 3190 3195

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Thr Thr Thr Cys Gly Cys Thr Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Cys
 3200 3205 3210
 Gly Ala Ala Thr Gly Gly Gly Cys Ala Gly Gly Thr Ala Gly Cys
 3215 3220 3225
 Cys Gly Gly Ala Thr Cys Ala Ala Gly Cys Gly Thr Ala Thr Gly
 3230 3235 3240
 Cys Ala Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Thr Thr Gly Cys
 3245 3250 3255
 Ala Thr Cys Ala Gly Cys Cys Ala Thr Gly Ala Thr Gly Gly Ala
 3260 3265 3270
 Thr Ala Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Gly Gly Cys Ala Gly Gly
 3275 3280 3285
 Ala Gly Cys Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Gly Ala Thr Gly Ala
 3290 3295 3300
 Cys Ala Gly Gly Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys
 3305 3310 3315
 Cys Gly Gly Cys Ala Cys Thr Thr Cys Gly Cys Cys Cys Ala Ala
 3320 3325 3330
 Thr Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Cys Cys Thr
 3335 3340 3345
 Thr Cys Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Cys
 3350 3355 3360
 Ala Ala Cys Gly Thr Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys
 3365 3370 3375
 Thr Gly Cys Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Gly Cys Cys
 3380 3385 3390
 Cys Gly Thr Cys Gly Thr Gly Gly Cys Cys Ala Gly Cys Cys Ala
 3395 3400 3405
 Cys Gly Ala Thr Ala Gly Cys Cys Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys
 3410 3415 3420
 Cys Thr Cys Gly Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Thr Thr Cys
 3425 3430 3435
 Ala Thr Thr Cys Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Gly Gly Ala
 3440 3445 3450

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Cys Ala Gly Gly Thr Cys Gly Gly Thr Cys Thr Thr Gly Ala Cys
 3455 3460 3465
 Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly
 3470 3475 3480
 Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Thr Gly Ala Cys Ala Gly
 3485 3490 3495
 Cys Cys Gly Gly Ala Ala Cys Ala Cys Gly Gly Cys Gly Gly Cys
 3500 3505 3510
 Ala Thr Cys Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Gly Ala Thr
 3515 3520 3525
 Thr Gly Thr Cys Thr Gly Thr Thr Gly Thr Gly Cys Cys Cys Ala
 3530 3535 3540
 Gly Thr Cys Ala Thr Ala Gly Cys Cys Gly Ala Ala Thr Ala Gly
 3545 3550 3555
 Cys Cys Thr Cys Thr Cys Cys Ala Cys Cys Cys Ala Ala Gly Cys
 3560 3565 3570
 Gly Gly Cys Cys Gly Gly Ala Gly Ala Ala Cys Cys Thr Gly Cys
 3575 3580 3585
 Gly Thr Gly Cys Ala Ala Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Thr Gly
 3590 3595 3600
 Thr Thr Cys Ala Ala Thr Cys Ala Thr Gly Cys Gly Ala Ala Ala
 3605 3610 3615
 Cys Gly Ala Thr Cys Cys Thr Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Thr
 3620 3625 3630
 Cys Thr Cys Thr Thr Gly Ala Thr Cys Thr Gly Ala Thr Cys Thr
 3635 3640 3645
 Thr Gly Ala Thr Cys Cys Cys Cys Thr Gly Cys Gly Cys Cys Ala
 3650 3655 3660
 Thr Cys Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Thr Gly Gly Cys Gly Gly
 3665 3670 3675
 Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Ala Thr Cys Cys Ala
 3680 3685 3690
 Gly Thr Thr Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly
 3695 3700 3705

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Cys Thr Thr Cys Cys Cys Ala Ala Cys Cys Thr Thr Ala Cys Cys
 3710 3715 3720
 Ala Gly Ala Gly Gly Gly Cys Gly Cys Cys Cys Cys Ala Gly Cys
 3725 3730 3735
 Thr Gly Gly Cys Ala Ala Thr Thr Cys Cys Gly Gly Thr Thr Cys
 3740 3745 3750
 Gly Cys Thr Thr Gly Cys Thr Gly Thr Cys Cys Ala Thr Ala Ala
 3755 3760 3765
 Ala Ala Cys Cys Gly Cys Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Ala Gly
 3770 3775 3780
 Cys Thr Ala Thr Cys Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Ala Gly
 3785 3790 3795
 Cys Cys Cys Ala Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Cys Thr Ala Cys
 3800 3805 3810
 Cys Thr Gly Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr Thr Thr Gly Cys
 3815 3820 3825
 Gly Cys Thr Thr Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr Cys Cys Cys Thr
 3830 3835 3840
 Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Ala Gly Cys Cys Cys Ala
 3845 3850 3855
 Gly Thr Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Ala Thr Thr Cys Ala Thr
 3860 3865 3870
 Cys Cys Gly Gly Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Cys Cys Gly
 3875 3880 3885
 Thr Thr Thr Cys Thr Gly Cys Gly Gly Ala Cys Thr Gly Gly Cys
 3890 3895 3900
 Thr Thr Thr Cys Thr Ala Cys Gly Thr Gly Thr Thr Cys Cys Gly
 3905 3910 3915
 Cys Thr Thr Cys Cys Thr Thr Thr Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys
 3920 3925 3930
 Cys Thr Thr Gly Cys Gly Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Thr Gly
 3935 3940 3945
 Cys Thr Thr Gly Cys Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Thr Gly Ala
 3950 3955 3960

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Ala Gly Cys Thr Ala Cys Ala Thr Ala Thr Ala Thr Gly Thr Gly
 3965 3970 3975
 Ala Thr Cys Cys Gly Gly Gly Cys Ala Ala Ala Thr Cys Gly Cys
 3980 3985 3990
 Thr Gly Ala Ala Thr Ala Thr Thr Cys Cys Thr Thr Thr Thr Gly
 3995 4000 4005
 Thr Cys Thr Cys Cys Gly Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Gly
 4010 4015 4020
 Cys Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Thr Cys Gly Cys Thr Gly Thr
 4025 4030 4035
 Cys Thr Thr Thr Thr Thr Cys Gly Thr Gly Ala Cys Ala Thr Thr
 4040 4045 4050
 Cys Ala Gly Thr Thr Cys Gly Cys Thr Gly Cys Gly Cys Thr Cys
 4055 4060 4065
 Ala Cys Gly Gly Cys Thr Cys Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly
 4070 4075 4080
 Ala Ala Thr Gly Gly Gly Gly Gly Thr Ala Ala Ala Thr Gly Gly
 4085 4090 4095
 Cys Ala Cys Thr Ala Cys Ala Gly Gly Cys Gly Cys Cys Thr Thr
 4100 4105 4110
 Thr Thr Ala Thr Gly Gly Ala Thr Thr Cys Ala Thr Gly Cys Ala
 4115 4120 4125
 Ala Gly Gly Ala Ala Ala Cys Thr Ala Cys Cys Cys Ala Thr Ala
 4130 4135 4140
 Ala Thr Ala Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys
 4145 4150 4155
 Gly Thr Cys Ala Cys Gly Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Cys Ala
 4160 4165 4170
 Gly Gly Gly Cys Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Gly Gly Cys Gly
 4175 4180 4185
 Gly Gly Thr Cys Thr Gly Cys Thr Ala Thr Gly Thr Gly Gly Thr
 4190 4195 4200
 Gly Cys Thr Ala Thr Cys Thr Gly Ala Cys Thr Thr Thr Thr Thr
 4205 4210 4215

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Gly Cys Thr Gly Thr Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Thr Cys
 4220 4225 4230
 Cys Thr Gly Cys Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Thr Thr Thr Thr
 4235 4240 4245
 Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Gly Ala Cys Cys Ala Cys Thr Thr
 4250 4255 4260
 Cys Gly Gly Ala Thr Thr Ala Thr Cys Cys Cys Gly Thr Gly Ala
 4265 4270 4275
 Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Thr Thr Cys Ala Gly Ala Cys Thr
 4280 4285 4290
 Gly Gly Cys Thr Ala Ala Thr Gly Cys Ala Cys Cys Cys Ala Gly
 4295 4300 4305
 Thr Ala Ala Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Gly Thr Ala Thr Cys
 4310 4315 4320
 Ala Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly Gly Cys Thr Thr Ala Cys Cys
 4325 4330 4335
 Cys Gly Thr Cys Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Gly Ala Ala
 4340 4345 4350
 Gly Ala Cys Gly Thr Gly Cys Gly Thr Ala Ala Cys Gly Thr Ala
 4355 4360 4365
 Thr Gly Cys Ala Thr Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Cys Cys Ala
 4370 4375 4380
 Thr Gly Cys Gly Ala Gly Ala Gly Thr Ala Gly Gly Gly Ala Ala
 4385 4390 4395
 Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Ala Thr Cys Ala Ala Ala
 4400 4405 4410
 Thr Ala Ala Ala Ala Cys Gly Ala Ala Ala Ala Gly Gly Cys Thr Cys
 4415 4420 4425
 Ala Gly Thr Cys Gly Ala Ala Ala Gly Ala Cys Thr Gly Gly Gly
 4430 4435 4440
 Cys Cys Thr Thr Thr Cys Gly Thr Thr Thr Thr Ala Thr Cys Thr
 4445 4450 4455
 Gly Thr Thr Gly Thr Thr Thr Gly Thr Cys Gly Gly Thr Gly Ala
 4460 4465 4470

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Ala Cys Gly Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr Gly Ala Gly Thr Ala
 4475 4480 4485

Gly Gly Ala Cys Ala Ala Ala Thr Cys Cys Gly Cys Cys Gly Gly
 4490 4495 4500

Gly Ala Gly Cys Gly Gly Ala Thr Thr Thr Gly Ala Ala Cys Gly
 4505 4510 4515

Thr Thr Gly Cys Gly Ala Ala Gly Cys Ala Ala Cys Gly Gly Cys
 4520 4525 4530

Cys Cys Gly Gly Ala Gly Gly Gly Thr Gly Gly Cys Gly Gly Gly
 4535 4540 4545

Cys Ala Gly Gly Ala Cys Gly Cys Cys Cys Gly Cys Cys Ala Thr
 4550 4555 4560

Ala Ala Ala Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Gly Cys Ala Thr Cys
 4565 4570 4575

Ala Ala Ala Thr Thr Ala Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala Gly Gly
 4580 4585 4590

Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Gly Ala Cys Gly Gly Ala Thr Gly
 4595 4600 4605

Gly Cys Cys Thr Thr Thr Thr Thr Gly Cys Gly Thr Thr Thr Cys
 4610 4615 4620

Thr Ala Cys Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Thr Thr Thr Gly Thr
 4625 4630 4635

Thr Thr Ala Thr Thr Thr Thr Thr Cys Thr Ala Ala Ala Thr Ala
 4640 4645 4650

Cys Ala Thr Thr Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys
 4655 4660 4665

Gly Thr Cys Gly Thr Ala Cys Thr Thr Ala Ala Cys Thr Thr Thr
 4670 4675 4680

Thr Ala Ala Ala Gly Thr Ala Thr Gly Gly Gly Cys Ala Ala Thr
 4685 4690 4695

Cys Ala Ala Thr Thr Gly Cys Thr Cys Cys Thr Gly Thr Thr Ala
 4700 4705 4710

Ala Ala Ala Thr Thr Gly Cys Thr Thr Thr Ala Gly Ala Ala Ala
 4715 4720 4725

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Thr Ala Cys Thr Thr Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Gly Gly Thr
 4730 4735 4740
 Thr Thr Gly Thr Thr Gly Thr Ala Thr Thr Gly Ala Gly Thr Thr
 4745 4750 4755
 Thr Cys Ala Thr Thr Thr Gly Cys Gly Cys Ala Thr Thr Gly Gly
 4760 4765 4770
 Thr Thr Ala Ala Ala Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr Gly Ala
 4775 4780 4785
 Cys Cys Gly Thr Gly Cys Gly Cys Thr Thr Ala Cys Thr Ala Cys
 4790 4795 4800
 Ala Gly Cys Cys Thr Ala Ala Thr Ala Thr Thr Thr Thr Thr Gly
 4805 4810 4815
 Ala Ala Ala Thr Ala Thr Cys Cys Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys
 4820 4825 4830
 Thr Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Thr Cys Gly Cys Ala Thr Gly
 4835 4840 4845
 Cys Cys Cys Ala Cys Gly Cys Thr Ala Ala Ala Cys Ala Thr Thr
 4850 4855 4860
 Cys Thr Thr Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr Thr Thr Thr Gly Gly
 4865 4870 4875
 Thr Thr Ala Ala Ala Thr Cys Gly Thr Thr Gly Thr Thr Thr Gly
 4880 4885 4890
 Ala Thr Thr Thr Ala Thr Thr Ala Thr Thr Thr Gly Cys Thr Ala
 4895 4900 4905
 Thr Ala Thr Thr Thr Ala Thr Thr Thr Thr Thr Cys Gly Ala Thr
 4910 4915 4920
 Ala Ala Thr Thr Ala Thr Cys Ala Ala Cys Thr Ala Gly Ala Gly
 4925 4930 4935
 Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Ala Ala Thr Thr Ala Ala Thr Gly
 4940 4945 4950
 Gly Thr Ala Thr Gly Thr Thr Cys Ala Thr Ala Cys Ala Cys Gly
 4955 4960 4965
 Cys Ala Thr Gly Thr Ala Ala Ala Ala Ala Thr Ala Ala Ala Cys
 4970 4975 4980

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Thr Ala Thr Cys Thr Ala Thr Ala Thr Ala Gly Thr Thr Gly Thr
 4985 4990 4995
 Cys Thr Thr Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Ala Thr Gly Thr Gly
 5000 5005 5010
 Cys Ala Ala Ala Ala Cys Thr Ala Ala Gly Cys Ala Thr Thr Cys
 5015 5020 5025
 Cys Gly Ala Ala Gly Cys Cys Ala Thr Thr Ala Thr Thr Ala Gly
 5030 5035 5040
 Cys Ala Gly Thr Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Gly Gly Gly Ala
 5045 5050 5055
 Ala Ala Cys Thr Ala Ala Ala Cys Cys Cys Ala Gly Thr Gly Ala
 5060 5065 5070
 Thr Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Gly Ala Thr Gly Ala Thr Thr
 5075 5080 5085
 Thr Cys Gly Cys Thr Thr Cys Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Ala
 5090 5095 5100
 Cys Ala Thr Thr Thr Gly Gly Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr
 5105 5110 5115
 Thr Ala Thr Thr Thr Ala Cys Ala Gly Cys Ala Thr Thr Gly Thr
 5120 5125 5130
 Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr Ala Thr Thr Cys Cys
 5135 5140 5145
 Ala Ala Thr Thr Ala Ala Thr Cys Gly Gly Thr Gly Ala Ala Thr
 5150 5155 5160
 Gly Ala Thr Thr Gly Gly Ala Gly Thr Thr Ala Gly Ala Ala Thr
 5165 5170 5175
 Ala Ala Thr Cys Thr Ala Cys Thr Ala Thr Ala Gly Gly Ala Thr
 5180 5185 5190
 Cys Ala Thr Ala Thr Thr Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ala Ala Thr
 5195 5200 5205
 Thr Ala Gly Cys Gly Thr Cys Ala Thr Cys Ala Thr Ala Ala Thr
 5210 5215 5220
 Ala Thr Thr Gly Cys Cys Thr Cys Cys Ala Thr Thr Thr Thr Thr
 5225 5230 5235

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Thr Ala Gly Gly Gly Thr Ala Ala Thr Thr Ala Thr Cys Cys Ala
 5240 5245 5250
 Gly Ala Ala Thr Thr Gly Ala Ala Ala Thr Ala Thr Cys Ala Gly
 5255 5260 5265
 Ala Thr Thr Thr Ala Ala Cys Cys Ala Thr Ala Gly Ala Ala Thr
 5270 5275 5280
 Gly Ala Gly Gly Ala Thr Ala Ala Ala Thr Gly Ala Thr Cys Gly
 5285 5290 5295
 Cys Gly Ala Gly Thr Ala Ala Ala Thr Ala Ala Thr Ala Thr Thr
 5300 5305 5310
 Cys Ala Cys Ala Ala Thr Gly Thr Ala Cys Cys Ala Thr Thr Thr
 5315 5320 5325
 Thr Ala Gly Thr Cys Ala Thr Ala Thr Cys Ala Gly Ala Thr Ala
 5330 5335 5340
 Ala Gly Cys Ala Thr Thr Gly Ala Thr Thr Ala Ala Thr Ala Thr
 5345 5350 5355
 Cys Ala Thr Thr Ala Thr Thr Gly Cys Thr Thr Cys Thr Ala Cys
 5360 5365 5370
 Ala Gly Gly Cys Thr Thr Thr Ala Ala Thr Thr Thr Thr Ala Thr
 5375 5380 5385
 Thr Ala Ala Thr Thr Ala Thr Thr Cys Thr Gly Thr Ala Ala Gly
 5390 5395 5400
 Thr Gly Thr Cys Gly Thr Cys Gly Gly Cys Ala Thr Thr Thr Thr Ala
 5405 5410 5415
 Thr Gly Thr Cys Thr Thr Thr Cys Ala Thr Ala Cys Cys Cys Ala
 5420 5425 5430
 Thr Cys Thr Cys Thr Thr Thr Ala Thr Cys Cys Thr Thr Ala Cys
 5435 5440 5445
 Cys Thr Ala Thr Thr Gly Thr Thr Thr Gly Thr Cys Gly Cys Ala
 5450 5455 5460
 Ala Gly Thr Thr Thr Thr Gly Cys Gly Thr Gly Thr Thr Ala Thr
 5465 5470 5475
 Ala Thr Ala Thr Cys Ala Thr Thr Ala Ala Ala Ala Cys Gly Gly
 5480 5485 5490

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Thr Ala Ala Thr Ala Gly Ala Thr Thr Gly Ala Cys Ala Thr Thr
 5495 5500 5505
 Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr Ala Ala Thr Ala Ala Thr Thr
 5510 5515 5520
 Gly Gly Ala Thr Thr Thr Thr Thr Gly Thr Cys Ala Cys Ala Cys
 5525 5530 5535
 Thr Ala Thr Thr Ala Thr Ala Thr Cys Gly Cys Thr Thr Gly Ala
 5540 5545 5550
 Ala Ala Thr Ala Cys Ala Ala Thr Thr Gly Thr Thr Thr Ala Ala
 5555 5560 5565
 Cys Ala Thr Ala Ala Gly Thr Ala Cys Cys Thr Gly Thr Ala Gly
 5570 5575 5580
 Gly Ala Thr Cys Gly Thr Ala Cys Ala Gly Gly Thr Thr Thr Ala
 5585 5590 5595
 Cys Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Ala Ala Thr Gly Gly Thr Thr
 5600 5605 5610
 Thr Gly Thr Thr Ala Thr Ala Gly Thr Cys Gly Ala Thr Thr Ala
 5615 5620 5625
 Ala Thr Cys Gly Ala Thr Thr Thr Gly Ala Thr Thr Cys Thr Ala
 5630 5635 5640
 Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr Thr Thr Thr Ala Ala Cys Thr Ala
 5645 5650 5655
 Ala Thr Thr Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Thr Ala
 5660 5665 5670
 Ala Cys Ala Thr Ala Thr Gly Ala Thr Cys Gly Cys Thr Cys Cys
 5675 5680 5685
 Ala Cys Cys Ala Thr Gly Cys Ala Cys Cys Ala Gly Thr Gly Ala
 5690 5695 5700
 Gly Ala Ala Gly Cys Ala Thr Thr Ala Thr Gly Ala Gly Cys Ala
 5705 5710 5715
 Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly
 5720 5725 5730
 Thr Ala Ala Cys Ala Ala Ala Thr Gly Thr Gly Ala Ala Cys Cys
 5735 5740 5745

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Ala Gly Gly Ala Ala Ala Gly Thr Ala Cys Ala Thr Gly Thr Cys
5750 5755 5760

Thr Thr Cys Thr Ala Ala Ala Thr Gly Cys Ala Cys Thr Ala Cys
5765 5770 5775

Thr Ala Cys Cys Thr Cys Thr Gly Ala Cys Ala Gly Thr Gly Thr
5780 5785 5790

Ala Thr Gly Thr Cys Thr Gly Cys Cys Cys Thr Gly Thr Gly Gly
5795 5800 5805

Cys Cys Cys Gly Gly Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Cys Thr Thr
5810 5815 5820

Gly Gly Ala Thr Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Gly Ala
5825 5830 5835

Ala Gly Ala Ala Gly Ala Thr Ala Ala Ala Thr Gly Cys Thr Thr
5840 5845 5850

Gly Cys Thr Gly Cys Ala Thr Ala Ala Ala Gly Thr Thr Thr Gly
5855 5860 5865

Thr Gly Ala Thr Ala Cys Ala Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys
5870 5875 5880

Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Gly Cys Cys Gly Thr Gly Gly Thr
5885 5890 5895

Cys Gly Cys Cys Gly Gly Cys Ala Ala Cys Ala Gly Thr Ala Cys
5900 5905 5910

Gly Ala Cys Cys Cys Cys Cys Cys Gly Gly Cys Gly Cys Thr Gly
5915 5920 5925

Cys Gly Cys Gly Thr Gly Cys Ala Cys Gly Gly Cys Thr Gly Gly
5930 5935 5940

Gly Thr Ala Cys Cys Ala Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Ala
5945 5950 5955

Gly Gly Ala Cys Thr Gly Cys Gly Ala Gly Thr Gly Cys Thr Gly
5960 5965 5970

Cys Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Ala Cys Ala Cys Cys Gly Ala
5975 5980 5985

Gly Thr Gly Cys Gly Cys Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Cys Thr
5990 5995 6000

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Gly Gly Gly Cys Gly Cys Cys Cys Ala Gly Cys Ala Cys Cys Cys
 6005 6010 6015
 Gly Thr Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Cys Ala Ala Cys Ala Ala
 6020 6025 6030
 Gly Gly Ala Cys Ala Cys Ala Gly Thr Gly Thr Gly Cys Ala Ala
 6035 6040 6045
 Ala Cys Cys Thr Thr Gly Cys Cys Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly
 6050 6055 6060
 Cys Thr Ala Cys Thr Thr Cys Thr Cys Thr Gly Ala Thr Gly Cys
 6065 6070 6075
 Cys Thr Thr Thr Thr Cys Cys Thr Cys Cys Ala Cys Gly Gly Ala
 6080 6085 6090
 Cys Ala Ala Ala Thr Gly Cys Ala Gly Ala Cys Cys Cys Thr Gly
 6095 6100 6105
 Gly Ala Cys Cys Ala Ala Cys Thr Gly Thr Ala Cys Cys Thr Thr
 6110 6115 6120
 Cys Cys Thr Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Gly Thr
 6125 6130 6135
 Ala Gly Ala Ala Cys Ala Thr Cys Ala Thr Gly Gly Gly Ala Cys
 6140 6145 6150
 Ala Gly Ala Gly Ala Ala Ala Thr Cys Cys Gly Ala Thr Gly Thr
 6155 6160 6165
 Gly Gly Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Thr Thr Cys Thr Thr Cys
 6170 6175 6180
 Thr Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly Cys Thr Ala Gly Ala Ala Ala
 6185 6190 6195
 Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Ala Ala Thr Gly Ala Ala Cys Cys
 6200 6205 6210
 Cys Cys Ala Thr Gly Thr Thr Thr Ala Cys Gly Thr Cys Gly Ala
 6215 6220 6225
 Cys Ala Ala Ala Ala Cys Thr Cys Ala Cys Ala Cys Ala Thr Gly
 6230 6235 6240
 Thr Cys Cys Ala Cys Cys Thr Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys
 6245 6250 6255

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Thr Cys Cys Gly Gly Ala Ala Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Gly
 6260 6265 6270
 Gly Gly Gly Ala Cys Cys Gly Thr Cys Ala Gly Thr Cys Thr Thr
 6275 6280 6285
 Cys Cys Thr Cys Thr Thr Cys Cys Cys Cys Cys Ala Ala Ala
 6290 6295 6300
 Ala Cys Cys Cys Ala Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr
 6305 6310 6315
 Cys Ala Thr Gly Ala Thr Cys Thr Cys Cys Cys Gly Gly Ala Cys
 6320 6325 6330
 Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Ala Cys Ala Thr Gly
 6335 6340 6345
 Cys Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Gly Gly Ala Cys Gly Thr
 6350 6355 6360
 Gly Ala Gly Cys Cys Ala Cys Gly Ala Ala Gly Ala Cys Cys Cys
 6365 6370 6375
 Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Thr Thr Cys Ala Ala
 6380 6385 6390
 Cys Thr Gly Gly Thr Ala Cys Gly Thr Gly Gly Ala Cys Gly Gly
 6395 6400 6405
 Cys Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Thr Ala Ala
 6410 6415 6420
 Thr Gly Cys Cys Ala Ala Gly Ala Cys Ala Ala Ala Gly Cys Cys
 6425 6430 6435
 Gly Cys Gly Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Cys Ala Gly Thr Ala
 6440 6445 6450
 Cys Ala Ala Cys Ala Gly Cys Ala Cys Gly Thr Ala Cys Cys Gly
 6455 6460 6465
 Thr Gly Thr Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Gly Thr Cys Cys Thr
 6470 6475 6480
 Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Cys Cys Ala
 6485 6490 6495
 Gly Gly Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Gly Ala Ala Thr Gly Gly
 6500 6505 6510

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Cys Ala Ala Gly Gly Ala Gly Thr Ala Cys Ala Ala Gly Thr Gly
 6515 6520 6525
 Cys Ala Ala Gly Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Ala Cys Ala Ala
 6530 6535 6540
 Ala Gly Cys Cys Cys Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys Cys Cys Cys
 6545 6550 6555
 Cys Ala Thr Cys Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Cys Cys Ala Thr
 6560 6565 6570
 Cys Thr Cys Cys Ala Ala Ala Gly Cys Cys Ala Ala Ala Gly Gly
 6575 6580 6585
 Gly Cys Ala Gly Cys Cys Cys Cys Gly Ala Gly Ala Ala Cys Cys
 6590 6595 6600
 Ala Cys Ala Gly Gly Thr Gly Thr Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr
 6605 6610 6615
 Gly Cys Cys Cys Cys Cys Ala Thr Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala
 6620 6625 6630
 Thr Gly Ala Gly Cys Thr Gly Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala
 6635 6640 6645
 Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Ala Cys
 6650 6655 6660
 Cys Thr Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala Ala Ala Gly Gly
 6665 6670 6675
 Cys Thr Thr Cys Thr Ala Thr Cys Cys Cys Ala Gly Cys Gly Ala
 6680 6685 6690
 Cys Ala Thr Cys Gly Cys Cys Gly Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly
 6695 6700 6705
 Gly Gly Ala Gly Ala Gly Cys Ala Ala Thr Gly Gly Gly Cys Ala
 6710 6715 6720
 Gly Cys Cys Gly Gly Ala Gly Ala Ala Cys Ala Ala Cys Thr Ala
 6725 6730 6735
 Cys Ala Ala Gly Ala Cys Cys Ala Cys Gly Cys Cys Thr Cys Cys
 6740 6745 6750
 Cys Gly Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala
 6755 6760 6765

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Cys Gly Gly Cys Thr Cys Cys Thr Thr Cys Thr Thr Cys Cys Thr
 6770 6775 6780
 Cys Thr Ala Cys Ala Gly Cys Ala Ala Gly Cys Thr Cys Ala Cys
 6785 6790 6795
 Cys Gly Thr Gly Gly Ala Cys Ala Ala Gly Ala Gly Cys Ala Gly
 6800 6805 6810
 Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Ala
 6815 6820 6825
 Cys Gly Thr Cys Thr Thr Cys Thr Cys Ala Thr Gly Cys Thr Cys
 6830 6835 6840
 Cys Gly Thr Gly Ala Thr Gly Cys Ala Thr Gly Ala Gly Gly Cys
 6845 6850 6855
 Thr Cys Thr Gly Cys Ala Cys Ala Ala Cys Cys Ala Cys Thr Ala
 6860 6865 6870
 Cys Ala Cys Gly Cys Ala Gly Ala Ala Gly Ala Gly Cys Cys Thr
 6875 6880 6885
 Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Thr Cys Thr Cys Cys Gly Gly Gly
 6890 6895 6900
 Thr Ala Ala Ala Thr Ala Ala Thr Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly
 6905 6910 6915
 Cys Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala
 6920 6925 6930
 Gly Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ala Ala Ala Gly Cys Cys Cys Gly
 6935 6940 6945
 Ala Ala Ala Gly Gly Ala Ala Gly Cys Thr Gly Ala Gly Thr Thr
 6950 6955 6960
 Gly Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Gly Cys
 6965 6970 6975
 Thr Gly Ala Gly Cys Ala Ala Thr Ala Ala Cys Thr Ala Gly Cys
 6980 6985 6990
 Ala Thr Ala Ala Cys Cys Cys Cys Thr Thr Gly Gly Gly Gly Cys
 6995 7000 7005
 Cys Thr Cys Thr Ala Ala Ala Cys Gly Gly Gly Thr Cys Thr Thr
 7010 7015 7020

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Thr Thr Thr Thr Thr Thr Gly Cys Thr
 7025 7030 7035
 Gly Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Ala Cys Cys Gly Cys
 7040 7045 7050
 Thr Cys Thr Thr Cys Ala Cys Gly Cys Thr Cys Thr Thr Cys Ala
 7055 7060 7065
 Cys Gly Cys Gly Gly Ala Thr Ala Ala Ala Thr Ala Ala Gly Thr
 7070 7075 7080
 Ala Ala Cys Gly Ala Thr Cys Cys Gly Gly Thr Cys Cys Ala Gly
 7085 7090 7095
 Thr Ala Ala Thr Gly Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Ala Ala Cys
 7100 7105 7110
 Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Thr Thr Gly Thr
 7115 7120 7125
 Thr Cys Ala Gly Ala Ala Cys Gly Cys Thr Cys Gly Gly Thr Thr
 7130 7135 7140
 Gly Cys Cys Gly Cys Cys Gly Gly Gly Cys Gly Thr Thr Thr
 7145 7150 7155
 Thr Thr Ala Thr Thr Gly Gly Thr Gly Ala Gly Ala Ala Thr Cys
 7160 7165 7170
 Gly Cys Ala Gly Cys Ala Ala Cys Thr Thr Gly Thr Cys Gly Cys
 7175 7180 7185
 Gly Cys Cys Ala Ala Thr Cys Gly Ala Gly Cys Cys Ala Thr Gly
 7190 7195 7200
 Thr Cys Gly Thr Cys Gly Thr Cys Ala Ala Cys Gly Ala Cys Cys
 7205 7210 7215
 Cys Cys Cys Cys Ala Thr Thr Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala
 7220 7225 7230
 Gly Cys Ala Ala Gly Cys Ala Gly Cys Ala Thr Thr Gly Ala Gly
 7235 7240 7245
 Ala Ala Cys Thr Thr Thr Gly Gly Ala Ala Thr Cys Cys Ala Gly
 7250 7255 7260
 Thr Cys Cys Cys Thr Cys Thr Thr Cys Cys Ala Cys Cys Thr Gly
 7265 7270 7275

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Cys Thr Gly Ala Cys Cys Gly
7280 7285

<210> 29
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 Modulating Domains
<400> 29

Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala
1 5 10

10

<210> 30
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 Modulating Domains
<400> 30

Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu
1 5 10

<210> 31
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

20

<220>
<223> Preferred TALL-1 Modulating Domains
<400> 31

Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala
1 5 10

<210> 32
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

30

<220>
<223> Preferred TALL-1 Modulating Domains
<400> 32

Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys Phe
1 5 10 15

His His

<210> 33
<211> 18
<212> PRT

A-743 PCT.ST25.txt

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Preferred TALL-1 Modulating Domains

<400> 33

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
 1 5 10 15

Pro Leu

<210> 34

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Preferred TALL-1 Modulating Domains

<400> 34

Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys Thr
 1 5 10 15

Ser Ser

<210> 35

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Preferred TALL-1 Modulating Domains

<400> 35

Ser Asp Asp Cys Met Tyr Asp Gln Leu Thr Arg Met Phe Ile Cys Ser
 1 5 10 15

Asn Leu

<210> 36

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Preferred TALL-1 Modulating Domains

<400> 36

Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys Gln
 1 5 10 15

Phe Asn

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

<210> 37
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 Modulating Domains

<400> 37

Phe His Asp Cys Lys Tyr Asp Leu Leu Thr Arg Gln Met Val Cys His
 1 5 10 15

Gly Leu

10

<210> 38
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 Modulating Domains

<400> 38

Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys Pro
 1 5 10 15

Ser Pro

20

<210> 39
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 Modulating Domains

<400> 39

Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Thr Lys Lys Asn Val Cys Glu
 1 5 10 15

Phe Phe

30

<210> 40
 <211> 8
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Polyglycine linkers

<400> 40
 gggkgggg

8

<210> 41

A-743 PCT.ST25.txt

<211> 8
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Polyglycine linkers
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> {4}..{4}
 <223> N is asparagine

<400> 41
 gggngsgg

8

10

<210> 42
 <211> 8
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Polyglycine linkers

<400> 42
 gggcgggg

8

<210> 43
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> Polyglycine linkers

<400> 43

Gly Pro Asn Gly Gly
 1 5

<210> 44
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide Bond

30

<220>
 <221> misc_feature
 <222> {19}..{19}
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 19 to C-terminus

<400> 44

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
 1 5 10 15

Pro Leu Xaa

A-743 PCT.ST25.txt

<210> 45
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 1 to N-terminus

<400> 45

10

Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

Asp Pro Leu

<210> 46
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (38)..(38)
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 38 to C-terminus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> Xaa = a peptide bond

<400> 46

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp
 1 5 10 15

30

Pro Leu Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp
 20 25 30

Val Cys Asp Pro Leu Xaa
 35

<210> 47
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

A-743 PCT.ST25.txt

<220>
 <221> misc_feature
 <222> {1}..{1}
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 1 to N-terminus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> {20}..{20}
 <223> Xaa = a peptide bond

<400> 47

Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

10

Asp Pro Leu Xaa Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln
 20 25 30

Trp Val Cys Asp Pro Leu
 35

<210> 48
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> {19}..{19}
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 19 to C-terminus

<400> 48

Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys Thr
 1 5 10 15

Ser Ser Xaa

30

<210> 49
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

<220>
 <221> misc_feature
 <222> {1}..{1}
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 1 to N-terminus

<400> 49

A-743 PCT.ST25.txt

Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
 1 5 10 15

Thr Ser Ser

<210> 50
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (36)..(36)
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 36 to C-terminus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa = a peptide bond

<400> 50

Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Thr Ser
 1 5 10 15

20

Ser Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val
 20 25 30

Thr Ser Ser Xaa
 35

<210> 51
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

30

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 1 to N-terminus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> Xaa = a peptide bond

<400> 51

Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Thr

40

1 5 A-743 PCT.ST25.txt 10 15
 Ser Ser Xaa Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp
 20 25 30

Val Thr Ser Ser
 35

<210> 52
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 19 to C-terminus

<400> 52

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His
 1 5 10 15

Gly Leu Xaa

<210> 53
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 1 to N-terminus

<400> 53

Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

His Gly Leu

<210> 54
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

A-743 PCT.ST25.txt

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(19)
 <223> Xaa = a peptide bond

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (38)..(38)
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 38 to C-terminus

<400> 54

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His
 1 5 10 15

Gly Leu Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp
 20 25 30

Val Cys His Gly Leu Xaa
 35

<210> 55
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Peptide bond

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa = a peptide bond
 Fc domain attached at Position 1 to N-terminus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> Xaa = a peptide bond

<400> 55

Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

His Gly Leu Xaa Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln
 20 25 30

Trp Val Cys His Gly Leu
 35

<210> 56
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

<220>

<223> Oligonucleotide

<400> 56

cggcgcaact atcggtatca agctg

25

<210> 57

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Oligonucleotide

<400> 57

catgtaccgt aacactgagt ttcgtc

26

10

<210> 58

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Consensus peptide

<400> 58

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His
 1 5 10 15

Gly Leu

20

<210> 59

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Preferred linker sequence

<400> 59

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
 1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Met
 20

30

<210> 60

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 60

Asn Gln Thr Leu Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Phe Ile Thr
 1 5 10 15

A-743 PCT.ST25.txt

Tyr Met

<210> 61
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains
 <400> 61

Pro Val Tyr Gln Gly Trp Trp Asp Thr Leu Thr Lys Leu Tyr Ile Trp
 1 5 10 15

10

Asp Gly

<210> 62
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains
 <400> 62

Trp Leu Asp Gly Gly Trp Arg Asp Pro Leu Ile Lys Arg Ser Val Gln
 1 5 10 15

20

Leu Gly

<210> 63
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains
 <400> 63

Gly His Gln Gln Phe Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Gln
 1 5 10 15

30

Ser Asn

<210> 64
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains
 <400> 64

A-743 PCT.ST25.txt

Gln Arg Val Gly Gln Phe Trp Asp Val Leu Thr Lys Met Phe Ile Thr
 1 5 10 15

Gly Ser

<210> 65
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

10

<400> 65

Gln Ala Gln Gly Trp Ser Tyr Asp Ala Leu Ile Lys Thr Trp Ile Arg
 1 5 10 15

Trp Pro

<210> 66
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

20

<400> 66

Gly Trp Met His Trp Lys Trp Asp Pro Leu Thr Lys Gln Ala Leu Pro
 1 5 10 15

Trp Met

<210> 67
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

30

<400> 67

Gly His Pro Thr Tyr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Leu
 1 5 10 15

Gln Met

<210> 68
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

A-743 PCT.ST25.txt

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 68

Trp Asn Asn Trp Ser Leu Trp Asp Pro Leu Thr Lys Leu Trp Leu Gln
 1 5 10 15

Gln Asn

<210> 69

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 69

Trp Gln Trp Gly Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Gln
 1 5 10 15

Gln Gln

<210> 70

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 70

Gly Gln Met Gly Trp Arg Trp Asp Pro Leu Thr Lys Met Trp Leu Gly
 1 5 10 15

Thr Ser

<210> 71

<211> 62

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> Oligonucleotides

<400> 71

tatgcccgggt acttggttcc cggtcccggtg ggaatgcact cacgctggtg gaggcggtgg 60

gg 62

<210> 72

<211> 64

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

A-743 PCT.ST25.txt

```

<220>
<223> Oligonucleotides

<400> 72
tcgacccac cgctcctgg agcgtgagtg cattcccacg ggaagccgaa acaagtaccc 60
ggca 64

<210> 73
<211> 62
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Oligonucleotides 10

<400> 73
tatgtggggt gcttgttggc cgttcccgtg ggaatgtttc aaagaagggtg gaggcggtgg 60
gg 62

<210> 74
<211> 64
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Oligonucleotides

<400> 74
tcgacccac cgctccacc ttctttgaaa cattcccacg ggaacggcca acaagcacc 60
caca 64 20

<210> 75
<211> 62
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Oligonucleotides

<400> 75
tatggttccg ttctgtgacc tgctgactaa aactgttttc gaagctgggtg gaggcggtgg 60
gg 62

<210> 76
<211> 64
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Oligonucleotides

<400> 76
tcgacccac cgctccacc agcttcgaaa cagtgtttag tcagcaggtc acagaacgga 60
acca 64 30

<210> 77
<211> 74
<212> DNA

```


A-743 PCT.ST25.txt

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Oligonucleotides

<400> 77

tatgggttct cgttgtaa at acaa atggga cgttctgact aaacagtgtt tccaccacgg 60

tggaggcggt gggg 74

<210> 78

<211> 76

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Oligonucleotides

<400> 78

tcgacccac cgcctccacc gtggtgaaa cactgtttag tcagaacgtc ccatttgtat 60

ttacaacgag aaccca 76

<210> 79

<211> 74

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Oligonucleotides

<400> 79

tatgctgccg ggttgtaa at gggacctgct gatcaa acag tgggtttgtg acccgctggg 60

tggaggcggt gggg 74

20

<210> 80

<211> 76

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Oligonucleotides

<400> 80

tcgacccac cgcctccacc cagcgggtca caaacccact gtttgatcag cagggtccat 60

ttacaaccgg gcagca 76

30

<210> 81

<211> 74

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Oligonucleotides

<400> 81

tatgtctgct gactgttact tcgacatcct gactaaatct gacgtttgta cttcttctgg 60

tggaggcggt gggg 74

<210> 82

A-743 PCT.ST25.txt

<211> 76		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Oligonucleotides		
<400> 82		
tcgacccac cgcctccacc agaagaagta caaacgtcag atttagtcag gatgtcgaag	60	
taacagtcag cagaca	76	
<210> 83		
<211> 74		
<212> DNA		10
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Oligonucleotides		
<400> 83		
tatgtctgac gactgtatgt acgaccagct gactcgtatg ttcatctgtt ctaacctggg	60	
tggaggcggg gggg	74	
<210> 84		
<211> 76		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Oligonucleotides		20
<400> 84		
tcgacccac cgcctccacc caggtagaa cagatgaaca tacgagtcag ctggtcgtac	60	
atacagtcgt cagaca	76	
<210> 85		
<211> 74		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Oligonucleotides		
<400> 85		
tatggacctg aactgtaaat acgacgaact gacttacaaa gaatgggtgc agttcaacgg	60	30
tggaggcggg gggg	74	
<210> 86		
<211> 76		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Oligonucleotides		
<400> 86		
tcgacccac cgcctccacc gttgaactga caccattctt tgtaagtcag ttctcgtat	60	
ttacagttca ggtcca	76	

A-743 PCT.ST25.txt

<210> 87
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Oligonucleotides

<400> 87
 tatgttccac gactgtaaat acgacctgct gactcgtcag atggtttctc acggtctggg 60
 tggaggcggt gggg 74

<210> 88
 <211> 76
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Oligonucleotides

<400> 88
 tcgacccac cgctccacc cagaccgtga caaacctct gacgagtcag caggctctat 60
 ttacagtcgt ggaaca 76

<210> 89
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Oligonucleotides

<400> 89
 tatgcgtaac cactgtttct gggaccacct gctgaaacag gacatctgtc cgtctccggg 60
 tggaggcggt gggg 74

<210> 90
 <211> 76
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Oligonucleotides

<400> 90
 tcgacccac cgctccacc cggagacgga cagatgtcct gtttcagcag gtgggtccag 60
 aaacagtggg tacgca 76

<210> 91
 <211> 74
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Oligonucleotides

<400> 91
 tatggctaac cagtgttggt gggactctct gctgaaaaaa aacgtttgtg aattcttcgg 60

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt		
tggagggcggg	gggg	74
<210>	92	
<211>	76	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Oligonucleotides	
<400>	92	
tcgacccac	cgctccacc gaagaattca caaacgtttt ttttcagcag agagtccac	60
caacactgg	tagcca	76
<210>	93	
<211>	74	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Oligonucleotides	
<400>	93	
tatgttccac	gactgcaaat gggacctgt gaccaaacag tgggtttgcc acggtctggg	60
tggagggcggg	gggg	74
<210>	94	
<211>	76	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	Oligonucleotides	
<400>	94	
tcgacccac	cgctccacc cagacctgg caaacccact gtttggtcag cagggtccat	60
ttgcagtcgt	ggaaca	76
<210>	95	
<211>	141	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	pAMG21-RANK-Fc vector	
<400>	95	
ctaattccgc	tctcacctac caaacaatgc cccctgcaa aaaataaatt catataaaaa	60
acatacagat	aaccatctgc ggtgataaat tatctctggc ggtgttgaca taaataccac	120
tggcgggtgat	actgagcaca t	141
<210>	96	
<211>	55	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220>		
<223>	pAMG21-RANK-Fc vector	

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

<400> 96
cgatttgatt ctagaaggag gaataacata tgggtaacgc gttggaattc ggtac 55

<210> 97
<211> 1546
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> pAMG21

<400> 97
gcgtaacgta tgcattggtct ccccatgcga gagtagggaa ctgccaggca tcaaataaaa 60
cgaaaggctc agtcgaaaga ctgggccttt cgttttatct gttgtttgtc ggtgaacgct 120
ctcctgagta ggacaaatcc gccgggagcg gatttgaacg ttgcgaagca acggcccggg 180
gggtggcggg caggacgccc gccataaact gccaggcatc aaattaagca gaaggccatc 240
ctgacggatg gcctttttgc gtttctacaa actcttttgt ttatttttct aaatacatcc 300
aaatatggac gtcgtactta acttttaaag tatgggcaat caattgctcc tgttaaaatt 360
gcttttagaa tactttggca gcggtttgtt gtattgagtt tcatttgcgc attggttaaa 420
tggaagtgta ccgtgcgctt actacagcct aatatctttg aaatatccca agagcttttt 480
ccttcgcatt cccacgctaa acattctttt tctcttttgg ttaaatcggt gtttgattta 540
ttatttgcta tatttatctt tcgataatta tcaactagag aaggaacaat taatgggatg 600
ttcatatacg catgtaaaaa taaactatct atatagtgtt cttctcttga atgtgcaaaa 660
ctaagcattc cgaagccatt attagcagta tgaataggga aactaaacc agtgataaga 720
cctgatgatt tcgcttcttt aattacattt ggagattttt tatttacagc attgttttca 780
aatatattcc aattaatcgg tgaatgattg gagttagaat aatctactat aggatcatat 840
ttatttaaat tagcgtcatc ataattttgc ctccattttt tagggtaatt atccagaatt 900
gaaatatcag atttaaccat agaatgagga taaatgatcg cgagtaaata atattcacia 960
tgtaccattt tagtcatatc agataagcat tgattaatat cattattgct tctacaggct 1020
ttaattttat taattattct gtaagtgtcg tcggcattta tgtctttcat acccatctct 1080
ttatccttac ctattgtttg tcgcaagttt tcggtgttat atatcattaa aacggttaata 1140
gattgacatt tgattctaat aaattggatt ttgttcacac tatttatatc cttgaaatac 1200
aattgtttta cataagttac tgtaggatcg tacaggttta cgcaagaaaa tggtttgtta 1260
tagtcgatta atcgatttga ttctagattt gttttaacta attaaaggag gaataacata 1320
tgggtaacgc gttggaattc gagctcacta gtgtcgacct gcagggtacc atggaagctt 1380
actcgaggat ccgcggaaag aagaagaaga agaagaagc ccgaaaggaa gctgagttgg 1440
ctgctgccac cgctgagcaa taactagcat aacccttgg ggctctaaa cgggtcttga 1500
ggggtttttt gctgaaagga ggaaccgctc ttcacgctct tcacgc 1546

<210> 98

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

<211> 872
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> GM221

<400> 98
 ttatatttcgt ggggcccgcac cattatcacc gccagaggta aactagtcaa cgcgcacggt 60
 gttagatatt tatcccttgc ggtgatagat tgagcacatc gatttgattc tagaaggagg 120
 gataatatat gagcacaaaa aagaaaccat taacacaaga gcagcttgag gacgcacgtc 180
 gccitaaagc aattttatgaa aaaaagaaaa atgaacttgg cttatcccag gaatctgtcg 240
 cagacaagat ggggatgggg cagtcaggcg ttggtgcttt atttaatggc atcaatgcat 300
 taaatgctta taacgccgca ttgcttaca aaattctcaa agtttagcgtt gaagaattta 360
 gcccttcaat cgcagagaa tctacgagat gtatgaagcg gttagtatgc agccgtcact 420
 tagaagttag tatgagtacc ctgttttttc tcatgttcag gcagggatgt tctcacctaa 480
 gcttagaacc ttaccaaaag gtgatgcgga gagatgggta agcacacca aaaaagccag 540
 tgattctgca ttctggcttg aggttgaagg taattccatg accgcacca caggctccaa 600
 gccaaagctt cctgacggaa tgttaattct cgttgaccct ggcagggctg ttgagccagg 660
 tgatttctgc atagccagac ttgggggtga tgagtttacc ttcaagaaac tgatcaggga 720
 tagcggtcag gtgtttttac aaccactaaa ccacagtag ccaatgatec catgcaatga 780
 gagttgttcc gttgtgggga aagttatcgc tagtcagtgg cctgaagaga cgtttggctg 840
 atagactagt ggatccacta gtgtttctgc cc 872

10

20

<210> 99
 <211> 1197
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> GM221

<400> 99
 ggcggaaacc gacgtccatc gaatggtgca aaacctttcg cggtagtgca tgatagcgcc 60
 cggaagagag tcaattcagg gtggtgaatg tgaaccagc aacgttatac gatgtcgag 120
 agtatgccgg tgtctcttat cagaccgttt cccgcgtggt gaaccaggcc agccacgttt 180
 ctgcgaaaac gcgggaaaaa gtccgaagcg cgatggcgga gctgaattac attcccaacc 240
 gcgtggcaca acaactggcg ggcaaacagt cgctcctgat tggcgttgcc acctccagtc 300
 tggccctgca cgcgcgctcg caaattgtcg cggcgattaa atctcgcgcc gatcaactgg 360
 gtgccagcgt ggtggtgtcg atggtagaac gaagcggcgt cgaagcctgt aaagcggcgg 420
 tgcacaatct tctcgcgcaa cgcgtcagtg ggctgatcat taactatccg ctggatgacc 480
 aggatgccat tgctgtggaa gctgcctgca ctaatgttcc ggcgttattt cttgatgtct 540
 ctgaccagac acccatcaac agtattatct tctcccatga agacggtacg cgactgggcg 600

30

A-743 PCT.ST25.txt

```

tggagcatct ggtcgcattg ggtcaccagc aaatcgcgct gttagcgggc ccattaagtt      660
ctgtctcggc gcgtctgcgt ctggctggct gccataaata tctcactcgc aatcaaattc      720
agccgatagc ggaacgggaa ggcgactgga gtgccatgtc cggttttcaa caaaccatgc      780
aaatgctgaa tgagggcatc gttcccactg cgatgctggt tgccaacgat cagatggcgc      840
tggggcgcaat gcgcgccatt accgagtcog ggctgcgcgt tgggtcggat atctcggtag      900
tgggatacga cgataccgaa gacagctcat gttatatccc gccgttaacc accatcaaac      960
aggatTTTTc cctgctgggg caaaccagcg tggaccgctt gctgcaactc tctcagggcc     1020
aggcggtgaa gggcaatcag ctgttgcccg tctcactggt gaaaagaaaa accaccctgg     1080
cgcccaatac gcaaaccgcc tctccccgog cgttggccga ttcattaatg cagctggcac     1140
gacaggtttc cgcactggaa agcggacagt aagggtacat aggatccagg cacagga       1197

```

10

```

<210> 100
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Modulators of TALL-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1, 2, 3, 13)..(14)
<223> Xaa (Pos1,2,3,13,14) are each independently absent or amino acid
        residues;

```

20

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa (Pos6) is an amino acid residue; Xaa (Pos9) is a basic or hyd
        rophobic residue;

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa (Pos12) is a neutral hydrophobic residue.

```

```

<400> 100

```

30

```

Xaa Xaa Xaa Cys Asp Xaa Leu Thr Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
1           5           10

```

```

<210> 101
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<220>
<223> Modulators of TALL-1

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1, 2, 3, 12 and)..(13)
<223> Xaa (Pos1,2,3,12,13) are each independently absent or amino acid

```

40

A-743 PCT.ST25.txt

residues;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5 and)..(8)
 <223> Xaa (Pos5,8) is a neutral hydrophobic residue; Xaa (Pos10) is an acidic residue;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa (Pos14) is absent or is an amino acid residue.

<400> 101

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Pro Phe Xaa Trp Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 102
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Modulator of TALL-1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1, 2, 3, 12, 13 and)..(14)
 <223> Xaa (Pos1,2,3,12,13,14) are each independently absent or amino acid residues;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6 and)..(7)
 <223> Xaa (Pos6,7) is a hydrophobic residue;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa (Pos10) is an acidic or polar hydrophobic residue.

<400> 102

Xaa Xaa Xaa Xaa Trp Xaa Xaa Trp Gly Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 103
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Modulator of TALL-1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa (Pos1) is absent or is an amino acid residue;

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2 and)..(14)
 <223> Xaa (Pos2,14) is a neutral hydrophobic residue;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3 and)..(10)
 <223> Xaa (Pos3,10) is an amino acid residue;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5, 6, 7, 8, 12 and)..(13)
 <223> Xaa (Pos5,6,7,8,12,13) are each independently amino acid residues
 ;

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa (Pos9) is an acidic residue.

<400> 103

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 104
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> Modulator of TALL-1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1, 2, 12, 13, 16, 17 and)..(18)
 <223> Xaa (Pos1,2,12,13,16,17,18) are each independently absent or amino acid residues;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa (Pos3) is an acidic or amide residue;

30

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5 and)..(8)
 <223> Xaa (Pos5,8) is an amino acid residue;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa (Pos6) is an aromatic residue;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)

40

A-743 PCT.ST25.txt
 <223> Xaa (Pos11) is a basic residue;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> Xaa (Pos14) is a neutral hydrophobic residue.

<400> 104

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Asp Xaa Leu Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa

10

<210> 105
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Modulator of TALL-1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1, 2 and)..(3)
 <223> Xaa (Pos1,2,3) are each independently absent or amino acid residues;

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5, 7, 14 and)..(16)
 <223> Xaa (Pos5,7,14,16) is an amino acid residue;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa (Pos10) is a basic residue;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11 and)..(12)
 <223> Xaa (Pos11,12) are each independently amino acid residues;

30

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13 and)..(17)
 <223> Xaa (Pos13,17) is a neutral hydrophobic residue;

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa (Pos18) is an amino acid residue or is absent.

<400> 105

Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Asp Xaa Leu Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa

40

A-743 PCT.ST25.txt

10

20

30

```
<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> X at (Pos 9) is T or I (T preferred);
```

30

A-743 PCT.ST25.txt

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> X at (Pos 10) is K, R, or H (K preferred).

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> X at (Pos 12) is C, a neutral hydrophobic residue, or a basic residue (W, C, or R preferred);

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> X at (Post 13) is C, a neutral hydrophobic residue or is absent (V preferred);

10

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> X at (Pos 14) is any amino acid residue or is absent.

<400> 109

Xaa Xaa Xaa Lys Xaa Asp Xaa Leu Xaa Xaa Gln Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 110
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> Modulator of TALL-1

<400> 110

Pro Phe Pro Trp Glu
 1 5

<210> 111
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> TALL-1 inhibitory peptibodies

<400> 111

Met Pro Gly Thr Cys Phe Pro Phe Pro Trp Glu Cys Thr His Ala Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 20 25 30

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 35 40 45

A-743 PCT.ST25.txt

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
165 170 175

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
180 185 190

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
195 200 205

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 112
<211> 248
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> TALL-1 inhibitory peptibodies

<400> 112

Met Trp Gly Ala Cys Trp Pro Phe Pro Trp Glu Cys Phe Lys Glu Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

10

20

30

40

A-743 PCT.ST25.txt

20	25	30
----	----	----

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 35 40 45

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 50 55 60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 65 70 75 80

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 85 90 95

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 100 105 110

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 115 120 125

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 130 135 140

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 145 150 155 160

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 165 170 175

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 180 185 190

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 195 200 205

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 210 215 220

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 225 230 235 240

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245

10

20

30

<210> 113
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> TALL-1 inhibitory peptibodies

<400> 113

A-743 PCT.ST25.txt

Met Val Pro Phe Cys Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Phe Glu Ala Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 20 25 30
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 35 40 45
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 50 55 60
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 65 70 75 80
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 85 90 95
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 100 105 110
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 115 120 125
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 130 135 140
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 145 150 155 160
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 165 170 175
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 180 185 190
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 195 200 205
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 210 215 220
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 225 230 235 240
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245

<210> 114
 <211> 252
 <212> PRT

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TALL-1 inhibitory peptibodies

<400> 114

Met Gly Ser Arg Cys Lys Tyr Lys Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Cys
 1 5 10 15

Phe His His Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

10

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

20

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 180 185 190

30

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

245

A-743 PCT.ST25.txt
250

<210> 115
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> TALL-1 inhibitory peptibodies

<400> 115

Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 210 215 220

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245 250

<210> 116
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> TALL-1 inhibitory peptibodies

10

<400> 116

Met Ser Ala Asp Cys Tyr Phe Asp Ile Leu Thr Lys Ser Asp Val Cys
 1 5 10 15

Thr Ser Ser Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

20

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

30

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

40

30

A-743 PCT.ST25.txt

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245 250

<210> 118
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> TALL-1 inhibitory peptibodies

<400> 118

Met Asp Leu Asn Cys Lys Tyr Asp Glu Leu Thr Tyr Lys Glu Trp Cys
 1 5 10 15

Gln Phe Asn Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg

10

20

30

40

30

A-743 PCT.ST25.txt

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 120
<211> 252
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> TALL-1 inhibitory peptibodies

<400> 120

Met Arg Asn His Cys Phe Trp Asp His Leu Leu Lys Gln Asp Ile Cys
1 5 10 15

Pro Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
65 70 75 80

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

10

20

30

40

A-743 PCT.ST25.txt

100	105	110
-----	-----	-----

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245 250

<210> 121
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> TALL-1 inhibitory peptibodies

<400> 121

Met Ala Asn Gln Cys Trp Trp Asp Ser Leu Thr Lys Lys Asn Val Cys
 1 5 10 15

Glu Phe Phe Gly Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 50 55 60

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 65 70 75 80

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
85 90 95

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
100 105 110

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
115 120 125

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
130 135 140

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
165 170 175

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
180 185 190

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
195 200 205

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
210 215 220

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
225 230 235 240

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245 250

<210> 122
<211> 252
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> TALL-1 inhibitory peptibodies

<400> 122

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
1 5 10 15

His Gly Leu Gly Gly Gly Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
20 25 30

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
35 40 45

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

10

20

30

40

30

A-743 PCT.ST25.txt

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp
 35 40 45
 Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly
 50 55 60
 Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 65 70 75 80
 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 85 90 95
 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 100 105 110
 Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 115 120 125
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 130 135 140
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 145 150 155 160
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 165 170 175
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 180 185 190
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 195 200 205
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 210 215 220
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 225 230 235 240
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 245 250 255
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 260 265 270
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 275 280 285
 Leu Ser Pro Gly Lys
 290

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

<210> 124
 <211> 293
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> TALL-1 inhibitory peptibodies

<400> 124

Met Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys
 1 5 10 15

His Gly Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala
 20 25 30

10

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Phe His Asp Cys Lys Trp
 35 40 45

Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His Gly Leu Gly Gly Gly Gly
 50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 85 90 95

20

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 115 120 125

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 130 135 140

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 145 150 155 160

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 165 170 175

30

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 180 185 190

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 195 200 205

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 210 215 220

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

40

A-743 PCT.ST25.txt

225	230	235	240
Pro	Pro	Val	Leu
Asp	Ser	Asp	Gly
Ser	Phe	Phe	Leu
Tyr	Ser	Lys	Leu
245	250	255	
Thr	Val	Asp	Lys
Ser	Arg	Trp	Gln
Gln	Gly	Asn	Val
Phe	Ser	Cys	Ser
260	265	270	
Val	Met	His	Glu
Ala	Leu	His	Asn
His	Asn	His	Tyr
Thr	Gln	Lys	Ser
Leu	Ser	Leu	Ser
275	280	285	
Leu	Ser	Pro	Gly
Lys			
290			

10

<210> 125
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Consensus Sequence

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1, 2 and)..(3)
 <223> X at (Pos 1, 2, 3) are absent or are amino acid residues (with on
 e of X1, X2, and X3 preferred to be C when one of X12,
 X13, an
 d X14 is C);

20

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> X at (Pos 7) is an amino acid residue (L preferred);

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> X at (Pos 9) is T or I (T preferred);

30

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> X at (Pos 12) is C, a neutral hydrophobic residue, or a basic res
 idue (W, C, or R
 preferred);

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> X at (Pos 13) is C, a neutral hydrophobic residue or is absent (V

40

A-743 PCT.ST25.txt

preferred);

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> X at (Pos 14) is any amino acid residue or is absent.

<400> 125

Xaa Xaa Xaa Lys Trp Asp Xaa Leu Xaa Lys Gln Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 126
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 126

Tyr Lys Gly Arg Gln Met Trp Asp Ile Leu Thr Arg Ser Trp Val Val
 1 5 10 15

Ser Leu

<210> 127
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 127

Gln Asp Val Gly Leu Trp Trp Asp Ile Leu Thr Arg Ala Trp Met Pro
 1 5 10 15

Asn Ile

<210> 128
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 128

Gln Asn Ala Gln Arg Val Trp Asp Leu Leu Ile Arg Thr Trp Val Tyr
 1 5 10 15

Pro Gln

A-743 PCT.ST25.txt

<210> 129
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 129

Gly Trp Asn Glu Ala Trp Trp Asp Glu Leu Thr Lys Ile Trp Val Leu
 1 5 10 15

Glu Gln

10

<210> 130
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 130

Arg Ile Thr Cys Asp Thr Trp Asp Ser Leu Ile Lys Lys Cys Val Pro
 1 5 10 15

Gln Ser

20

<210> 131
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 131

Gly Ala Ile Met Gln Phe Trp Asp Ser Leu Thr Lys Thr Trp Leu Arg
 1 5 10 15

Gln Ser

30

<210> 132
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 132

Trp Leu His Ser Gly Trp Trp Asp Pro Leu Thr Lys His Trp Leu Gln
 1 5 10 15

A-743 PCT.ST25.txt

Lys Val

<210> 133
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 133

Ser Glu Trp Phe Phe Trp Phe Asp Pro Leu Thr Arg Ala Gln Leu Lys
 1 5 10 15

10

Phe Arg

<210> 134
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 134

Gly Val Trp Phe Trp Trp Phe Asp Pro Leu Thr Lys Gln Trp Thr Gln
 1 5 10 15

20

Ala Gly

<210> 135
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 135

Met Gln Cys Lys Gly Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Lys Trp Cys Val Thr
 1 5 10 15

30

Asn Gly

<210> 136
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 136

40

A-743 PCT.ST25.txt

Leu Trp Ser Lys Glu Val Trp Asp Ile Leu Thr Lys Ser Trp Val Ser
 1 5 10 15

Gln Ala

<210> 137
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains
 <400> 137

10

Lys Ala Ala Gly Trp Trp Phe Asp Trp Leu Thr Lys Val Trp Val Pro
 1 5 10 15

Ala Pro

<210> 138
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains
 <400> 138

20

Ala Tyr Gln Thr Trp Phe Trp Asp Ser Leu Thr Arg Leu Trp Leu Ser
 1 5 10 15

Thr Thr

<210> 139
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains
 <400> 139

30

Ser Gly Gln His Phe Trp Trp Asp Leu Leu Thr Arg Ser Trp Thr Pro
 1 5 10 15

Ser Thr

<210> 140
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

A-743 PCT.ST25.txt

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 140

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

Arg Gly

<210> 141

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 141

Val Gly Lys Met Cys Gln Trp Asp Pro Leu Ile Lys Arg Thr Val Cys
 1 5 10 15

Val Gly

<210> 142

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 142

Cys Arg Gln Gly Ala Lys Phe Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Leu
 1 5 10 15

Gly Arg

<210> 143

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 143

Gly Gln Ala Ile Arg His Trp Asp Val Leu Thr Lys Gln Trp Val Asp
 1 5 10 15

Ser Gln

<210> 144

A-743 PCT.ST25.txt

<211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

 <400> 144
 Arg Gly Pro Cys Gly Ser Trp Asp Leu Leu Thr Lys His Cys Leu Asp
 1 5 10 15

Ser Gln

10

<210> 145
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

 <400> 145
 Trp Gln Trp Lys Gln Gln Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Met Val Trp
 1 5 10 15

Val Gly

20

<210> 146
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

 <400> 146
 Pro Ile Thr Ile Cys Arg Lys Asp Leu Leu Thr Lys Gln Val Val Cys
 1 5 10 15

Leu Asp

30

<210> 147
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

 <400> 147
 Lys Thr Cys Asn Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gln
 1 5 10 15

Gln Ala

A-743 PCT.ST25.txt

<210> 148
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 148

Lys Cys Leu Lys Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Val Thr
 1 5 10 15

10

Glu Val

<210> 149
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 149

Arg Cys Trp Asn Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Ile His
 1 5 10 15

20

Pro Trp

<210> 150
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 150

Asn Arg Asp Met Arg Lys Trp Asp Pro Leu Ile Lys Gln Trp Ile Val
 1 5 10 15

30

Arg Pro

<210> 151
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 151

Gln Ala Ala Ala Ala Thr Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Leu Val

A-743 PCT.ST25.txt
10

```
<210> 152
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
```

10

```
<210> 153
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
```

20

<210>	154
<211>	18
<212>	PRT
<213>	Artificial Sequence

30

```
<210> 155
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
```

```
<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains
```

A-743 PCT.ST25.txt

<400> 155

Cys Thr Ala Ala Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Ile Gln
1 5 10 15

Glu Lys

<210> 156

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 156

Val Ser Gln Cys Met Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gln
1 5 10 15

Gly Trp

<210> 157

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 157

Val Trp Gly Thr Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Pro Gln

<210> 158

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 158

Gly Trp Trp Glu Met Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Tyr Arg
1 5 10 15

Pro Gln

<210> 159

<211> 18

<212> PRT

A-743 PCT.ST25.txt

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 159

Thr Ala Gln Val Ser Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Leu Pro
 1 5 10 15

Leu Ala

<210> 160

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 160

Gln Leu Trp Gly Thr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Ile Gln
 1 5 10 15

Ile Met

<210> 161

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 161

Trp Ala Thr Ser Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Gln
 1 5 10 15

Asn Met

<210> 162

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 162

Gln Arg Gln Cys Ala Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Val Leu
 1 5 10 15

Phe Tyr

10

20

30

A-743 PCT.ST25.txt

<210> 163
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 163

Lys Thr Thr Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Arg Ile Cys
1 5 10 15

Gln Val

10

<210> 164
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 164

Leu Leu Cys Gln Gly Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Lys
1 5 10 15

Leu Arg

20

<210> 165
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 165

Leu Met Trp Phe Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Leu Val Pro
1 5 10 15

Thr Phe

30

<210> 166
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 166

Gln Thr Trp Ala Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Gly
1 5 10 15

A-743 PCT.ST25.txt

Pro Met

<210> 167
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 167

Asn Lys Glu Leu Leu Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Arg Gly
1 5 10 15

10

Arg Ser

<210> 168
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 168

Gly Gln Lys Asp Leu Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Tyr Val Arg
1 5 10 15

20

Gln Ser

<210> 169
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 169

Pro Lys Pro Cys Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Leu Gly
1 5 10 15

30

Ser Val

<210> 170
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 170

40

A-743 PCT.ST25.txt

Gly Gln Ile Gly Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Gln
 1 5 10 15

Thr Arg

<210> 171
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains
 <400> 171

10

Val Trp Leu Asp Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile His
 1 5 10 15

Pro Gln

<210> 172
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains
 <400> 172

20

Gln Glu Trp Glu Tyr Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Gly Trp
 1 5 10 15

Leu Arg

<210> 173
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains
 <400> 173

30

His Trp Asp Ser Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Val
 1 5 10 15

Gln Ala

<210> 174
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

A-743 PCT.ST25.txt

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 174

Thr Arg Pro Leu Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Leu Arg
 1 5 10 15

Val Gly

<210> 175

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 175

Ser Asp Gln Trp Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Phe Trp
 1 5 10 15

Asp Val

<210> 176

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 176

Gln Gln Thr Phe Met Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Ile Arg
 1 5 10 15

Arg His

<210> 177

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 177

Gln Gly Glu Cys Arg Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Phe Pro
 1 5 10 15

Gly Gln

<210> 178

40

A-743 PCT.ST25.txt

<211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

 <400> 178

 Gly Gln Met Gly Trp Arg Trp Asp Pro Leu Ile Lys Met Cys Leu Gly
 1 5 10 15

Pro Ser

10

<210> 179
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

 <400> 179

 Gln Leu Asp Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Lys Val Cys
 1 5 10 15

Ile Pro

20

<210> 180
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

 <400> 180

 His Gly Tyr Trp Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Ser
 1 5 10 15

Ser Glu

30

<210> 181
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Preferred TALL-1 modulating domains

 <400> 181

 His Gln Gly Gln Cys Gly Trp Asp Leu Leu Thr Arg Ile Tyr Leu Pro
 1 5 10 15

Cys His

40

A-743 PCT.ST25.txt

<210> 182
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 182

Leu His Lys Ala Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Cys Trp Pro
1 5 10 15

10

Met Gln

<210> 183
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 183

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

20

Thr Gly

<210> 184
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 184

Ile Thr Gln Asp Trp Arg Phe Asp Thr Leu Thr Arg Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

30

Leu Arg

<210> 185
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains

<400> 185

Gln Gly Gly Phe Ala Ala Trp Asp Val Leu Thr Lys Met Trp Ile Thr

40

1 5 A-743 PCT.ST25.txt 10 15

Val Pro

<210> 186
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains
<400> 186

10

Gly His Gly Thr Pro Trp Trp Asp Ala Leu Thr Arg Ile Trp Ile Leu
1 5 10 15

Gly Val

<210> 187
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains
<400> 187

20

Val Trp Pro Trp Gln Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Phe Val Phe
1 5 10 15

Gln Asp

<210> 188
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Preferred TALL-1 modulating domains
<400> 188

30

Trp Gln Gln Trp Ser Trp Lys Trp Asp Leu Leu Thr Arg Gln Tyr Ile
1 5 10 15

Ser Ser Ser

<210> 189
<211> 882
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> TALL-1 12-3 tandem dimer

A-743 PCT.ST25.txt

<400> 189
 atgcttccag gctgcaagtg ggatcttctt attaagcaat gggatatgca tccacttgga 60
 tccggttctg ctactgggtg ttccggctcc accgcaagct ctgggttcagg cagtgcgact 120
 catatgctgc cgggttgtaa atgggacctg ctgatcaaac agtgggtttg tgacccgctg 180
 ggtggaggcg gtggggtcga caaaactcac acatgtccac ctgttcacgc tccggaactc 240
 ctggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacacctt catgatctcc 300
 cggacccctg aggtcacatg cgtgggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 360
 ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggtg cataatgcc aagacaaagcc gcgggaggag 420
 cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtccctacccg tccctgcacca ggactggctg 480
 aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 540
 accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacctt gcccccatcc 600
 cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctatccc 660
 agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 720
 cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttctcttaca gcaagctcac cgtggacaag 780
 agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgcctccgtga tgcattgagga tctgcacaac 840
 cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat aa 882

10

<210> 190
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> Preferred linker

<400> 190

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
 1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Gly Met
 20

30

<210> 191
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Preferred linker

<400> 191

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly
 1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser
 20

A-743 PCT.ST25.txt

Ser Gly Ser Ala Thr Xaa Xaa Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser
 20 25 30

Gly Ser Thr Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Xaa Xaa
 35 40 45

<210> 195
 <211> 38
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 195

10

Met Arg Arg Gly Pro Arg Ser Leu Arg Gly Arg Asp Ala Pro Val Pro
 1 5 10 15

Thr Pro Cys Val Pro Thr Glu Cys Tyr Asp Leu Leu Val Arg Lys Cys
 20 25 30

Val Asp Cys Arg Leu Leu
 35

<210> 196
 <211> 41
 <212> PRT
 <213> Human

20

<400> 196

Thr Ile Cys Asn His Gln Ser Gln Arg Thr Cys Ala Ala Phe Cys Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu Gln Gly Lys Phe Tyr Asp His Leu Leu
 20 25 30

Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala Ser Ile
 35 40

<210> 197
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Human

30

<400> 197

Phe Val Ser Pro Ser Gln Glu Ile Arg Gly Arg Phe Arg Arg Met Leu
 1 5 10 15

Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu
 20 25 30

His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys
 35 40

【図 4 B】

FIG. 4B

3) AGP3-8-4-a

```

NdeI
|
TATGGTTCCTCTCTCTGACCTGCTAAACACTGTTTCGAGCTGTGTGAGGCGGT
1 -----+----- 60
ACCAAGGCAAGACACTGAGCGACTGATTGTGACAAAGCTTGGACACCTCGGCA

a      M V F F C D L L T K H C F E A G G G G -

SalI
|
GGGG
61 -----+----- 69
CCCCAGCT

a      G V D -
```

4) AGP3-12-4-a

2000年11月6日 12:53

```

NdeI
|
TATGGTTCCTCTCTCTGAAATACAAATGGGACGTTCTGACTAAACAGTGTTCACAC
1 -----+----- 60
ACCAAGAGCAACATTATGTTTACCTTCGAGACTGATTCTCACAAAGGTGGTG

a      M G S R C K Y K W D V L T K Q C F H H -

SalI
|
GGTGGAGCGGTGGG
61 -----+----- 81
CCACCTCGCCACCCAGCT

a      G G G G G V D -
```

【図 4 C】

FIG. 4C

5) AGP3-12-3-a

```

NdeI
|
TATGCTCCCGGTTTATAATGGAACCTGCTGATCAAGAGTGGTTTGTGACCGCTG
1 -----+----- 60
ACGACGGCCCAACATTTACCTTGGAGCTAGTTTGTACCCAAACACTGGGCGAC

a      M L P G C K W D L L I K Q W V C D P L -

SalI
|
GGTGGAGCGGTGGG
61 -----+----- 81
CCACCTCGCCACCCAGCT

a      G G G G G V D -
```

6) AGP3-12-5-a

```

NdeI
|
TATGCTGCTGCTGCTGTTACTTGGACATCCGACTAAATCTGAAGTCTGTACTTCTCT
1 -----+----- 60
ACAGACGCTGCAATGAGCTGTGAGCTGATTGAGCTGCAACATGAGAAGA

a      M S A D C Y F D I L T K S D V C T S S -

SalI
|
GGTGGAGCGGTGGG
61 -----+----- 81
CCACCTCGCCACCCAGCT

a      G G G G G V D -
```

【図 4 D】

FIG. 4D

7) AGP3-12-8-a

```

NdeI
|
TATGCTGAGAGCTGTATGTACGACAGCTGACTGTAATGTTCACTGTTCTAAACCTG
1 -----+----- 60
ACAGACTGCTGACATACATGCTGGTCTGACTGAGCATACAAAGTAGACAAGATTGGAC

a      M S D D C M Y D Q D T R M F I C S N L -

SalI
|
GGTGGAGCGGTGGG
61 -----+----- 81
CCACCTCGCCACCCAGCT

a      G G G G G V D -
```

8) AGP3-12-9-a

```

NdeI
|
TATGGACCTGAACTGTAAATACGAGAACTGACTTACAAAGAAATGGTTCAGTTCAAC
1 -----+----- 60
ACCTGGACTTGACATTTATGCTGCTGACTGAATGTTCTTACACACATCAAGTGTG

a      M D L N C K Y D E L T Y K E W C Q F N -

SalI
|
GGTGGAGCGGTGGG
61 -----+----- 81
CCACCTCGCCACCCAGCT

a      G G G G G V D -
```

【図 4 E】

FIG. 4E

9) AGP3-12-10-a

```

NdeI
|
TATGTTCCACGACTGTAAATACGACCTGCTGACTGTCAGATGTTGTACGGTCTG
1 -----+----- 60
ACAAAGTCTGACATTTATGCTGGAAGACTGAGCATCTACCAACAGTGCAGAC

a      M F H D C K Y D L L T R Q M V C H G L -

SalI
|
GGTGGAGCGGTGGG
61 -----+----- 81
CCACCTCGCCACCCAGCT

a      G G G G G V D -
```

10) AGP3-12-11-a

```

NdeI
|
TATGCTTAACCATGTTTCTGGGACCACTGCTGAACAGGACATCTGTCCTCTCCG
1 -----+----- 60
AAGCATTTGGTGAACAAAGACCTGTGTGACGACTTTGTCTGTAGACAGGAGAGC

a      M R N H C F W D H L L K Q D I C P S P -

SalI
|
GGTGGAGCGGTGGG
61 -----+----- 81
CCACCTCGCCACCCAGCT

a      G G G G G V D -
```

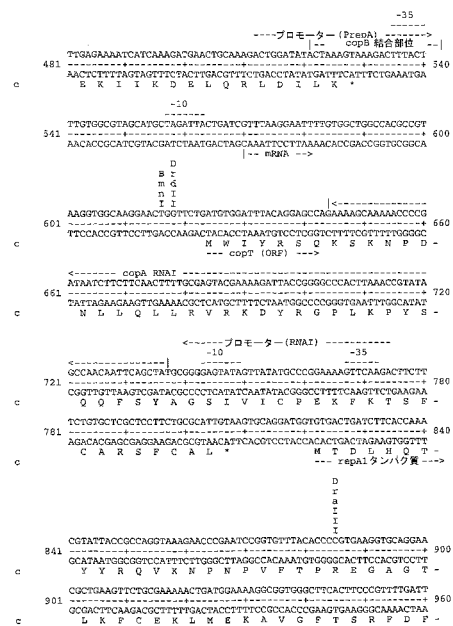
【 図 4 F 】

FIG. 4F



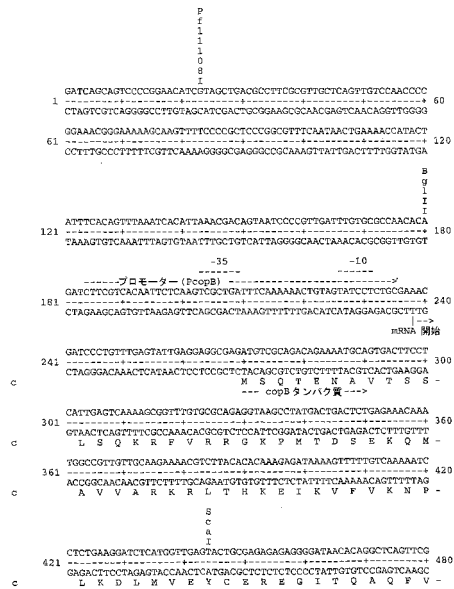
【 ㄨ 5 B 】

FIG. 5B



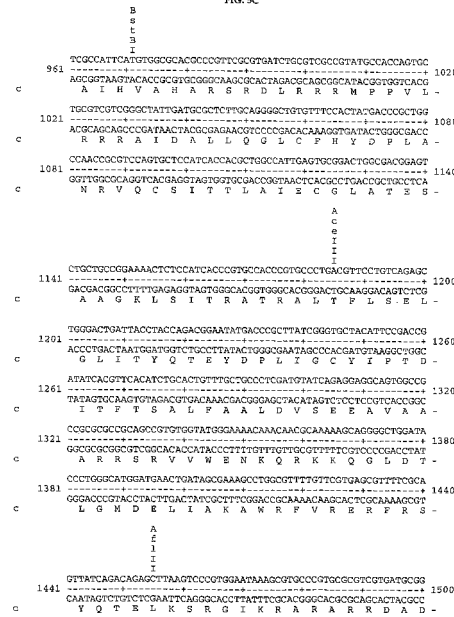
【 図 5 A 】

FIG. 5A



【 図 5 C 】

FIG. 5C



【 図 5 D 】

[illegible]

【 図 5 F 】

[illegible]

【 図 5 E 】

[illegible]

【 図 5 G 】

[illegible]

【 図 5 L 】

FIG. 5L

[illegible]

【 図 6 A 】

FIG. 6A

[illegible]

【 図 6 B 】

FIG. 6B

[illegible]

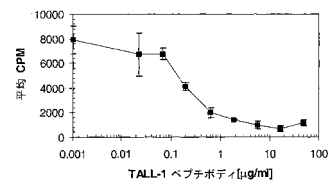
【 図 5 M 】

FIG. 5M

Q P E N Y K Y T T P P V L D S D G S F F -
 CTTCTACAGCAAGCTACCTGCTGACGAAGCACTGGCAAGAGGGAAGCTCTTCTACT-
 6781 GQADATGTCTTCAAGTGGCACTGTTCTTCGTACAGCGTCCCTCTCGAAGAAGTAC 6840
 L Y S K L T V D K A S C A C T A C C G A A G A G A G C T T C C T C T C T C
 6841 CTTCCGTGAACCTAGAGCTGTGACCAACCTACACCGAAGAAGAGCTCTTCTCTCTCC 6900
 GAGGCCTACTGATCTCCCGACAGCTGTGTGTGATGTCGCTTCTTCGAGAGGACAGAGG
 b S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P -
 BamHI
 GGTAAATATATGATCTCCGCGAAGAAGCAAGAGAGAGAGCAAGCTCGAAGAGCAATGA
 6901 CCCATTATACCTAGGGCGCTCTTCTCTCTTCTTCTTCTTCGGGCTTCTCTGACT 6960
 b G K * -
 BspI
 GTTGGCTGTGGCACTGCTGAGCAATAACTAGCTATACCTCTTGGGGCTCTTAAGGGCT-
 6961 CAACGCACGACGGTGGGACTGCTGTATGATGTATTGGGAGACCCCGAGATTTCGCCA 7020
 <----->
 7021 CTTAGGGGTTTCTTGTGAAGGAGGAGCAAGCTCTTCAAGCTTCTCAGCGGATATAATA 7080
 GAACTCCGCAAAACAGACTTCTCTCTGGCGAAGTCCGAGAAGTGGCTATTATAT
 T-7終止 -->> loop ヘアピン
 AATAACATCTCCGTCGATTAAGACCTCAGAACCTCATCTGTGATTCTTCGACAGCTCG
 7081 TCTCTTGGCGCAAGCTATACCTGAGCTCTTGGGTAGACCTAACCAAGCTCTTGAGC 7140
 <----->
 loop ヘアピン
 GTTCCGCGCGGCGCTTTTATTATGTGGAAGATCCAGCAACTGTCTCCGCAATCAGGCC
 7141 CAACGGCGCGCGCGCAAAATATACCCTCTTATGCTCTGTGACAGCGCGGTAGTTCGG 7200
 -- loop 終止 -->>
 ATGTCTCTGTACAGCGCCCACTTCAAGACAGCAAGCAGTCATTGAAACTTGAATCT
 7201 TACAGCAAGCTGTCTGGGAGTAAGCTTCTGTCTCTGTACTTGAACCTTTAG 7260
 CAGTCTCTTCTCAGCTCTGACGAGC 7285
 GTCAGGCAAGAGTGTGACGACTGGC

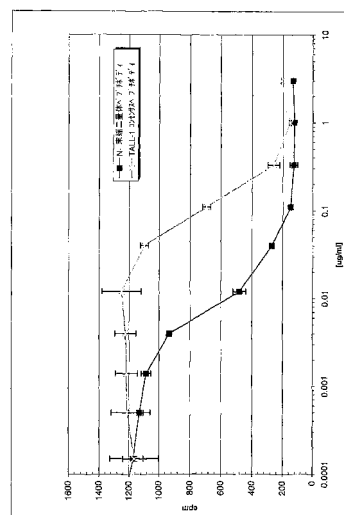
【圖 7】

FIG. 7

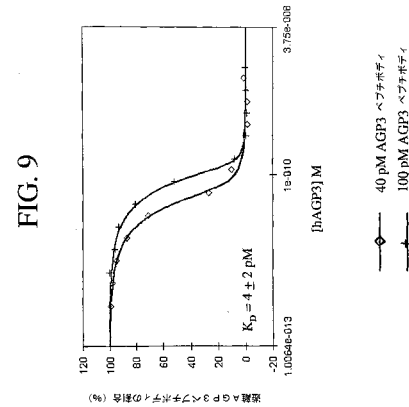


【 図 8 】

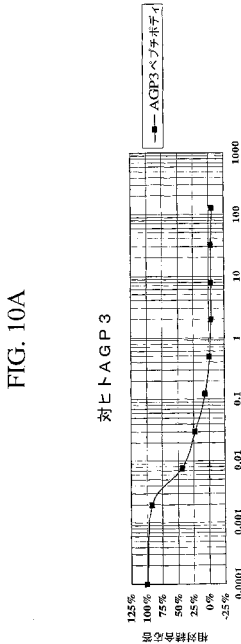
FIG. 8



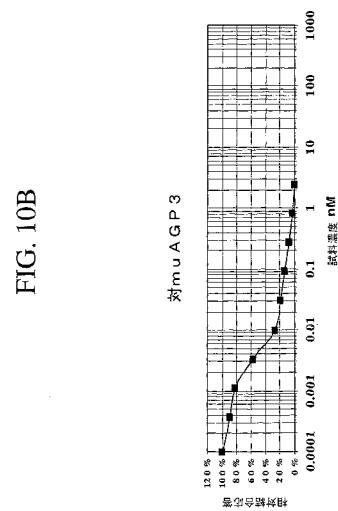
【 図 9 】



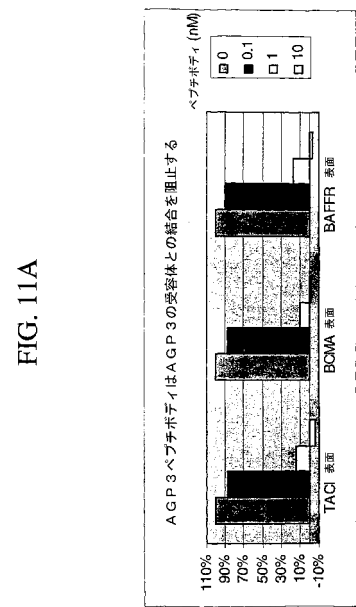
【 図 10 A 】



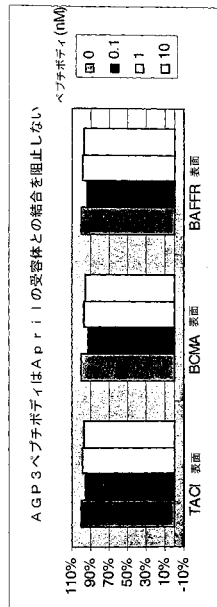
【 図 10 B 】



【 図 11 A 】

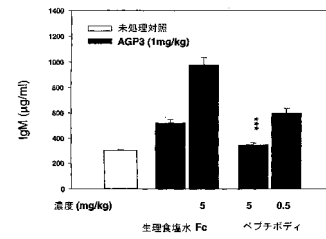


【図 11B】



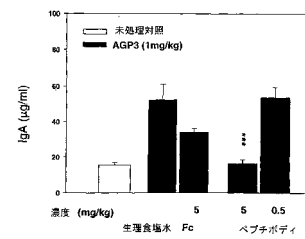
【図 12A】

FIG. 12A



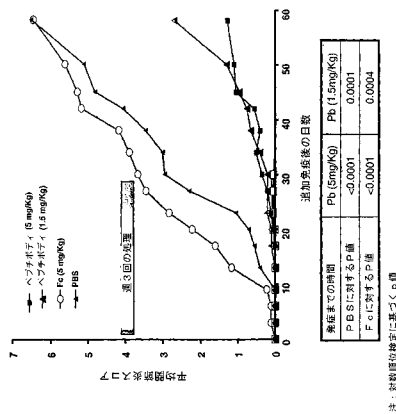
【図 12B】

FIG. 12B



【図 13】

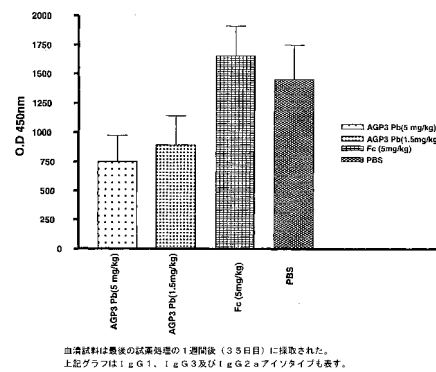
FIG. 13



【図 14】

FIG. 14

AGP3 ペプチボディ処理により低下した
抗コラーゲン I g G 2 b



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
C 0 7 K 7/08	(2006.01)	C 0 7 K 7/08
C 0 7 K 14/00	(2006.01)	C 0 7 K 14/00
C 0 7 K 16/44	(2006.01)	C 0 7 K 16/44
C 0 7 K 19/00	(2006.01)	C 0 7 K 19/00
C 1 2 N 1/21	(2006.01)	C 1 2 N 1/21

(72)発明者 スー, ハイリン
 アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 3 0 2 1、ムーアパーク、プロツソムウッド・1 1 6 2 3

(72)発明者 シュン, フェイ
 アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 6 2、サウザンド・オークス、オータム・リッジ・ドライブ・2 7 5 7

審査官 濱田 光浩

(56)参考文献 国際公開第0 0 / 0 2 4 7 8 2 (WO, A 1)
 Immunology, (1999), Vol. 96, p. 109-113
 J. Leukocyte Biology, (1999), Vol. 65, p. 680-683

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C12N 15/00
 C07K 7/00
 C07K 14/00
 C07K 19/00
 CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)
 PubMed
 REGISTRY(STN)