

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-508129
(P2025-508129A)

(43)公表日 令和7年3月21日(2025.3.21)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/24 (2006.01)	C 0 7 K	16/24		4 B 0 6 5
C 0 7 K	16/26 (2006.01)	C 0 7 K	16/26	Z N A	4 C 0 7 6
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 C 0 8 6
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全318頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-553795(P2024-553795)			(71)出願人	524336634
(86)(22)出願日	令和5年3月8日(2023.3.8)				イミュネッジ, インコーポレイテッド
(85)翻訳文提出日	令和6年11月8日(2024.11.8)				アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0
(86)国際出願番号	PCT/US2023/063996				2 7, アザートン, レーン プレイス
(87)国際公開番号	WO2023/172989				6 0
(87)国際公開日	令和5年9月14日(2023.9.14)			(71)出願人	515158308
(31)優先権主張番号	63/317,943				ザ ボード オブ トラスティーズ オブ
(32)優先日	令和4年3月8日(2022.3.8)				ザ レランド スタンフォード ジュニア
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				ユニバーシティー
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV				アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 4 3 0 5-2 0 3 8, スタンフォード, メイン クワッド ビー. オー. ボックス 2 0 3 8 6, オフィス オブ ザ セネラル カウンセル ビルディング 1 7 0, サードフロア
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 E P O 受容体アゴニストおよびアンタゴニスト

(57)【要約】

本開示は、高い親和性でヘテロー E P O R またはホモ E P O R または E P O に特異的に結合する、E P O アナログ、抗 E P O R 抗体、抗 E P O 抗体、およびその断片を提供する。操作された E P O も本明細書に提供される。E P O アナログ、抗 E P O R 抗体、抗 E P O 抗体、および／または操作された E P O を使用して、患者を処置することができる。E P O についての 2 つの主なチロシンキナーゼ受容体：ホモ二量体 E P O R / E P O R (「ホモ E P O R」) およびヘテロ二量体 E P O R / C D 1 3 1 受容体 (「ヘテロー E P O R」) がある。

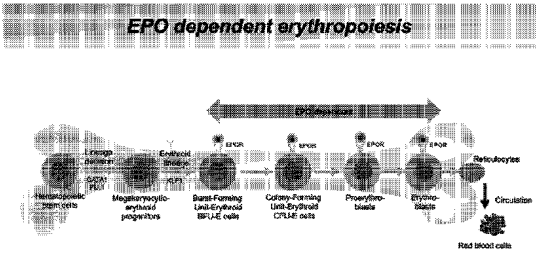


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗体またはその機能的断片を含む組成物であって、

(i) 前記抗体または前記その機能的断片が、エリスロポエチン (EPO) タンパク質、EPO 受容体サブユニット、CD131 サブユニット、またはその組合せを含む標的に選択的に結合し；

(ii) 前記標的への前記抗体または前記その機能的断片の結合が、(a) EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成であって、前記ヘテロ-EPO 受容体が前記 EPO 受容体サブユニットおよび前記 CD131 サブユニットを含む、形成を防止するか、

(b) 前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとの間のヘテロ-EPO 受容体の形成を防止するか、または (c) 前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとを含むヘテロ-EPO 受容体の活性化を防止し；

(iii) 前記抗体または前記その機能的断片が、抗原結合ドメインを含む、組成物。

10

【請求項 2】

前記抗原結合ドメインが、

VH 相補性決定領域 1 (VH-CDR1) 配列、VH-CDR2 配列、および VH-CDR3 配列を含む重鎖可変領域 (VH)；ならびに VL-CDR1 配列、VL-CDR2 配列、および VL-CDR3 配列を含む軽鎖可変領域 (VL)；

VH および カッパ鎖可変領域 (VK)；または

VH および ラムダ鎖可変領域

20

を含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

前記 EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成、

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の形成、または

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとを含むヘテロ-EPO 受容体の活性化

の前記防止が、免疫寛容を阻害する、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記 EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成、

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の形成、または

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとを含むヘテロ-EPO 受容体の活性化

の前記防止が、複数のエフェクター T 細胞への複数のナイーブ T 細胞の分化を促進する、請求項 3 に記載の組成物。

30

【請求項 5】

前記複数のエフェクター T 細胞が、表面抗原分類 45 (CD45)、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ (IFN γ)、グランザイム B、または腫瘍壊死因子アルファ (TNF α) を発現する、請求項 4 に記載の組成物。

40

【請求項 6】

前記 EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成、

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の形成、または

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとを含むヘテロ-EPO 受容体の活性化

の前記防止が、複数の調節性 T 細胞への複数のナイーブ T 細胞の分化を阻害する、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記複数の調節性 T 細胞が、表面抗原分類 4 (CD4)、CD25、CD127、フォ

50

ークヘッドボックス P 3 (F o x P 3)、C D 3 9、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体 C 型 (C D 4 5 R A)、インターロイキン- 2 (I L - 2)、または細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (C T L A - 4) を発現する、請求項 6 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記 E P O タンパク質-ヘテロ-E P O 受容体複合体の形成、

前記 E P O 受容体サブユニットと前記 C D 1 3 1 サブユニットとの間の前記ヘテロ-E P O 受容体の形成、または

前記 E P O 受容体サブユニットと前記 C D 1 3 1 サブユニットとを含むヘテロ-E P O 受容体の活性化

の前記防止が、複数の前駆消耗 T 細胞を増加させる、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

10

【請求項 9】

前記複数の前駆消耗 T 細胞が、表面抗原分類 4 4 (C D 4 4)、シグナル伝達リンパ球活性化分子ファミリーメンバー 6 (S L A M F 6) または T 細胞因子 1 (T C F 1) を発現する、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 1 0】

前記 E P O タンパク質-ヘテロ-E P O 受容体複合体の形成、

前記 E P O 受容体サブユニットと前記 C D 1 3 1 サブユニットとの間の前記ヘテロ-E P O 受容体の形成、または

前記 E P O 受容体サブユニットと前記 C D 1 3 1 サブユニットとを含むヘテロ-E P O 受容体の活性化

20

の前記防止が、がんにおける免疫応答を刺激する、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 1 1】

前記 E P O タンパク質-ヘテロ-E P O 受容体複合体の形成、

前記 E P O 受容体サブユニットと前記 C D 1 3 1 サブユニットとの間の前記ヘテロ-E P O 受容体の形成、または

前記 E P O 受容体サブユニットと前記 C D 1 3 1 サブユニットとを含むヘテロ-E P O 受容体の活性化

の前記防止が、がん細胞を免疫チェックポイント阻害剤に対して感受性にする、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 1 2】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (C T L A - 4) 阻害剤、プログラム細胞死 1 (P D - 1) 阻害剤、またはプログラム細胞死リガンド 1 (P D - L 1) 阻害剤を含む、請求項 1 1 に記載の組成物。

30

【請求項 1 3】

前記 C T L A - 4 阻害剤が、抗 C T L A - 4 抗体を含む、請求項 1 2 に記載の組成物。

【請求項 1 4】

前記 P D - 1 阻害剤が、抗 P D - 1 抗体を含む、請求項 1 2 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記 P D - L 1 阻害剤が、抗 P D - L 1 抗体を含む、請求項 1 2 に記載の組成物。

【請求項 1 6】

40

前記 E P O タンパク質-ヘテロ-E P O 受容体複合体の形成、

前記 E P O 受容体サブユニットと前記 C D 1 3 1 サブユニットとの間の前記ヘテロ-E P O 受容体の形成、または

前記 E P O 受容体サブユニットと前記 C D 1 3 1 サブユニットとを含むヘテロ-E P O 受容体の活性化

の前記防止が、腫瘍成長を減弱する、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

【請求項 1 7】

前記抗体または前記その機能的断片が、I g G、I g M、I g E、I g A、I g D であるか、それに由来するか、またはその組合せである、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の組成物。

50

【請求項 18】

前記抗体または前記その機能的断片が、モノクローナル抗体、グラフト化抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはその組合せを含む、請求項 1～17 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 19】

前記抗原結合ドメインが、Fab、Fab'、(Fab')₂、可変断片(Fv)、一本鎖可変断片(scFv)、scFv-Fc、Fab-Fc、VHH、非抗体スキャフォールド、またはその組合せを含む、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 20】

前記抗原結合ドメインが、単離されているか、組換えのものか、合成のものか、またはその組合せである、請求項 1～19 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項 21】

前記VH-CDR3が、配列番号63～250のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2～20 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 22】

前記VH-CDR3が、配列番号815～943のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2～20 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 23】

前記VH-CDR3が、配列番号1331～1466のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2～20 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項 24】

前記VL-CDR3が、配列番号251～438のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2～20 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 25】

前記VL-CDR3が、配列番号944～1072のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2～20 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 26】

前記VL-CDR3が、配列番号1467～1602のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2～20 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 27】

前記VHが、配列番号439～626のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2～20 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 28】

前記VHが、配列番号1073～1201のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2～20 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 29】

前記VHが、配列番号1603～1738のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2～20 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 30】

前記VLが、配列番号627～814のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2～20 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 31】

50

前記 V L が、配列番号 1 2 0 2 ～ 1 3 3 0 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2 ～ 2 0 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 3 2】

前記 V L が、配列番号 1 7 3 9 ～ 1 8 7 4 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2 ～ 2 0 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 3 3】

前記 V H が、配列番号 1 7 3 9 ～ 1 9 5 5 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2 ～ 2 0 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項 3 4】

前記 V K が、配列番号 1 9 5 6 ～ 1 9 7 2 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 2 ～ 2 0 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 3 5】

請求項 1 ～ 3 4 のいずれか一項に記載の組成物の抗体またはその機能的断片をコードする核酸配列を含む組成物。

【請求項 3 6】

請求項 1 ～ 3 5 のいずれか一項に記載の組成物を含む細胞。

20

【請求項 3 7】

疾患または状態の処置を必要とする対象において疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に、請求項 1 ～ 3 5 のいずれか一項に記載の組成物を投与するステップを含む、方法。

【請求項 3 8】

前記対象における免疫寛容を阻害するステップをさらに含む、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記免疫寛容を阻害するステップが、ワクチンが前記対象に投与された場合に、前記ワクチンに対する免疫応答を増加させることを含む、請求項 3 8 に記載の方法。

30

【請求項 4 0】

前記免疫寛容を阻害するステップが、前記対象におけるウイルス感染または細菌感染に対する免疫応答を増加させることを含む、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記免疫寛容を阻害するステップが、がんによって産生された抗原に対する免疫応答を増加させることを含む、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記疾患または前記状態が、がんまたは感染症を含む、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記がんが、肺がん、乳がん、結腸がん、脳がん、黒色腫、肝細胞癌、または肝臓がんを含む、請求項 4 2 に記載の方法。

40

【請求項 4 4】

前記がんが、黒色腫である、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記がんが、肝臓がんである、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記がんが、結腸がんである、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記がんが、乳がんである、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 8】

50

がんを処置するための方法であって、組成物またはその誘導体を、がんを有するか、またはがんを有するリスクがある対象に投与するステップを含み、前記組成物または前記その誘導体が、前記対象におけるヘテロ－エリスロポエチン（EPO）受容体活性を阻害する、方法。

【請求項 49】

前記ヘテロ－EPO受容体が、骨髄性細胞において発現される、請求項 48 に記載の方法。

【請求項 50】

抗体またはその機能的断片を含む組成物であって、

（i）前記抗体または前記その機能的断片が、エリスロポエチン（EPO）タンパク質、EPO受容体サブユニット、CD131サブユニット、またはその組合せを含む標的に選択的に結合し；

（ii）前記標的への前記抗体または前記その機能的断片の結合が、（a）EPOタンパク質－ヘテロ－EPO受容体複合体の形成であって、前記ヘテロ－EPO受容体が前記EPO受容体サブユニットおよび前記CD131サブユニットを含む、形成を促進するか、

（b）前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間のヘテロ－EPO受容体の形成を促進するか、または（c）前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとを含むヘテロ－EPO受容体の活性化を促進し；

（iii）前記抗体または前記その機能的断片が、抗原結合ドメインを含む、組成物。

【請求項 51】

前記抗原結合ドメインが、
VH相補性決定領域1（VH－CDR1）配列、VH－CDR2配列、およびVH－CDR3配列を含む重鎖可変領域（VH）；ならびにVL－CDR1配列、VL－CDR2配列、およびVL－CDR3配列を含む軽鎖可変領域（VL）；

VHおよびカッパ鎖可変領域（VK）；または

VHおよびラムダ鎖可変領域

を含む、請求項 50 に記載の組成物。

【請求項 52】

前記ヘテロ－EPO受容体が、骨髄性細胞において発現される、請求項 50 または請求項 51 に記載の組成物。

【請求項 53】

前記EPOタンパク質－ヘテロ－EPO受容体複合体の形成、

前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ－EPO受容体の形成、または

前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ－EPO受容体の活性化

の前記促進が、抗原特異的免疫寛容を誘導する、請求項 50 ～ 52 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 54】

前記EPOタンパク質－ヘテロ－EPO受容体複合体の形成、

前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ－EPO受容体の形成、または

前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ－EPO受容体の活性化

の前記促進が、複数のエフェクターT細胞への複数のナイーブT細胞の分化を阻害する、請求項 52 に記載の組成物。

【請求項 55】

前記複数のエフェクターT細胞が、表面抗原分類45（CD45）、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ（IFN γ ）、グランザイムB、または腫瘍壊死因子アルファ（TNF α ）を発現する、請求項 54 に記載の組成物。

【請求項 56】

前記 EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成、

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の形成、または

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の活性化

の前記促進が、複数の調節性 T 細胞への複数のナイーブ T 細胞の分化を促進する、請求項 52 に記載の組成物。

【請求項 57】

前記複数の調節性 T 細胞が、表面抗原分類 4 (CD4)、CD25、CD127、フォークヘッドボックス P3 (FoxP3)、CD39、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体 C 型 (CD45RA)、インターロイキン-2 (IL-2)、または細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (CTLA-4) を発現する、請求項 56 に記載の組成物。

【請求項 58】

前記抗体または前記その機能的断片が、ホモ-EPO 受容体活性に影響を及ぼさない、請求項 50～57 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 59】

前記抗体または前記その機能的断片が、少なくとも 2 つの EPO 受容体サブユニットを含むホモ-EPO 受容体と結合しない、請求項 50～57 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 60】

前記 EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成、

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の形成、または

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の活性化

の前記促進が、自己免疫疾患を有する対象または移植された臓器を有する対象に投与された場合に、免疫反応を低減する、請求項 50～59 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 61】

前記移植された臓器が、骨髄、腎臓、肝臓、肺、または心臓を含む、請求項 60 に記載の組成物。

【請求項 62】

前記自己免疫疾患が、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、または多発性硬化症を含む、請求項 60 に記載の組成物。

【請求項 63】

前記 EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成、

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の形成、または

前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の活性化

の前記促進が、全身性慢性炎症を患っている対象に投与された場合に、全身性慢性炎症を低減する、請求項 50～59 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 64】

前記抗体または前記その機能的断片が、IgG、IgM、IgE、IgA、IgD であるか、それに由来するか、またはその組合せである、請求項 50～63 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 65】

前記抗体または前記その機能的断片が、モノクローナル抗体、グラフト化抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはその組合せを含む、請求項 50～64 のいずれか一項に記載の組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 6 6】

前記抗原結合ドメインが、Fab、Fab'、(Fab')₂、可変断片(Fv)、一本鎖可変断片(scFv)、scFv-Fc、Fab-Fc、VHH、非抗体スキャフォールド、またはその組合せを含む、請求項 5 0～6 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 7】

前記抗原結合ドメインが、単離されているか、組換えのものか、合成のものか、またはその組合せである、請求項 5 0～6 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6 8】

前記 VH-CDR3 が、配列番号 6 3～2 5 0 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 1～6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項 6 9】

前記 VH-CDR3 が、配列番号 8 1 5～9 4 3 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 1～6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 0】

前記 VH-CDR3 が、配列番号 1 3 3 1～1 4 6 6 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 1～6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 1】

前記 VL-CDR3 が、配列番号 2 5 1～4 3 8 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 1～6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項 7 2】

前記 VL-CDR3 が、配列番号 9 4 4～1 0 7 2 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 1～6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 3】

前記 VL-CDR3 が、配列番号 1 4 6 7～1 6 0 2 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 1～6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 7 4】

前記 VH が、配列番号 4 3 9～6 2 6 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 1～6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 5】

前記 VH が、配列番号 1 0 7 3～1 2 0 1 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 0～6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 6】

前記 VH が、配列番号 1 6 0 3～1 7 3 8 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 0～6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 7 7】

前記 VL が、配列番号 6 2 7～8 1 4 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 0～6 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7 8】

前記 VL が、配列番号 1 2 0 2～1 3 3 0 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 5 0～6 7 のいずれか一項に記載の組

50

成物。

【請求項 79】

前記 V L が、配列番号 1739～1874 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 50～67 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 80】

前記 V H が、配列番号 1739～1955 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 50～67 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 81】

前記 V K が、配列番号 1956～1972 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 50～67 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 82】

前記抗体が、腫瘍に関連する抗原、免疫細胞に関連する細胞表面マーカー、または免疫細胞に関連するシグナル伝達分子に選択的に結合する結合ドメインをさらに含む、先行する請求項のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 83】

前記腫瘍に関連する抗原が、PD1、HER2、EpCAM、CEA、CEACAM5、EGFR、CD33、CD19、CD20、CD22、およびその任意の組合せからなる群より選択される、請求項 82 に記載の組成物。

【請求項 84】

前記細胞表面マーカーが、DEC205、XCR1、またはXCL1である、請求項 82 に記載の組成物。

【請求項 85】

前記シグナル伝達分子が、PD-L1、Tim3、またはTREM2である、請求項 82 に記載の組成物。

【請求項 86】

請求項 50～85 のいずれか一項に記載の組成物の抗体またはその機能的断片をコードする核酸配列を含む組成物。

【請求項 87】

請求項 50～86 のいずれか一項に記載の組成物を含む細胞。

【請求項 88】

疾患または状態の処置を必要とする対象において疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に、請求項 50～86 のいずれか一項に記載の組成物を投与するステップを含む、方法。

【請求項 89】

前記疾患または前記状態が、自己免疫疾患を含む、請求項 88 に記載の方法。

【請求項 90】

前記対象が、臓器移植または外来治療用タンパク質を受けたか、または受ける予定である、請求項 88 に記載の方法。

【請求項 91】

がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与するための組成物であって、前記組成物またはその誘導体が、前記対象の骨髄性細胞におけるエリスロポエチン（EPO）受容体活性を阻害する、組成物。

【請求項 92】

前記組成物が、抗体またはその機能的断片である、請求項 91 に記載の組成物。

【請求項 93】

前記骨髄性細胞が、マクロファージ、単球、樹状細胞、好塩基球、好中球、および好酸球からなる群より選択される、請求項 91 に記載の組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 9 4】

前記 EPO 受容体が、少なくとも 2 つの EPO 受容体サブユニットを含むホモ-EPO 受容体、または EPO 受容体サブユニットおよび CD131 サブユニットを含むヘテロ-EPO 受容体を含む、請求項 9 1 に記載の組成物。

【請求項 9 5】

前記 EPO 受容体が、EPO 受容体サブユニットおよび CD131 サブユニットを含むヘテロ-EPO 受容体である、請求項 9 1 に記載の組成物。

【請求項 9 6】

前記組成物が、抗体またはその機能的断片である、請求項 9 1 に記載の組成物。

【請求項 9 7】

前記組成物が、EPO 受容体の可溶性断片である、請求項 9 1 ～ 9 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 9 8】

前記可溶性断片が、EPO に結合して、複合体を形成することができる、請求項 9 7 に記載の組成物。

【請求項 9 9】

前記複合体が、EPO 受容体活性を防止することができる、請求項 9 8 に記載の組成物。

【請求項 1 0 0】

前記組成物またはその誘導体が、操作されたエリスロポエチン (EPO) タンパク質を含み、前記操作された EPO タンパク質が、骨髓性細胞におけるヘテロ-エリスロポエチン (EPO) 受容体活性を阻害する、請求項 9 1 に記載の組成物。

【請求項 1 0 1】

操作されたエリスロポエチン (EPO) タンパク質を含む組成物であって、前記操作された EPO タンパク質が、骨髓性細胞におけるヘテロ-エリスロポエチン (EPO) 受容体活性を阻害する、組成物。

【請求項 1 0 2】

前記操作された EPO タンパク質が、

K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、
K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、
R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、
K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、
E72R、N83A、K140A、K152A、または K154A

を含む少なくとも 1 つのアミノ酸置換を含む、請求項 1 0 0 または 1 0 1 に記載の組成物。

【請求項 1 0 3】

前記組成物またはその誘導体が、免疫寛容を阻害する、請求項 1 0 1 または 1 0 2 に記載の組成物。

【請求項 1 0 4】

前記組成物またはその誘導体が、免疫応答を促進する、請求項 1 0 1 または 1 0 2 に記載の組成物。

【請求項 1 0 5】

前記組成物またはその誘導体が、複数のエフェクター T 細胞への複数のナイーブ T 細胞の分化を促進する、請求項 1 0 1 または 1 0 2 に記載の組成物。

【請求項 1 0 6】

前記複数のエフェクター T 細胞が、表面抗原分類 45 (CD45)、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ (IFN γ)、グランザイム B、または腫瘍壊死因子アルファ (TNF α) を発現する、請求項 1 0 5 に記載の組成物。

【請求項 1 0 7】

前記組成物またはその誘導体が、複数の調節性 T 細胞への複数のナイーブ T 細胞の分化

10

20

30

40

50

を阻害する、請求項 101 または 102 に記載の組成物。

【請求項 108】

前記複数の調節性 T 細胞が、表面抗原分類 4 (CD4)、CD25、CD127、フォークヘッドボックス P3 (FoxP3)、CD39、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体 C 型 (CD45RA)、インターロイキン-2 (IL-2)、または細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (CTLA-4) を発現する、請求項 107 に記載の組成物。

【請求項 109】

前記組成物またはその誘導体が、複数の前駆消耗 T 細胞を増加させる、請求項 101 または 102 に記載の組成物。

【請求項 110】

前記複数の前駆消耗 T 細胞が、表面抗原分類 44 (CD44)、シグナル伝達リンパ球活性化分子ファミリーメンバー 6 (SLAMF6) または T 細胞因子 1 (TCF1) を発現する、請求項 109 に記載の組成物。

【請求項 111】

前記組成物またはその誘導体が、がんにおける免疫応答を刺激する、請求項 101 または 102 に記載の組成物。

【請求項 112】

前記組成物またはその誘導体が、がん細胞を免疫チェックポイント阻害剤に対して感受性にする、請求項 101 または 102 に記載の組成物。

【請求項 113】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (CTLA-4) 阻害剤、プログラム細胞死 1 (PD-1) 阻害剤、またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) 阻害剤を含む、請求項 112 に記載の組成物。

【請求項 114】

前記 CTLA-4 阻害剤が、抗 CTLA-4 抗体を含む、請求項 113 に記載の組成物。

【請求項 115】

前記 PD-1 阻害剤が、抗 PD-1 抗体を含む、請求項 113 に記載の組成物。

【請求項 116】

前記 PD-L1 阻害剤が、抗 PD-L1 抗体を含む、請求項 113 に記載の組成物。

【請求項 117】

前記組成物またはその誘導体が、前記がんのサイズを低減するか、または前記がんの成長を減弱する、請求項 101 または 102 に記載の組成物。

【請求項 118】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、R103A を含む、請求項 102 ~ 117 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 119】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、E72A を含む、請求項 102 ~ 117 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 120】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、Q58A を含む、請求項 102 ~ 117 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 121】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、L69A を含む、請求項 102 ~ 117 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 122】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、L80A を含む、請求項 102 ~ 117 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 123】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換が、N147K または R103A を含む、請求項 1

10

20

30

40

50

02～117のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項124】

前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、R150EまたはR103Aを含む、請求項102～117のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項125】

前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、Q65AまたはE72Rを含む、請求項102～117のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項126】

前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、Q65A、E72R、またはN83Aを含む、請求項102～117のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項127】

前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、K20A、K45A、またはK52Aを含む、請求項102～117のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項128】

前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、K140AまたはK152Aを含む、請求項102～117のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項129】

前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、K140A、K152A、またはK154Aを含む、請求項102～117のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項130】

前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、K20A、K45A、K52A、K140A、K152A、またはK154Aを含む、請求項102～117のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項131】

位置が、配列番号1とのアライメントによって決定される、請求項102～130のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項132】

前記操作されたEPOが、カルバミル化またはPEG化を含むアミノ酸改変をさらに含む、請求項101～131のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項133】

前記アミノ酸改変が、1つまたは複数のリシン残基のカルバミル化を含む、請求項132に記載の組成物。

【請求項134】

前記操作されたEPOタンパク質が、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、ヘテロ-EPO受容体に対するより低い結合親和性を有する、請求項101～133のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項135】

前記ヘテロ-EPO受容体活性が、前記ヘテロ-EPO受容体の細胞内ドメインのリン酸化、またはヤヌスチロシンキナーゼ2（Jak2）、シグナル伝達および転写活性化因子5（Stat5）、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ（MAPK）、細胞外シグナル調節キナーゼ（ERK）、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ（PI3K）、v-Aktマウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子／プロテインキナーゼ-B（Akt／PKB）、もしくはラパマイシンの哺乳動物標的（mTOR）の活性化を含む、請求項101～134のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項136】

前記ヘテロ-EPO受容体活性が、ウェスタンブロット、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）、フローサイトメトリーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、またはその組合せによって測定される、請求項101～135のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項137】

前記操作されたEPOタンパク質が、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、ホモ-EPO受容体に対するより高い結合親和性を有する、請求項101～136のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項138】

前記操作されたEPOタンパク質が、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、ホモ-EPO受容体に対する同じレベルの結合親和性を有する、請求項101～136のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項139】

前記操作されたEPOタンパク質が、ヘテロ-EPO受容体に対する結合親和性よりも低い結合親和性で、ホモ-EPO受容体に結合する、請求項101～136のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項140】

前記操作されたEPOタンパク質が、ホモ-EPO受容体活性に影響を及ぼさず、またホモ-EPO受容体活性を阻害しない、請求項101～136のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項141】

前記操作されたEPOが、少なくとも5時間の半減期を有する、請求項101～140のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項142】

前記操作されたEPOタンパク質が、配列番号1973～2019のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項101～141のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項143】

前記骨髓性細胞が、顆粒球、単球、マクロファージ、または樹状細胞を含む、請求項101～142のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項144】

請求項101～143のいずれか一項に記載の組成物の操作されたEPOタンパク質をコードする核酸配列を含む組成物。

【請求項145】

請求項101～144のいずれか一項に記載の組成物を含む細胞。

30

【請求項146】

疾患または状態の処置を必要とする対象において疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に、請求項101～144のいずれか一項に記載の組成物または請求項145に記載の細胞を投与するステップを含む、方法。

【請求項147】

貧血の処置を必要とする対象において貧血を処置する方法であって、前記対象に、請求項101～144のいずれか一項に記載の組成物または請求項145に記載の細胞を投与するステップを含み、前記対象が、がんを有する、方法。

【請求項148】

前記がんが、肺がん、乳がん、結腸がん、脳がん、黒色腫、肝細胞癌、または肝臓がんを含む、請求項101～147のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項149】

前記がんが、黒色腫である、請求項101～147のいずれか一項に記載の方法。

【請求項150】

前記がんが、肝臓がんである、請求項101～147のいずれか一項に記載の方法。

【請求項151】

前記がんが、結腸がんである、請求項101～147のいずれか一項に記載の方法。

【請求項152】

前記がんが、乳がんである、請求項101～147のいずれか一項に記載の方法。

【請求項153】

50

操作されたエリスロポエチン（EPO）タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、ヘテロ－エリスロポエチン（EPO）受容体活性を促進して、免疫応答を低減し、前記ヘテロ－EPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物。

【請求項154】

前記操作されたEPOタンパク質が、

少なくとも1つのアミノ酸改変、および／または

K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、
K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、
R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、
K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、
E72R、N83A、K140A、K152A、もしくはK154Aを含む少なくとも1
つのアミノ酸置換

を含む、請求項153に記載の組成物。

【請求項155】

前記ヘテロ－EPO受容体活性の前記促進が、自己免疫疾患を有する対象または移植された臓器を有する対象に投与された場合に、免疫反応を低減する、請求項153または154に記載の組成物。

【請求項156】

前記移植された臓器が、骨髄、腎臓、肝臓、肺、または心臓を含む、請求項155に記載の組成物。

【請求項157】

前記自己免疫疾患が、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、または多発性硬化症を含む、請求項155に記載の組成物。

【請求項158】

前記ヘテロ－EPO受容体活性の前記促進が、全身性慢性炎症を患っている対象に投与された場合に、全身性慢性炎症を低減する、請求項153または154に記載の組成物。

【請求項159】

前記ヘテロ－EPO受容体活性の前記促進が、抗原特異的免疫寛容を誘導する、請求項153～158のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項160】

前記ヘテロ－EPO受容体活性の前記促進が、複数のエフェクターT細胞への複数のナイーブT細胞の分化を阻害する、請求項153～158のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項161】

前記複数のエフェクターT細胞が、表面抗原分類45（CD45）、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ（IFN γ ）、グランザイムB、または腫瘍壊死因子アルファ（TNF α ）を発現する、請求項160に記載の組成物。

【請求項162】

前記ヘテロ－EPO受容体活性の前記促進が、複数の調節性T細胞への複数のナイーブT細胞の分化を促進する、請求項153～158のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項163】

前記複数の調節性T細胞が、表面抗原分類4（CD4）、CD25、CD127、フォークヘッドボックスP3（FoxP3）、CD39、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体C型（CD45RA）、インターロイキン－2（IL－2）、または細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4（CTLA－4）を発現する、請求項162に記載の組成物。

【請求項164】

前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、Q65Aを含む、請求項153～163のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項165】

前記少なくとも1つのアミノ酸置換が、N83Aを含む、請求項153～163のいずれ

10

20

30

40

50

れか一項に記載の組成物。

【請求項 1 6 6】

アミノ酸残基位置が、配列番号 1 とのアライメントによって決定される、請求項 1 5 3 ～ 1 6 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 6 7】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸改変が、カルバミル化または P E G 化を含む化学的改変を含む、請求項 1 5 3 ～ 1 6 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 6 8】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸改変が、1 つまたは複数のリシン残基のカルバミル化を含む、請求項 1 6 7 に記載の組成物。

【請求項 1 6 9】

前記少なくとも 1 つのアミノ酸改変が、すべてのリシン残基のカルバミル化を含む、請求項 1 6 8 に記載の組成物。

【請求項 1 7 0】

前記操作された E P O タンパク質が、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換なしの対応する野生型 E P O タンパク質と比較して、前記ヘテロ-E P O 受容体に対するより高い結合親和性を有する、請求項 1 5 3 ～ 1 6 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 7 1】

前記ヘテロ-E P O 受容体活性が、前記ヘテロ-E P O 受容体の細胞内ドメインのリン酸化、またはヤヌスチロシンキナーゼ 2 (J a k 2)、シグナル伝達および転写活性化因子 5 (S t a t 5)、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (M A P K)、細胞外シグナル調節キナーゼ (E R K)、ホスファチジルイノシトール 3 - キナーゼ (P I 3 K)、v - A k t マウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子 / プロテインキナーゼ - B (A k t / P K B)、もしくはラパマイシンの哺乳動物標的 (m T O R) の活性化を含む、請求項 1 5 3 ～ 1 7 0 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 7 2】

前記ヘテロ-E P O 受容体活性が、ウェスタンブロット、酵素結合免疫吸着検定法 (E L I S A)、フローサイトメトリーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、またはその組合せによって測定される、請求項 1 5 3 ～ 1 7 1 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 7 3】

前記操作された E P O タンパク質が、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換なしの対応する野生型 E P O タンパク質と比較して、少なくとも 2 つの E P O 受容体サブユニットを含むホモ-E P O 受容体に対するより低い結合親和性を有する、請求項 1 5 3 ～ 1 7 2 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 7 4】

前記操作された E P O タンパク質が、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換なしの対応する野生型 E P O タンパク質と比較して、ホモ-E P O 受容体に対する同じレベルの結合親和性を有する、請求項 1 5 3 ～ 1 7 2 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 7 5】

前記操作された E P O タンパク質が、前記ホモ-E P O 受容体活性に影響を及ぼさず、また前記ホモ-E P O 受容体活性を阻害しない、請求項 1 5 3 ～ 1 7 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 1 7 6】

前記ホモ-E P O 受容体活性が、前記ホモ-E P O 受容体の細胞内ドメインのリン酸化、またはヤヌスチロシンキナーゼ 2 (J a k 2)、シグナル伝達および転写活性化因子 5 (S t a t 5)、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (M A P K)、細胞外シグナル調節キナーゼ (E R K)、ホスファチジルイノシトール 3 - キナーゼ (P I 3 K)、v - A k t マウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子 / プロテインキナーゼ - B (A k t / P K B)、もしくはラパマイシンの哺乳動物標的 (m T O R) の活性化を含む、請求項 1 5 3 ～ 1 7 5

10

20

30

40

50

のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 177】

前記ホモ-EPO受容体活性が、ウェスタンブロット、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）、フローサイトメトリーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、またはその組合せによって測定される、請求項 176 に記載の組成物。

【請求項 178】

前記操作されたEPOが、少なくとも5時間の半減期を有する、請求項 153～177 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 179】

前記操作されたEPOタンパク質が、配列番号 1973～2019 のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 153～178 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 180】

前記ヘテロ-EPORが、免疫細胞上にある、請求項 153～179 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 181】

前記免疫細胞が、マクロファージ、樹状細胞、T細胞、ナチュラルキラー細胞、またはB細胞を含む、請求項 180 に記載の組成物。

【請求項 182】

前記T細胞が、細胞傷害性T細胞を含む、請求項 181 に記載の組成物。

【請求項 183】

前記ヘテロ-EPORが、内皮細胞上にある、請求項 153～179 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 184】

請求項 153～183 のいずれか一項に記載の組成物のEPOタンパク質をコードする核酸配列を含む組成物。

【請求項 185】

請求項 153～184 のいずれか一項に記載の組成物を含む細胞。

【請求項 186】

疾患または状態の処置を必要とする対象において疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に、請求項 153～184 のいずれか一項に記載の組成物または請求項 185 に記載の細胞を投与するステップを含む、方法。

【請求項 187】

前記疾患または前記状態が、自己免疫疾患を含む、請求項 186 に記載の方法。

【請求項 188】

前記対象が、臓器移植または外来治療用タンパク質を受けたか、または受ける予定である、請求項 186 に記載の方法。

【請求項 189】

操作されたエリスロポエチン（EPO）タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、ホモエリスロポエチン（EPO）受容体活性を促進し、ヘテロ-EPO受容体活性に対して低減された効果を有し、前記ホモ-EPO受容体が、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含み、前記ヘテロ-EPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物。

【請求項 190】

前記操作されたEPOタンパク質が、
K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、
K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、
R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、
K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、
E72R、N83A、K140A、K152A、またはK154A

10

20

30

40

50

を含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、請求項189に記載の組成物。

【請求項191】

前記操作されたEPOが、前記ヘテロ-EPO受容体活性に対して実質的な効果を有さない、請求項189または190に記載の組成物。

【請求項192】

前記操作されたEPOが、前記ヘテロ-EPO受容体活性を阻害する、請求項189または190に記載の組成物。

【請求項193】

前記操作されたEPOタンパク質が、E72A、Q58A、L69A、またはL80Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含む、請求項190に記載の組成物。

10

【請求項194】

前記操作されたEPOタンパク質が、Q65A、E72R、およびN83Aアミノ酸置換を含む、請求項190に記載の組成物。

【請求項195】

前記操作されたEPOタンパク質が、K20A、K45A、およびK52Aアミノ酸置換を含む、請求項190に記載の組成物。

【請求項196】

位置が、配列番号1とのアライメントによって決定される、請求項189～192のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項197】

前記操作されたEPOが、カルバミル化またはPEG化を含むアミノ酸改変をさらに含む、請求項189～193のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項198】

前記アミノ酸改変が、1つまたは複数のリシン残基のカルバミル化を含む、請求項197に記載の組成物。

【請求項199】

前記操作されたEPOタンパク質が、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、前記ホモ-EPO受容体に対するより高い結合親和性を有する、請求項189～198のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項200】

前記ホモ-EPO受容体活性が、前記ホモ-EPO受容体の細胞内ドメインのリン酸化、またはヤヌスチロシンキナーゼ2 (Jak2)、シグナル伝達および転写活性化因子5 (Stat5)、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPK)、細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK)、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ (PI3K)、v-Aktマウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子/プロテインキナーゼ-B (Akt/PKB)、もしくはラパマイシンの哺乳動物標的 (mTOR) の活性化を含む、請求項189～199のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項201】

前記ホモ-EPO受容体活性が、ウェスタンブロット、酵素結合免疫吸着検定法 (ELISA)、フローサイトメトリーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、またはその組合せによって測定される、請求項189～200のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項202】

前記操作されたEPOタンパク質が、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、前記ヘテロ-EPO受容体に対する同じレベルの結合親和性を有する、請求項189～201のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項203】

前記ヘテロ-EPOR活性が、前記ホモ-EPO受容体の細胞内ドメインのリン酸化、またはヤヌスチロシンキナーゼ2 (Jak2)、シグナル伝達および転写活性化因子5 (Stat5)、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPK)、細胞外シグナル調

50

節キナーゼ（ERK）、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ（PI3K）、v-Aktマウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子／プロテインキナーゼ-B（Akt／PKB）、もしくはラパマイシンの哺乳動物標的（mTOR）の活性化を含む、請求項189～202のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項204】

前記ヘテロ-EPO受容体活性が、ウエスタンブロット、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）、フローサイトメトリーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、またはその組合せによって測定される、請求項189～203のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項205】

前記操作されたEPOタンパク質が、免疫寛容に影響を及ぼさない、請求項202～204のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項206】

前記操作されたEPOタンパク質が、複数のエフェクターT細胞への複数のナイーブT細胞の分化に影響を及ぼさない、請求項205に記載の組成物。

【請求項207】

前記複数のエフェクターT細胞が、表面抗原分類45（CD45）、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ（IFN γ ）、グランザイムB、または腫瘍壊死因子アルファ（TNF α ）を発現する、請求項206に記載の組成物。

【請求項208】

前記操作されたEPOタンパク質が、複数の調節性T細胞への複数のナイーブT細胞の分化に影響を及ぼさない、請求項205に記載の組成物。

【請求項209】

前記複数の調節性T細胞が、表面抗原分類4（CD4）、CD25、CD127、フォークヘッドボックスP3（FoxP3）、CD39、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体C型（CD45RA）、インターロイキン-2（IL-2）、または細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4（CTLA-4）を発現する、請求項208に記載の組成物。

【請求項210】

前記操作されたEPOタンパク質が、免疫応答に影響を及ぼさない、請求項202～204のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項211】

前記操作されたEPOが、少なくとも5時間の半減期を有する、請求項189～210のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項212】

前記操作されたEPOタンパク質が、配列番号1973～2019のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項189～211のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項213】

前記ホモ-EPORが、赤血球前駆細胞上にある、請求項189～211のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項214】

請求項189～213のいずれか一項に記載の組成物のEPOタンパク質をコードする核酸配列を含む組成物。

【請求項215】

請求項189～214のいずれか一項に記載の組成物を含む細胞。

【請求項216】

疾患または状態の処置を必要とする対象において疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に、請求項189～214のいずれか一項に記載の組成物または請求項215に記載の細胞を投与するステップを含む、方法。

【請求項217】

10

20

30

40

50

前記疾患または前記状態が、がんを含む、請求項 2 1 6 に記載の方法。

【請求項 2 1 8】

貧血の処置を必要とする対象において貧血を処置する方法であって、前記対象に、請求項 1 8 9 ～ 2 1 4 のいずれか一項に記載の組成物または請求項 2 1 5 に記載の細胞を投与するステップを含み、前記対象が、がんを有する、方法。

【請求項 2 1 9】

前記がんが、肺がん、乳がん、結腸がん、脳がん、黒色腫、肝細胞癌、または肝臓がんを含む、請求項 2 1 7 または 2 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 2 0】

前記がんが、黒色腫である、請求項 2 1 7 または 2 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 2 1】

前記がんが、肝臓がんである、請求項 2 1 7 または 2 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 2 2】

前記がんが、結腸がんである、請求項 2 1 7 または 2 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 2 3】

前記がんが、乳がんである、請求項 2 1 7 または 2 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 2 4】

がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与するための組成物であって、前記対象の骨髓性細胞におけるエリスロポエチン（EPO）受容体活性を阻害する化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含む、組成物。

【請求項 2 2 5】

前記 EPO 受容体が、ヘテロ-EPO 受容体である、請求項 2 2 4 に記載の組成物。

【請求項 2 2 6】

前記ヘテロ-EPO 受容体が、EPO サブユニットおよび CD 1 3 1 サブユニットを含む、請求項 2 2 4 または 2 2 5 に記載の組成物。

【請求項 2 2 7】

前記ヘテロ-EPO 受容体が、マクロファージ、単球、樹状細胞、好塩基球、好中球、または好酸球上にある、請求項 2 2 4 ～ 2 2 6 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 2 8】

前記化合物が、低酸素誘導因子（HIF）、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、エストロゲン受容体、ホスホリパーゼ C- γ 1、または Cbl/p85/Epsin-1 経路の促進の阻害剤である、請求項 2 2 4 ～ 2 2 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 2 9】

前記化合物が、低酸素誘導因子（HIF）、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、またはエストロゲン受容体の阻害剤である、請求項 2 2 4 ～ 2 2 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 3 0】

前記化合物が、低酸素誘導因子（HIF）の阻害剤である、請求項 2 2 4 ～ 2 2 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 3 1】

前記化合物が、CAY 1 0 5 8 5（LW6）、ケトミン、クリシン、ジメチル-ビスフェノール A、エチノマイシン、2-メトキシエストラジオール（2ME2）、SYN-5、PX-478、2HCL、KC7F2、GN44028、ベルコペプチン、FM19G11、PT2399、PT2385、ベルズチファン、HIF-2 α -IN-1、HIF-2 α -IN-2、HIF-2 α -IN-3、HIF-2 α -IN-4、TC-S700、IDF-11774、ペオニフロリン、エメチン塩酸塩、グルコサミン、PX12、ビテキシン、BAY87-2243、リフィシグアト（YC-1）、ポリノスタット、タネスピマイシン、シリビニン、ジアリルトリスルフィド（DATS）、ヘルボキシジエン（GEX1A）、セラストロール、フェネチルイソチオシアネート（PEITC）、グリオ

10

20

30

40

50

トキシシン、スルフォラファン、アクリフラビン、エモジン、カルデノリド、3,3'-ジインドリルメタン (DIM)、シュードラル酸-B (PAB)、ババキニン、アンドログラホリド、イソリキリチゲニン、ウォンドニン、チモキノン、またはクルクミンである、請求項224~230のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項232】

前記化合物が、CAY10585 (LW6)、ケトミン、クリシン、ジメチル-ビスフェノールA、エチノマイシン、2-メトキシエストラジオール (2ME2)、SYN-5、PX-478 2HCl、KC7F2、GN44028、ベルコペプチン、FM19G11、PT2399、PT2385、ベルズチファン、HIF-2a-IN-1、HIF-2a-IN-2、HIF-2a-IN-3、HIF-2a-IN-4、TC-S700、IDF-11774、ペオニフロリン、エメチン塩酸塩、グルコサミン、PX12、ビテキシン、BAY87-2243、リフィシグアト (YC-1)、ポリノスタット、またはタネスピマイシンである、請求項224~231のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項233】

前記化合物が、ケトミン、エチノマイシン、PT2399、ベルズチファン、ポリノスタット、またはタネスピマイシンである、請求項224~232のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項234】

前記化合物が、シリビニン、ジアリルトリスルフィド (DATS)、ヘルボキシジエン (GEX1A)、セラストロール、フェネチルイソチオシアネート (PEITC)、グリオトキシシン、スルフォラファン、アクリフラビン、エモジン、カルデノリド、3,3'-ジインドリルメタン (DIM)、シュードラル酸-B (PAB)、ババキニン、アンドログラホリド、イソリキリチゲニン、ウォンドニン、チモキノン、またはクルクミンである、請求項224~231のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項235】

がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与するための組成物であって、免疫チェックポイント遮断抵抗性が前記対象において逆転されるようにエリスロポエチン (EPO) 受容体活性を阻害する化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含む、組成物。

【請求項236】

前記EPO受容体が、ヘテロ-EPO受容体である、請求項235に記載の組成物。

30

【請求項237】

前記ヘテロ-EPO受容体が、EPOサブユニットおよびCD131サブユニットを含む、請求項235または236に記載の組成物。

【請求項238】

前記免疫チェックポイント遮断が、CTLA-4、PD-1、またはPD-L1の阻害剤である、請求項235~237のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項239】

前記CTLA-4、PD-1、またはPD-L1の阻害剤が、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、センプリマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、イピリムマブ、リリルマブ、およびBMS-986016である、請求項238に記載の組成物。

40

【請求項240】

前記ヘテロ-EPO受容体が、マクロファージ、単球、樹状細胞、好塩基球、好中球、または好酸球上にある、請求項235~239のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項241】

前記化合物が、低酸素誘導因子 (HIF)、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、エストロゲン受容体、ホスホリパーゼC- γ 1、またはCbl/p85/Epsin-1経路の阻害剤である、請求項235~240のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項242】

前記化合物が、低酸素誘導因子 (HIF)、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、ま

50

たは I L - 6 の阻害剤である、請求項 2 3 5 ~ 2 4 1 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 4 3】

前記化合物が、低酸素誘導因子 (HIF) の阻害剤である、請求項 2 3 5 ~ 2 4 2 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 4 4】

前記化合物が、C A Y 1 0 5 8 5 (L W 6)、ケトミン、クリシン、ジメチル-ビスフェノール A、エチノマイシン、2-メトキシエストラジオール (2 M E 2)、S Y P - 5、P X - 4 7 8 2 H C l、K C 7 F 2、G N 4 4 0 2 8、ベルコペプチン、F M 1 9 G 1 1、P T 2 3 9 9、P T 2 3 8 5、ベルズチファン、H I F - 2 a - I N - 1、H I F - 2 a - I N - 2、H I F - 2 a - I N - 3、H I F - 2 a - I N - 4、T C - S 7 0 0、I D F - 1 1 7 7 4、ペオニフロリン、エメチン塩酸塩、グルコサミン、P X 1 2、ビテキシン、B A Y 8 7 - 2 2 4 3、リフィシグアト (Y C - 1)、ポリノスタット、タネスピマイシン、シリビニン、ジアリルトリスルフィド (D A T S)、ヘルボキシジエン (G E X 1 A)、セラストロール、フェネチルイソチオシアネート (P E I T C)、グリオトキシン、スルフォラファン、アクリフラビン、エモジン、カルデノリド、3, 3'-ジインドリルメタン (D I M)、シュードラル酸-B (P A B)、ババキニン、アンドログラホリド、イソリキリチゲニン、ウォンドニン、チモキノン、またはクルクミンである、請求項 2 3 5 ~ 2 4 3 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項 2 4 5】

前記化合物が、C A Y 1 0 5 8 5 (L W 6)、ケトミン、クリシン、ジメチル-ビスフェノール A、エチノマイシン、2-メトキシエストラジオール (2 M E 2)、S Y P - 5、P X - 4 7 8 2 H C l、K C 7 F 2、G N 4 4 0 2 8、ベルコペプチン、F M 1 9 G 1 1、P T 2 3 9 9、P T 2 3 8 5、ベルズチファン、H I F - 2 a - I N - 1、H I F - 2 a - I N - 2、H I F - 2 a - I N - 3、H I F - 2 a - I N - 4、T C - S 7 0 0、I D F - 1 1 7 7 4、ペオニフロリン、エメチン塩酸塩、グルコサミン、P X 1 2、ビテキシン、B A Y 8 7 - 2 2 4 3、リフィシグアト (Y C - 1)、ポリノスタット、またはタネスピマイシンである、請求項 2 3 5 ~ 2 4 4 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項 2 4 6】

前記化合物が、ケトミン、エチノマイシン、P T 2 3 9 9、ベルズチファン、ポリノスタット、またはタネスピマイシンである、請求項 2 3 5 ~ 2 4 5 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 2 4 7】

前記化合物が、シリビニン、ジアリルトリスルフィド (D A T S)、ヘルボキシジエン (G E X 1 A)、セラストロール、フェネチルイソチオシアネート (P E I T C)、グリオトキシン、スルフォラファン、アクリフラビン、エモジン、カルデノリド、3, 3'-ジインドリルメタン (D I M)、シュードラル酸-B (P A B)、ババキニン、アンドログラホリド、イソリキリチゲニン、ウォンドニン、チモキノン、またはクルクミンである、請求項 2 3 5 ~ 2 4 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 2 4 8】

対象に投与するための組成物であって、ヘテロ-エリスロポエチン (E P O) 受容体活性を促進する化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含み、前記ヘテロ-E P O 受容体が、抗原に対する免疫寛容が前記対象において増加するように E p o R サブユニットおよび C D 1 3 1 サブユニットを含み、前記化合物が、ホモ-E P O 受容体活性に対して実質的な効果を有さず、前記ホモ-E P O 受容体が、少なくとも 2 つの E P O 受容体サブユニットを含む、組成物。

40

【請求項 2 4 9】

前記ヘテロ-E P O 受容体が、マクロファージ、単球、樹状細胞、好塩基球、好中球、または好酸球上にある、請求項 2 4 8 に記載の組成物。

【請求項 2 5 0】

前記化合物が、H I F - プロリルヒドロキシラーゼ (P H D)、N H F - 4、G A T A

50

因子、IL-17、AKT/NFκB/HIF1経路、エストロゲン受容体、上皮膜タンパク質1 (EMP-1) の阻害剤である、請求項248または249に記載の組成物。

【請求項251】

前記化合物が、HIF-プロリルヒドロキシラーゼ (PHD)、NHF-4、GATA因子、またはIL-17の阻害剤である、請求項248～250のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項252】

前記化合物が、HIF-プロリルヒドロキシラーゼ (PHD) の阻害剤である、請求項248～251のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項253】

前記化合物が、ロキサデュスタット、バダデュスタット、エナロデュスタット、デシデュスタット、モリデュスタット、ジメチルオキサロイルグリシン、ダプロデュスタット、プロリルヒドロキシラーゼ阻害剤1、TM6089、TRC160334、PHD-1-IN-1、MK-8617、JNJ-42041935、TP0463518、IOX (JICL38)、IOX4、IOX3 (FG-2216)、デンシチン、HIF-PHD-IN-1、AKB-6899、VH298、M1001、ML228、ジメチルオキサリルグリシン (DMOG)、ミトキサントロン、アンジオテンシンII (Ang II)、または17β-エストラジオールである、請求項248～252のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項254】

前記化合物が、ロキサデュスタット、バダデュスタット、エナロデュスタット、デシデュスタット、モリデュスタット、ジメチルオキサロイルグリシン、ダプロデュスタット、プロリルヒドロキシラーゼ阻害剤1、TM6089、TRC160334、PHD-1-IN-1、MK-8617、JNJ-42041935、TP0463518、IOX (JICL38)、IOX4、IOX3 (FG-2216)、デンシチン、HIF-PHD-IN-1、AKB-6899、VH298、M1001、ML228、またはジメチルオキサリルグリシン (DMOG) である、請求項248～253のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項255】

前記化合物が、ミトキサントロン、アンジオテンシンII (Ang II)、または17β-エストラジオールである、請求項248～253のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項256】

前記化合物が、EPORアゴニストである、請求項248または249に記載の組成物。

【請求項257】

前記化合物が、LG5640である、請求項256に記載の組成物。

【請求項258】

前記免疫寛容が、移植臓器または自己抗原に対するものである、請求項248～257のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項259】

前記免疫寛容が、移植臓器に対するものである、請求項248～258のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項260】

前記免疫寛容が、免疫抑制状態に対するものである、請求項248～259のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項261】

前記免疫寛容が、自己抗原に対するものである、請求項248～258のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項262】

前記免疫寛容が、自己抗原に対するものである、請求項248～258のいずれか一項

10

20

30

40

50

に記載の組成物。

【請求項 263】

がんを有する対象に投与するための組成物であって、RNA干渉（RNAi）分子を含み、前記RNAiが、エリスロポエチン（EPO）タンパク質をコードするmRNA分子、EPO受容体サブユニットをコードするmRNA分子、CD131サブユニットをコードするmRNA分子、およびその任意の組合せからなる群より選択されるRNA分子に結合し、前記RNAiを前記対象に投与する際に、前記対象の腫瘍量が、低減される、組成物。

【請求項 264】

前記腫瘍量が、 0.5 cm^3 未満に低減される、請求項 263に記載の組成物。

10

【請求項 265】

前記腫瘍量が、 0.2 cm^3 未満に低減される、請求項 263または264に記載の組成物。

【請求項 266】

前記腫瘍量が、約 0.2 cm^3 に低減される、請求項 263または264に記載の組成物。

【請求項 267】

がんを有する対象に投与するための組成物であって、RNA干渉（RNAi）分子を含み、前記RNAiが、エリスロポエチン（EPO）タンパク質をコードするmRNA分子、EPO受容体サブユニットをコードするmRNA分子、CD131サブユニットをコードするmRNA分子、およびその任意の組合せからなる群より選択されるRNA分子に結合し、前記RNAiを前記対象に投与する際に、前記対象の免疫応答が、より多くのエフェクターT（ T_{eff} ）細胞を誘導することによって、増加する、組成物。

20

【請求項 268】

前記がんが、肝細胞癌である、請求項 263～267のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 269】

前記RNAiが、対象におけるEPO半減期を低減する、請求項 263～268のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 270】

前記RNAiが、対象におけるEPOレベルを低減する、請求項 263～268のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 271】

低減された前記EPO半減期が、生存率を増加させる、請求項 269に記載の組成物。

【請求項 272】

前記生存率が、2倍に増加する、請求項 271に記載の組成物。

【請求項 273】

前記RNAiが、ナノ粒子中にある、請求項 263～272のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 274】

前記ナノ粒子が、脂質ナノ粒子である、請求項 273に記載の組成物。

40

【請求項 275】

前記RNAi分子が、siRNA分子、miRNA分子、アンチセンスRNA分子、またはlncRNA分子である、請求項 263～274のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 276】

前記RNAiが、siRNA分子である、請求項 263～275のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 277】

前記siRNA分子が、約15～約30ヌクレオチドの配列の長さを有する、請求項 276に記載の組成物。

【請求項 278】

50

前記 s i R N A 分子が、約 21 ～ 約 30 ヌクレオチドの配列の長さを有する、請求項 276 または 277 に記載の組成物。

【請求項 279】

前記 s i R N A 分子が、二本鎖または一本鎖である、請求項 276 ～ 278 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 280】

前記一本鎖 s i R N A 分子が、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 34、配列番号 35、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48、配列番号 49、配列番号 50、配列番号 51、配列番号 52、配列番号 53、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 56、配列番号 57、配列番号 58、配列番号 59、配列番号 60、配列番号 61、および配列番号 62 の少なくとも 1 つと少なくとも 80 %、85 %、90 %、または 95 % 同一である核酸配列を含む、請求項 279 に記載の組成物。

10

【請求項 281】

前記一本鎖 s i R N A 分子が、配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、配列番号 19、配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 34、配列番号 35、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 38、配列番号 39、配列番号 40、配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48、配列番号 49、配列番号 50、配列番号 51、配列番号 52、配列番号 53、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 56、配列番号 57、配列番号 58、配列番号 59、配列番号 60、配列番号 61、および配列番号 62 の少なくとも 1 つと 100 % 同一である核酸配列を含む、請求項 280 に記載の組成物。

20

30

【請求項 282】

対象におけるがんを処置するための方法であって、請求項 280 または請求項 281 からの一本鎖 s i R N A を含む治療有効量の医薬組成物を、エリスロポエチン（EPO）タンパク質、EPO 受容体サブユニット、または CD131 サブユニットの発現レベルを低減するのに十分な用量およびスケジュールで、前記対象に投与するステップを含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

相互参照

本出願は、2022 年 3 月 8 日に出願された米国仮出願第 63 / 317, 943 号の利益を主張し、これは、その全体が、参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

開示の背景

エリスロポエチン（EPO）は、EPO 受容体（EPOR）分子を二量体化することによって造血を誘導し、これは、EPO 受容体関連ヤヌスチロシンキナーゼ 2（Jak2）、ならびに二次シグナル伝達分子、例えば、シグナル伝達および転写活性化因子 5（Stat5; Brines and Cerami, Nat Rev Neurosci, 2005; 6:484-94）の活

50

性化をもたらす。EPOは、赤血球前駆細胞において発現されて、アポトーシスを阻害し、細胞生存、増殖、ならびに成熟赤血球の産生における分化を促進する、EPORへの結合によって作用する（図1）。しかしながら、EPOR発現は、赤血球組織に限定されない。EPORは、いくつかの非造血組織において発現され、虚血性傷害における組織保護効果を誘発し、創傷治癒、心臓血管保護、血管新生、神経保護、代謝恒常性の調節、および骨リモデリングを促進する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0003】

【非特許文献1】Brines and Cerami, Nat Rev Neurosci (2005) 6:484~94

10

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

開示の概要

EPOについての2つの主なチロシンキナーゼ受容体：ホモ二量体EPOR／EPOR（「ホモEPOR」）およびヘテロ二量体EPOR／CD131受容体（「ヘテロEPOR」）がある。ホモEPORシグナル伝達は、赤血球生成のために重要であるが、ヘテロEPORシグナル伝達は、組織保護活性を有し、免疫細胞（例えば、骨髄性細胞、T細胞およびB細胞）におけるEPO媒介免疫モジュレート機能に関与し得ることが公知である。ヘテロEPORによるEPOシグナル伝達のモジュレーションは、限定されるものではないが、免疫応答の阻害または刺激、抗原特異的寛容の誘導または破壊、免疫寛容原性効果または免疫抑制効果なしでの赤血球生成の刺激、赤血球生成の刺激なしでの神経保護および組織保護の提供、ならびに予防的または治療的免疫の誘導を含む、さまざまな病理学的状態における利点を提供し得る。

20

本開示は、新たなエリスロポエチン（EPO）アナログ、および新たなEPO関連抗体に関する。本明細書に開示されるEPOアナログは、例えば、8つの種類を含み得る。EPOアナログは、ヘテロEPORと結合することができ、ホモEPORと結合することができず、ヘテロEPORのアゴニストまたはアンタゴニストのいずれかであり得る。他のEPOアナログは、ホモEPORと結合することができ、ヘテロEPORと結合することができず、ホモEPORのアゴニストまたはアンタゴニストのいずれかであり得る。EPOアナログは、ホモEPORおよびヘテロEPORの両方と結合することができ、両方に対するアゴニスト、両方に対するアンタゴニスト、または一方に対するアゴニストおよび他方に対するアンタゴニストであり得る。少なくとも4種類の抗EPO受容体（抗EPOR）抗体を得ることができる。抗EPOR抗体は、ヘテロEPORのアゴニストまたはアンタゴニストであり得、抗ホモEPOR抗体は、ホモEPORのアゴニストまたはアンタゴニストであり得る。少なくとも2種類の抗CD131抗体を得ることができる。抗CD131抗体は、ヘテロEPORのアゴニストまたはアンタゴニストであり得る。少なくとも3種類の抗EPO抗体を得ることができる。抗EPO抗体は、ホモEPORへの結合を阻害し、ヘテロEPORへの結合を阻害し、またはホモEPORおよびヘテロEPORの両方へのEPO結合を阻害することができる。

30

40

【0005】

本明細書に開示される抗体は、高い結合親和性で、ホモEPOR、ヘテロEPOR、EPO、CD131、またはその組合せに特異的に結合する、その断片を含み得る（まとめて、ヘテロEPORおよびホモEPORは、「EPOR」と呼ばれる）。抗体は、モノクローナルであり得、ヒト抗体、キメラ抗体、またはヒト化抗体であり得る。キメラ抗EPOR抗体および／または抗EPO抗体（その断片を含む）は、非ヒト（例えば、マウス）相補性決定領域（CDR）および／または非ヒトフレームワーク領域、ならびに必要に応じて、1つまたは複数のヒト定常ドメインを有し得る。ヒト化抗EPOR抗体および／またはヒト化抗EPO抗体（その断片を含む）は、非ヒト（例えば、マウス）CD

50

Rおよび／またはヒトフレームワーク領域、ならびに必要なに応じて、CDRに隣接する非ヒトフレームワークアミノ酸残基、および必要なに応じて、1つまたは複数のヒト定常ドメインを有し得る。一部の実施形態では、本明細書に開示される抗体は、グラフト化抗体であり得る。

【0006】

本明細書に開示されるヒト化抗体は、マウス抗体由来の選択された数のフレームワーク残基とともに、CDRを重鎖のためのヒトフレームワークおよび／または軽鎖のためのヒトフレームワークにグラフトすることから得られた抗EPORおよび／または抗EPO抗体を表し得る。本明細書に開示される抗EPOR抗体および／または抗EPO抗体は、抗EPOR抗体または抗EPO抗体から作製された親和性成熟ライブラリーから得られるものも含む。抗EPOR抗体および／または抗EPO抗体は、重鎖の1つと99%、95%、90%、80%または70%の配列同一性を有する重鎖可変領域、および軽鎖の1つと99%、95%、90%、80%または70%の配列同一性を有する軽鎖可変領域も含み得る。抗EPOR抗体は、約0.1pM～約300nM、約1.0nM～約10.0nM、約50nM～約100nM、または約1.0～約100nMの親和性で、ホモEPORまたはヘテロEPORに結合することができる。抗EPOR抗体は、少なくとも約100nM、少なくとも約50nM、少なくとも約10nM、少なくとも約5nm、または少なくとも約1.0nMの親和性で、ホモEPORまたはヘテロEPORに結合することができる。抗EPO抗体は、約1.0nM～約10nM、約50nM～約100nM、または約1.0～約100nMの親和性で、EPOに結合することができる。抗EPO抗体は、少なくとも約100nM、少なくとも約50nM、少なくとも約10nM、少なくとも約5.0nm、または少なくとも約1.0nMの親和性で、EPOに結合することができる。

10

20

【0007】

本明細書に記載される抗EPOR抗体および／または抗EPO抗体は、抗体に所望の性質を提供する改変を含んでもよい。例えば、改変は、抗体の血清半減期を増加させることができ、または改変は、血清半減期を減少させることができる。改変は、抗体のエフェクター機能を増加または減少させることもできる。改変は、免疫原性を減少させることができ、または抗体によって引き起こされる他の望まない副作用もしくは有害事象を低減することができる。

30

【0008】

ヘテロEPORに対するアンタゴニストであるEPOアナログ、ヘテロEPORに対するアンタゴニストである抗ヘテロEPOR抗体、ヘテロEPORに対するアンタゴニストである抗CD131抗体、および／またはヘテロEPORへのEPOの結合を阻害する抗EPO抗体を使用して、対象における免疫抑制または寛容原性状態を克服することができる。例えば、これらのEPOアナログ、抗ヘテロEPOR抗体、抗CD131抗体および／または抗EPO抗体を使用して、腫瘍免疫抑制微小環境を克服し、ワクチンに対する免疫応答をブーストし、および／または疾患（例えば、微生物またはウイルスからの感染症）に対する急性炎症応答の間に免疫応答を増強することができる。

【0009】

ヘテロEPORに対するアゴニストであるEPOアナログ、ヘテロEPORに対するアゴニストである抗CD131抗体、および／またはヘテロEPORに対するアゴニストである抗EPOR抗体を使用して、対象における負の免疫モジュレーション（例えば、免疫抑制または寛容原性状態）を誘導することができる。例えば、これらのEPOアナログ、ヘテロEPORに対するアゴニストである抗CD131抗体、および／または抗ヘテロEPOR抗体を使用して、移植拒絶反応を抑制し、抗原特異的免疫寛容を誘導し、自己免疫疾患における免疫反応を低減し、全身性慢性炎症を低減し、傷害または他のストレスの間に神経組織および他の組織に対する損傷を低減することができる。これらのEPOアナログ、ヘテロEPORに対するアゴニストである抗CD131抗体、および／または抗ヘテロEPOR抗体は、抗原に対する免疫寛容原性状態を誘導する抗原とともに

40

50

に投与することもできる。

【0010】

ホモ-E P O Rに対するアゴニストであり、かつヘテロ-E P O Rと結合せず、ヘテロ-E P O RのアンタゴニストでもないE P Oアナログ、および／またはヘテロ-E P O RへのE P Oの結合を阻害する抗E P O抗体、および／またはヘテロ-E P O RへのE P Oの結合を阻害する抗C D 1 3 1抗体、および／またはヘテロ-E P O Rに対するアンタゴニストである抗ヘテロ-E P O R抗体を、E S A処置を必要とするがん患者のために、エリスロポエチン刺激剤（E S A）ありまたはなしで使用する事ができる。E S Aを必要とする任意のがん患者は、これらのE P Oアナログ、および／または抗E P O R抗体、および／または抗E P O抗体と組み合わせて、E S Aを提供され得る。

10

【0011】

ホモ-E P O Rまたはヘテロ-E P O Rからのシグナル伝達のモジュレーションは、R N Aまたは小分子を用いて行うことができる。ホモ-E P O Rまたはヘテロ-E P O Rからのシグナル伝達の刺激は、正の調節因子のm R N A、負の調節因子のs i R N A、正の調節因子を上方調節する小分子、または負の調節因子を下方調節する小分子の送達によって達成されてもよい。ホモ-E P O Rまたはヘテロ-E P O Rからのシグナル伝達の阻害は、負の調節因子のm R N A、正の調節因子のs i R N A、負の調節因子を上方調節する小分子、または正の調節因子を下方調節する小分子の送達によって達成されてもよい。

【0012】

一部の態様では、抗体またはその機能的断片を含む組成物であって、（i）前記抗体または前記その機能的断片が、エリスロポエチン（E P O）タンパク質、E P O受容体サブユニット、C D 1 3 1サブユニット、またはその組合せを含む標的に選択的に結合し；（i i）前記標的への前記抗体または前記その機能的断片の結合が、（a）E P Oタンパク質-ヘテロ-E P O受容体複合体の形成であって、前記ヘテロ-E P O受容体が前記E P O受容体サブユニットおよび前記C D 1 3 1サブユニットを含む、形成を防止するか、（b）前記E P O受容体サブユニットと前記C D 1 3 1サブユニットとの間のヘテロ-E P O受容体の形成を防止するか、または（c）前記E P O受容体サブユニットと前記C D 1 3 1サブユニットとを含むヘテロ-E P O受容体の活性化を防止し；（i i i）前記抗体または前記その機能的断片が、抗原結合ドメインを含む、組成物が本明細書に提供される。

20

30

【0013】

一部の態様では、がんを処置するための方法であって、組成物またはその誘導体を、がんを有するか、またはがんを有するリスクがある対象に投与するステップを含み、前記組成物または前記その誘導体が、前記対象におけるヘテロ-Eリスロポエチン（E P O）受容体活性を阻害する、方法が本明細書に提供される。

【0014】

一部の態様では、抗体またはその機能的断片を含む組成物であって、（i）前記抗体または前記その機能的断片が、エリスロポエチン（E P O）タンパク質、E P O受容体サブユニット、C D 1 3 1サブユニット、またはその組合せを含む標的に選択的に結合し；（i i）前記標的への前記抗体または前記その機能的断片の結合が、（a）E P Oタンパク質-ヘテロ-E P O受容体複合体の形成であって、前記ヘテロ-E P O受容体が前記E P O受容体サブユニットおよび前記C D 1 3 1サブユニットを含む、形成を促進するか、（b）前記E P O受容体サブユニットと前記C D 1 3 1サブユニットとの間のヘテロ-E P O受容体の形成を促進するか、または（c）前記E P O受容体サブユニットと前記C D 1 3 1サブユニットとを含むヘテロ-E P O受容体の活性化を促進し；（i i i）前記抗体または前記その機能的断片が、抗原結合ドメインを含む、組成物が本明細書に提供される。

40

【0015】

一部の態様では、がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与するための組成物であって、前記組成物またはその誘導体が、前記対象の骨髄性細胞におけるエリスロポエチン

50

(EPO) 受容体活性を阻害する、組成物が本明細書に提供される。

【0016】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン (EPO) タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、骨髄性細胞におけるヘテロ-エリスロポエチン (EPO) 受容体活性を阻害する、組成物が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、またはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。

10

【0017】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン (EPO) タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、またはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含み、前記操作されたEPOタンパク質が、骨髄性細胞におけるヘテロ-エリスロポエチン (EPO) 受容体活性を阻害する、組成物が本明細書に提供される。

20

【0018】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン (EPO) タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、ヘテロ-エリスロポエチン (EPO) 受容体活性を促進して、免疫応答を低減し、前記ヘテロ-EPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、少なくとも1つのアミノ酸改変および／またはK20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、もしくはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。

30

【0019】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン (EPO) タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、少なくとも1つのアミノ酸改変および／またはK20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、もしくはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含み、前記操作されたEPOタンパク質が、ヘテロ-エリスロポエチン (EPO) 受容体活性を促進し、前記ヘテロ-EPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物が本明細書に提供される。

40

【0020】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン (EPO) タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、ホモ-エリスロポエチン (EPO) 受容体活性を促進し、ヘテロ-EPO受容体活性に対して低減された効果を有し、前記ホモ-EPO受容体が、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含み、前記ヘテロ-EPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物が本明

50

細書に提供される。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、またはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。

【0021】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン（EPO）タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、またはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含み、前記操作されたEPOタンパク質が、ホモ-エリスロポエチン（EPO）受容体活性を促進し、ヘテロ-EPO受容体活性に対して実質的な効果を有さず、前記ホモ-EPO受容体が、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含み、前記ヘテロ-EPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物が本明細書に提供される。

【0022】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン（EPO）タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、またはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含み、前記操作されたEPOタンパク質が、ヘテロ-エリスロポエチン（EPO）受容体活性を促進し、ホモ-EPO受容体活性に対して実質的な効果を有さず、前記ホモ-EPO受容体が、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含み、前記ヘテロ-EPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物が本明細書に提供される。

【0023】

一部の態様では、がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与するための組成物であって、前記対象の骨髄性細胞におけるエリスロポエチン（EPO）受容体活性を阻害する化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含む、組成物が本明細書に提供される。

【0024】

一部の態様では、がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与するための組成物であって、免疫チェックポイント遮断抵抗性が前記対象において逆転されるようにエリスロポエチン（EPO）受容体活性を阻害する化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含む、組成物が本明細書に提供される。

【0025】

一部の態様では、対象に投与するための組成物であって、ヘテロ-エリスロポエチン（EPO）受容体活性を促進する化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含み、前記ヘテロ-EPO受容体が、抗原に対する免疫寛容が前記対象において増加するようにEpoRサブユニットおよびCD131サブユニットを含み、前記化合物が、ホモ-EPO受容体活性に対して実質的な効果を有さず、前記ホモ-EPO受容体が、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含む、組成物が本明細書に提供される。

【0026】

一部の態様では、がんを有する対象に投与するための組成物であって、RNA干渉（RNAi）分子を含み、前記RNAiが、エリスロポエチン（EPO）タンパク質をコードするmRNA分子、EPO受容体サブユニットをコードするmRNA分子、CD131サブユニットをコードするmRNA分子、およびその任意の組合せからなる群より選択されるRNA分子に結合し、前記RNAiを前記対象に投与する際に、前記対象の腫瘍量が、低減される、組成物が本明細書に提供される。

【0027】

一部の態様では、がんを有する対象に投与するための組成物であって、RNA干渉（RNAi）分子を含み、前記RNAiが、エリスロポエチン（EPO）タンパク質をコードするmRNA分子、EPO受容体サブユニットをコードするmRNA分子、CD131サブユニットをコードするmRNA分子、およびその任意の組合せからなる群より選択されるRNA分子に結合し、前記RNAiを前記対象に投与する際に、前記対象の免疫応答が、より多くのエフェクターT（Teff）細胞を誘導することによって、増加する、組成物が本明細書に提供される。

【0028】

一部の態様では、対象におけるがんを処置するための方法であって、本明細書に記載される一本鎖siRNAのいずれか1つを含む治療有効量の医薬組成物を、エリスロポエチン（EPO）タンパク質、EPO受容体サブユニット、またはCD131サブユニットの発現レベルを低減するのに十分な用量およびスケジュールで、前記対象に投与するステップを含む、方法が本明細書に提供される。

【0029】

参照による組み込み

本明細書において挙げられたすべての刊行物、特許、および特許出願は、それぞれ個々の刊行物、特許、または特許出願が、参照により組み込まれることが、具体的におよび個々に示された場合と同じ程度まで、参照によって本明細書に組み込まれる。

【0030】

本開示の特徴および利点のより良好な理解は、以下の詳細な説明を参照することによって得られ、これは、本開示および添付の図面の例示的な実施形態を示す。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】図1は、赤血球前駆細胞におけるEPOおよびホモ-EPORによって媒介される赤血球生成の概要である。

【0032】

【図2】図2は、樹状細胞およびマクロファージにおけるEPOおよびヘテロ-EPORによって媒介される免疫寛容の概要である。

【0033】

【図3】図3A～3Bは、EpoR⁺（EpoR⁺）対EpoR⁻（EpoR⁻）における遺伝子の遺伝子発現分析を示す。図3Aは、EpoR⁺XCR1⁺CD8α⁺cDC1対EpoR⁻XCR1⁺CD8α⁺cDC1において上方調節および下方調節された遺伝子のボルケーノプロットを示す。XCR1：XC-ケモカイン受容体1。CD8α：表面抗原分類8α。cDC1：通常型1型樹状細胞。図3Bは、EpoR⁺対EpoR⁻における上位の上方調節および下方調節された遺伝子のRNA-seq遺伝子発現を表すヒートマップを示す。

【0034】

【図4】図4A～4Cは、樹状細胞（DC）におけるヘテロ-EPORノックアウトの効果を示す。図4Aは、DCにおけるヘテロ-EPOR発現を示す。図4Bは、マウス（C57BL/6J）、Batf3ノックアウトマウス（Batf3^{-/-}）、CD11c^{Cre}を有するマウス（CD11c^{Cre}）、EPOR^{fllox/fllox}を有するマウス（EPOR^{fllox/fllox}）、および樹状細胞にヘテロ-EPORのノックアウトを有するマウス（EPOR^{ΔCD11c}）におけるドナーTCRβ⁺T細胞の数を示す。TCR

β : T細胞受容体 β 。Batf3 : 塩基性ロイシンジッパーATF様転写因子3。CD11c : 表面抗原分類11c。独立した手段の両側t検定によるP値。 $*P < .05$; $**P < .01$; $***P < .001$; ns、有意ではない ($P > .05$)。図4Cは、心臓移植 (TX) 後のC57BL/6J、Batf3^{-/-}、EPOR^{flox/flox}、およびEPOR ^{Δ CD11c}マウスの心臓生着 (heart survival) のパーセントを示す。WT TX (C57BL/6J) 対Batf3^{-/-}TX : $P < .001$; WT TX (C57BL/6J) 対EPOR ^{Δ XCRI} TX : $P < .001$ 、ログランク ; マンテルーコックス検定。

【0035】

【図5】図5A~5Bは、樹状細胞 (cDC1) におけるEPORによる抗原 (Ag) 特異的調節性T細胞 (Treg) 誘導を示す。図5Aは、(i) cDC1におけるヘテロEPOR (EPOR⁺cDC) の発現を有するか、または(ii) 未処置 (UNT) のもしくはEPOで処置 (+EPO) されたcDC1におけるヘテロEPORの発現なし (EPOR⁻cDC) の、マウスアルファ鎖およびベータ鎖T細胞 (OTIIマウス) を発現するトランスジェニックマウスにおけるFoxP3⁺Tregのパーセントを示す。FoxP3 : フォークヘッドボックスP3。独立した手段の両側t検定によるP値。 $*P < .05$; $**P < .01$; $***P < .001$; ns、有意ではない ($P > .05$)。図5Bは、全身リンパ節照射および抗胸腺細胞血清で処置されたか (TLI/ATS)、または未処置 (UNT) のC57BL/6マウスまたは樹状細胞にEPORのノックアウトを有するマウス (EPOR ^{Δ CD11c}) のAg特異的Tregを測定するフローサイトメトリーデータを示す。

【0036】

【図6】図6A~6Bは、骨髓性細胞から欠失されたヘテロEPORを有するマウスにおける腫瘍負荷を示す。図6Aは、(i) 野生型 (WT) マウス、(ii) PD-L1処置を有する野生型マウス (WT + α PD-L1) および(iii) マクロファージにヘテロEPORのノックアウトを有するマウス (EPOR ^{Δ LysM}) の肺腫瘍サイズ (Lewis肺癌) を示す。PD-L1 : プログラム細胞死リガンド1。図6Bは、(i) WTマウスおよび(ii) 樹状細胞にヘテロEPORのノックアウトを有するマウス (EPOR ^{Δ CD11c}) の腫瘍サイズ (乳腺癌) を示す。

【0037】

【図7】図7A~7Cは、ヘテロEPOR欠失樹状細胞を有するマウスにおける腫瘍負荷を示す。図7Aは、Zbtb46gfp/+EPOR^{tdTomato}/+マウスのさまざまな免疫細胞におけるEPOR^{tdT}の発現を示す。図7Bは、(i) 樹状細胞にヘテロEPOR欠失を有するマウス (EPOR ^{Δ XCRI}) 対(ii) ヘテロEPOR欠失なしのマウス (EPOR^{flox/flox}) の腫瘍サイズ (結腸がん) を示す。図7Bは、(i) 樹状細胞にmTOR欠失を有するマウス (mTOR ^{Δ XCRI}) 対(ii) mTOR欠失なしのマウス (mTOR^{flox/flox}) の腫瘍サイズを示す。mTOR : ラパマイシンの哺乳動物標的。データは、平均土平均の標準誤差 (s.e.m.) である。 $*P < 0.05$ 、 $**P < 0.01$ 、 $***P < 0.001$ および $****P < 0.0001$ 、二元配置分散分析。図7Cは、14日目のEPOR ^{Δ XCRI}およびEPOR^{flox/flox}マウスの写真 (左)、ならびに14日目のEPOR ^{Δ XCRI}対EPOR^{flox/flox}におけるmTOR欠失を有するマウスの腫瘍サイズ (右) を示す。スケールバーは示された通りである。腫瘍のサイズの平均。独立した手段の両側t検定によるP値。 $***P < .001$ 。

【0038】

【図8】図8A~8Cは、EPOR欠失を有するマクロファージを有するマウス (EPOR ^{Δ LysM}) の冷たい腫瘍における免疫チェックポイント遮断に対する抵抗性の変更を示す。図8Aは、冷たい肝細胞癌 (HCC) を保持するマウスに抗プログラム細胞死-1抗体 (α PD-1) を投与するための実験スキームを示す。冷たいHCCの自発的モデルを、in vivoでのハイドロダイナミック尾静脈注射 (hydrodynamic

tail vein injection) (HDTV) を使用して、マウスの肝臓に、プラスミド pCMV-SB13、pT3-EF1a-C-Myc-IRES-ルシフェラーゼ、および pX330-Trp53 標的化 sgRNA を送達することによって作出した。2 週間後、C57BL/6 野生型 (WT) および Epor^{ΔLysM} 系統のマウスを、合計 5 用量で、3 日ごとの腹腔内注射を介して、2 mg/kg の αPD-1 または IgG アイソタイプ対照のいずれかで処置した。Trp53: 細胞腫瘍抗原 p53。C-myc: c-Myc 腫瘍性タンパク質。Luc: ルシフェラーゼ。図 8 B は、ルシフェリンに基づく生物発光を測定することによって分析された、IgG アイソタイプで処置された野生型マウス (WT IgG アイソタイプ)、αPD-1 で処置された野生型マウス (WT αPD-1)、IgG アイソタイプで処置されたヘテロ-EPOR のマクロファージ特異的ノックアウトを有するマウス (Epor^{ΔLysM} IgG アイソタイプ)、および αPD-1 で処置されたヘテロ-EPOR のマクロファージ特異的ノックアウトを有するマウス (Epor^{ΔLysM} αPD-1) の腫瘍成長動態を示す。図 8 C は、WT IgG アイソタイプ、WT αPD-1、Epor^{ΔLysM} IgG アイソタイプ、および Epor^{ΔLysM} αPD-1 の生存曲線を示す。

10

20

30

40

50

【0039】

【図 9】図 9 A ~ 9 C は、樹状細胞に EPO ノックアウトを有するマウスの免疫チェックポイント遮断に抵抗性の冷たい腫瘍における変化を示す。図 9 A は、αPD-1 (プログラム細胞死-1) で黒色腫マウスを処置する実験スキームを示す。図 9 B は、(i) 対照マウス、(ii) αPD-1 で処置された対照マウス (対照 + αPD-1)、(iii) 樹状細胞にヘテロ-EPOR 欠失を有するマウス (Epor^{ΔXCR1}) および (iv) αPD-1 で処置された樹状細胞にヘテロ-EPOR 欠失を有するマウス (Epor^{ΔXCR1} + αPD-1) の腫瘍サイズ (黒色腫) を示す。* P < 0.05、** P < 0.01、*** P < 0.001 および **** P < 0.0001、二元配置分散分析。図 9 C は、ヘテロ-EPOR の欠失なしのマウス (EPOR^{fllox/fllox}) および樹状細胞にヘテロ-EPOR 欠失を有するマウス (Epor^{ΔXCR1}) における、パーフォリン、グランザイム B、インターフェロン-ガンマ (IFNγ)、および腫瘍壊死因子アルファ (TNFα) を測定するフローサイトメトリーデータを示す。

【0040】

【図 10】図 10 は、(i) 低いレベルの EPO 対 (ii) 高いレベルの EPO を有する肝細胞癌を有する患者の The Cancer Genome Atlas Liver Hepatocellular Carcinoma (TCGA-LIHC) からの生存パーセントのデータを示す。

【0041】

【図 11】図 11 A ~ 11 C は、退縮性肝細胞癌 (HCC) を有するマウスにおける腫瘍の発展に対する EPO の効果を示す。図 11 A は、退縮性 HCC モデルを確立する実験スキームを示す。3 × 10⁶ 個の同種 Hepa1-6 細胞を、C57BL/6 マウスに同所性に移植した。2 つの Hepa1-6 安定細胞系を、EPO 過剰発現 (Hepa1-6 __ EPO^{OE}) または空ビヒクル (Hepa1-6 __ EV) のいずれかを有するレンチウイルスを使用して作成した。図 11 B は、注射後 14 日目および 21 日目に回収された Hepa1-6 __ EV または Hepa1-6 __ EPO^{OE} で処置された肝細胞癌マウスからの腫瘍を示す。図 11 C は、Hepa1-6 __ EV または Hepa1-6 __ EPO^{OE} で処置された HCC マウスの、腫瘍体積の定量化および完全退縮 (CR) 率測定を示す。

【0042】

【図 12】図 12 A ~ 12 B は、肝臓転移ありまたはなしのマウスにおける結腸腫瘍成長を示す。図 12 A は、肝臓転移ありまたはなしの野生型マウスの結腸腫瘍体積の変化を示す。図 12 B は、肝臓転移ありまたはなしの、マクロファージに EPOR 欠失を有するマウス (Epor^{ΔLysM}) の結腸腫瘍体積の変化を示す。

【0043】

【図 13】図 13 A ~ 13 C は、肝細胞癌を有するマウス (Hepa1-6 __ EPO^{OE})

）におけるEPORを標的化するsiRNA (siEpor) が負荷されたマクロファージに標的化されたリポソームの効果を示す。図13Aは、2つのHCCモデルにおけるリポソーム処置の実験スキームを示す。Hepa1-6_{Ep^{OE}}: 3×10⁶個のEPOR過剰発現Hepa1-6細胞を、C57BL/6マウスに同所性に移植した。1週間後、マウスを、合計で3用量について4日ごとの静脈内注射を介して、50μgのsiEpor (EPORを標的化するsiRNA) またはsiNTC (非標的対照) RNAのいずれかを含有するリポソームで処置した。HDTV: 冷たいHCCの自発的モデルを、*in vivo*でのハイドロダイナミック尾静脈注射 (HDTV) を使用して、マウスの肝臓に、プラスミドpCMV-SB13、pT3-EF1a-C-Myc、およびpX330-Trp53標的化sgRNAを送達することによって作出した。2週間後、マウスを、合計で6用量について4日ごとの静脈内注射を介して、50μgのsiEporまたはsiNTC RNAのいずれかを含有するリポソームで処置された肝細胞癌マウスから回収された腫瘍 (左) および腫瘍体積 (右) を示す。図13Cは、siEporまたはsiNTCのいずれかを含有するリポソームで処置された冷たいHCCを有するマウスから回収された肝臓 (左) および肝臓重量 (右) を示す。

10

20

30

40

50

【0044】

【図14】図14A~14Cは、ヘテロEPORを標的化するsiRNAが負荷されたマクロファージに標的化されたリポソームの効果を示す。図14Aは、マクロファージに標的化されたリポソームの物理的性質を示す。図14Bは、リポソームを取り込む主要な細胞型としてマクロファージを示すフローサイトメトリー分析を示す。Hepa1-6_{Ep^{OE}}を移植されたC57BL/6マウスに、50μgのフルオレセインイソチオシアネート (FITC) コンジュゲートsiRNAが負荷されたリポソームを投与した。24時間後、腫瘍を回収し、単一細胞懸濁物に解離させた。フローサイトメトリー分析を行って、異なる骨髄性細胞型におけるFITC⁺細胞のパーセンテージを測定した。図14Cは、腫瘍浸潤性マクロファージにおけるEPORのノックダウン効率を示す。3×10⁶個のEPOR過剰発現Hepa1-6細胞を、C57BL/6マウスに同所性に移植した。1週間後、マウスを、合計で3用量について4日ごとの静脈内注射を介して、50μgのEPORを標的化するsiRNA (siEpor) または非標的対照siRNA (siNTC) のいずれかを含有するリポソームで処置した。腫瘍を、注射後の3週間後に回収し、単一細胞懸濁物に解離させた。マクロファージを、磁気-活性化細胞選別を用いて単離し、RNAを、リアルタイムPCR定量化のために抽出した。

【0045】

【図15A】図15A~15Bは、乳がんの新鮮なヒトがん検体からの骨髄性細胞におけるEPOR発現 (図15A) および乳がんの左腋窩リンパ節転移の転移部位 (図15B) を示す。図15Aは、フローサイトメトリーによって分析されたEPOR発現レベルを示す。CD45⁺がん浸潤性リンパ球を、生-死aqua-CD45⁺としてゲーティングした。ヒストグラムは、個々の骨髄性細胞サブセットにおけるEPOR発現を示した。左: 乳がん。右: 周辺の健康な組織。下: CD11c⁺HLA-DR⁺CD14⁻CD16⁻としてゲーティングされた樹状細胞におけるEPOR発現。図15Bは、乳がん左腋窩リンパ節 (LN) 転移部位の腫瘍浸潤性リンパ球におけるEPOR発現を示す。上: 樹状細胞におけるEPOR発現。下: HLA-DR⁻細胞におけるEPOR発現。

【図15B】同上。

【0046】

【図16】図16A~16Bは、末梢血試料と対になった新鮮なヒト肝臓転移の転移部位の骨髄性細胞におけるEPOR発現を示す。試料を、異なる元の腫瘍型を有する3人の個々の患者から収集した。図16Aは、フローサイトメトリーによって分析された、肝臓転移部位のCD45⁺腫瘍浸潤性リンパ球におけるEPOR発現レベルを示す。CD45⁺がん浸潤性リンパ球を、生-死aqua-CD45⁺としてゲーティングした。右: 健康なドナー血液と比較した、肝臓転移患者の末梢血試料におけるEPOR発現。EPOR⁺

細胞のパーセンテージを、赤色長方形で示す。図16Bは、肝臓転移患者の血液、健康なドナーの血液、および肝臓がんまたは肝硬変の血液における、EPO⁺細胞のパーセンテージを示す。統計分析を、独立両側t検定を用いて行った。 $*P < 0.05$; $**P < 0.01$; $***P < 0.001$ および $****P < 0.0001$ 。

【0047】

【図17】図17は、表11に列挙されたハイブリドーマクローンのEPO遮断効率の例を示す。

【0048】

【図18】図18A~18Bは、同種(allo)骨髄(BM)および心臓移植に対するTLI/ATS誘導寛容を示す。図18Aは、マウスに対して心臓移植を行い、マウスをTLI/ATSで処置し、骨髄移植を実施し、同種BMキメラ現象および心臓生着をチェックする、実験スキームを示す。図18Bは、野生型およびBaf3^{-/-}マウスにおける心臓移植片の生着(左)、ならびに野生型およびBaf3^{-/-}マウスにおけるBM移植(TX)後34日目のBMキメラ現象(右)を示す。

【0049】

【図19】図19A~19Eは、樹状細胞(DC)濃縮およびEPOの全身性上方調節と組み合わせた、TLI/ATS誘導局所アポトーシスおよび髄外赤血球生成を示す。図19Aは、未処置脾臓(UNT)およびTLI/ATSで処置された脾臓の切片におけるTUNEL染色の代表画像を示す。図19Bは、未処置脾臓(UNT)、ATSで処置された脾臓、TLIで処置された脾臓、およびTLI/ATSで処置された脾臓における、異なる細胞集団の変化の細胞組成分析を示す。円グラフは、1つの代表的な実験からの示された集団の平均頻度を示す($n=4$)。T細胞(TCR β^+CD19^-)、B細胞(TCR β^-CD19^+)、赤血球前駆細胞(TER119⁺CD71⁺)、DC(CD11c^{high}MHCII^{high})、CD11b⁺骨髄性細胞を、LyG⁺、Ly6C⁺およびF4/80⁺(RPM、赤脾髄マクロファージ)に細分化する。図19Cは、未処置脾臓およびTLIで処置された脾臓での赤血球前駆細胞のゲーティング戦略を示す。図19Dは、TLIで処置された脾臓およびTLIで処置された骨髄における髄外赤血球生成を示す。図19Eは、酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)によって測定された末梢血血清におけるEPOの全身性増加を示す。

【0050】

【図20A-D】図20A~20Hは、TLI/ATS条件付けマウス対未処置(UNT)マウスから選別されたCD8 α^+cDC1 のRNA-seq分析を示す。図20Aは、未処置のまたはTLI/ATSで処置されたマウスにおける総脾臓細胞数を示す。図20Bは、未処置のまたはTLI/ATSで処置されたマウスの肝臓細胞(DAPI⁻)におけるCD11c^{high}MHCII^{high}DCの頻度を示す。図20Cは、CD8 α^+CD11b^- およびCD11b⁺CD8 α^-cDC についてのゲーティング戦略(左)、およびUNT対TLI/ATのCD11c^{high}MHCII^{high}DCにおけるCD8 α^+CD11b^-DC の頻度(右)を示す。TLI/AT条件付けマウスからの代表的な試料を示す。図20A~20Cについて、プロットの数値は、それぞれのゲート内の陽性染色された細胞のパーセンテージを示す。データは、平均 $\pm$ s.e.m.であり、 $***p < 0.001$ および $****p < 0.0001$ は、独立学生t検定によって決定し、群あたりのマウス数は示した通りである。結果は、少なくとも3回の類似の実験の1つを表す。図20Dは、UNT対TLI/ATの、CD8 α^+DC の別個のクラスターリングを示す主成分分析(PCA)プロットである。図20Eは、TLI/AT条件付け群対UNT群における、上位30の上方調節された($P \leq 0.01$ および 倍数変化 $\geq \log 2$)遺伝子のRNA-seq遺伝子発現を表すヒートマップを示す。それぞれの群についての生物学的反復($n=2, 3 \sim 5$ 匹のマウスからそれぞれプール)を別々に示す。ヒートマップを、Rstudioソフトウェアに基づくDESeq2を用いて、差次的発現分析から作成した。図20Fは、TLI/AT後に分子シグネチャデータベース(Molecular Signatures Database)(MSigDB)中の特徴遺伝子セ

ットを使用する、遺伝子セット濃縮分析 (Gene Set Enrichment Analysis) (GSEA) 分析を示す。NES: 正規化濃縮スコア。FDR: 偽発見率。グラフの右半分: 上方調節された経路。グラフの左半分: 下方調節された経路。図 20G は、脾臓 $CD8\alpha^+ cDC1$ および $CD11b^+ cDC2$ における示された遺伝子のリアルタイムPCRを示す。 $CD8\alpha^+ cDC1$ (上パネル) および $CD11b^+ cDC2$ (下パネル) を、TLIの最終用量の翌日に、(i) UNT、(ii) ATS、(iii) TLI、(iv) TLI/ATS 条件付けマウスからのフローサイトメトリーによって選別した。ゲーティング戦略を図 20C に示す。データは平均 $\pm$ S.E.M. であり、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ および **** $p < 0.001$ 、ns (有意差なし) は、独立学生t検定によって決定する。図 20H は、UNT、TLI、および TLI/ATS 処置 EPOR-tdT マウスにおける $CD8\alpha^+ cDC1$ の EPOR 発現を示す。TLI および TLI/ATS 群では、脾臓を、TLI の最終用量の翌日に回収した。

10

【図 20E-F】 同上。

【図 20G-H】 同上。

【0051】

【図 21】 図 21 は、B 細胞、T 細胞、顆粒球、およびマクロファージ (MΦ) における、野生型 (WT)、EPOR $flox/flox$ マウス、樹状細胞 (DC) 特異的ヘテロEPOR 遺伝子欠失を有するマウス (EPOR $\Delta CD11c$)、および Baf3ノックアウト (KO) マウスの TLI-ATS 誘導キメラ現象を示す。BM 移植 14 日後の宿主の血液中の T 細胞 (TCR β^+)、B 細胞 (B220 $^+$)、および顆粒球 (Ly6G $^+$) のうちのドナー型細胞のパーセンテージ。バーは、ドナー細胞の平均パーセンテージを示す。独立した手段の両側 t 検定による P 値。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns、有意差なし。

20

【0052】

【図 22】 図 22A~22B は、FoxP3-DTR (フォークヘッドボックス P3-ジフテリア毒素受容体) レシピエントマウスへのジフテリア毒素 (DT) 投与の投与による骨髓キメラ現象の確立および維持の両方の抑止を示す。図 22A は、DT の異なる処置による 2 群の FoxP3-DTR マウスの実験スキームを示す。FoxP3-DTR マウスを、TLI/ATS で条件付け、DT を、静脈内 (i.v.) 注射によって同種 BM 後 3 日目に (群 A; 上) または BM キメラ現象確立後 15 日目に (群 B; 下) のいずれかで投与した。DT を、2 日ごとに与えた。骨髓キメラ現象を、両群において、14 および 29 日目に調べた。図 22B は、群 A (4 つのグラフのすべてにおいて左の 3 つのバー) および群 B (4 つのグラフのすべてにおいて右の 3 つのバー) における、ドナー (MHCI-H2kb) 由来 T 細胞 (TCR β^+)、B 細胞 (B220 $^+$)、マクロファージ (MΦ; CD64 $^+$)、および顆粒球 (Ly6G $^+$) のパーセンテージを示す。

30

【0053】

【図 23】 図 23A~23D は、抗原特異的 $CD4^+ FoxP3^+ Treg$ 誘導および拡大増殖のための $CD8\alpha^+ cDC1$ の要件を示す。C57BL/6 (野生型) または Baf3 $^{-/-}$ マウス、または EPOR $\Delta CD11c$ レシピエントマウスは、処置しなかった (UNT) かまたは TLI で条件付けた。マクロファージ陰性選択 OTII 細胞 (オボアルブミン (Ova) 特異的 $\alpha\beta$ TCR を発現する細胞) を、TLI の最終用量の 1 日後に、静脈内 (i.v.) 注射し、Ova 発現骨髓細胞を、さらに 1 日後に i.v. 注射した。5 日後、FoxP3 発現を、TCR- $\nu\alpha 2^+ CD4^+$ として定義された養子移入された OTII 細胞におけるフローサイトメトリーによって調べた。図 23A および 23C は、TCR- $\nu\alpha 2^+ CD4^+$ OTII 細胞における $FoxP3^+ Treg$ のゲーティング戦略についてのプロットを示す。グラフは、未処置 (UNT) または TLI で処置のいずれかの、C57BL/6 (図 23A)、Baf3ノックアウト (KO) を有するマウス (図 23A)、樹状細胞に欠失したヘテロEPOR を有するマウス (EPOR $\Delta CD11c$) (図 23C) の脾臓からの TCR- $\nu\alpha 2^+ CD4^+$ 生存 OTII 細胞のうちの Fox

40

50

P3⁺Tregのパーセンテージを示す。図23Bおよび23Dは、養子移入されたOTI細胞におけるFoxP3の発現のヒストグラムを示す。グラフは、FoxP3の平均蛍光強度(MFI)、またはUNT対TLI処置のC57BL/6マウスもしくはBatf3 KOを有するマウス(図23B)もしくはEPOR^{ΔCD11c}マウス(図23D)を示す。データは平均±S.E.M.であり、*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001および****p<0.001、ns(有意差なし)は、独立学生t検定によって決定し、群あたりのマウスの数は示した通りである。

【0054】

【図24】図24A~24Dは、allo-骨髄負荷の際のCD4⁺FoxP3⁻CD73⁺葉酸受容体4⁺(FR4⁺)アネルギー性T細胞の誘導を示し、誘導は、Tregの存在に依存する。図24Aは、B細胞、T細胞、顆粒球、およびマクロファージ(MΦ)における、ジフテリア毒素(DT)なし(w/o)およびありのBMキメラ現象を示す。DTを、-1日目~1日目に注射した。図24Bは、DTありまたはなしでのallo-BM負荷後5日目における細胞間IFNγ発現についての、Tregおよびアネルギー性T細胞の分析を示す。図24Cは、図24Bの統計分析を示す。図24Dは、FoxP3⁺Treg頻度(X軸)とCD4⁺FoxP3⁻CD73⁺FR4⁺アネルギー性T細胞頻度(Y軸)との間の相関を示す。線形回帰を、Prismによって決定した。データは平均±S.E.M.であり、*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001および****p<0.001、ns(有意差なし)は、独立学生t検定によって決定し、群あたりのマウスの数は示した通りである。

【0055】

【図25】図25A~25Cは、TLI後のCD8α⁺cDC1による5-クロロメチルフルオレセインジアセテート+(CMFDA⁺)同種骨髄取り込みを示す。図25Aは、レシピエントCD11^{high}MHCII^{high}DCにおける生存同種BM細胞の貪食(左)、ならびにそれぞれBM注射12時間後のCD11^{high}MHCII^{high}レシピエントDCのうちのCMFDA⁺CD8α⁺およびCD8α⁻cDCの頻度の比較(右)を示すプロットである。図25Bは、未処置(UNT)のまたはTLIで処置された、ゲーティングされたCD11^{high}MHCII^{high}CD8α⁺cDC1におけるCMFDA⁺細胞のパーセンテージを示す。図27Cは、CD8α⁺CMFDA⁺cDC1におけるCD103およびDEC-205発現を示す。UNT(黒色)にTLI(ピンク色)による分布を重ねた。

【0056】

【図26】図26A~26Bは、CD8α⁺cDC1およびCD11b⁺cDC2におけるEpo-EPOR下流シグナル伝達分子の発現、ならびにさまざまなマウス系統からのドナー細胞のパーセントを示す。図26Aは、MFIによって測定される、未処置(UNT)マウス、TLIで処置されたマウス、ならびにTLIおよびATSで処置されたマウスからのCD8α⁺cDC1およびCD11b⁺cDC2におけるEPO-EPOR下流シグナル伝達分子の発現を示す。細胞内ホスホフローを、TLIの最終用量の1日後に行った。図26Bは、C57/6J、Batf3^{-/-}、CD11c^{Cre}、EPOR^{flx/flx}、mTOR^{flx/flx}、EPOR^{ΔXCR1}、およびmTOR^{ΔXCR1}を有する、B細胞、T細胞、顆粒球、およびマクロファージのドナー細胞のパーセントを示す。

【0057】

【図27】図27A~27Cは、腫瘍流入領域リンパ節(tdLN)の腫瘍Ag特異的CD8⁺T細胞におけるEpoRまたはmTORのXCR1特異的欠失の効果を示す。図27Aは、対照マウス、樹状細胞にEpoRノックアウトを有するマウス(EpoR^{ΔXCR1})、および樹状細胞にmTORノックアウトを有するマウス(mTOR^{ΔXCR1})におけるOT-I(T細胞抗原受容体を発現するCD8⁺T細胞)を分析する実験スキームを示す。図27Bは、CD44、SLAMF6、PD-1、およびTim3発現細胞の測定、ならびにフローサイトメトリーを介した増殖性細胞の測定(cell trace

violet (CTV)) を示す。図 27C は、対照、EpoR^{ΔXCR1} マウス、および mTOR^{ΔXCR1} マウスにおける、増殖した OT-1 のパーセンテージを示す。***
P < 0.001; ns = 有意ではない。

【0058】

【図 28A】図 28A ~ 28B は、ハイブリドーマクローンの上清における抗体の分析を示す。図 28A は、EPOR、CD131、またはその両方を発現する 293T 細胞についての細胞染色のパーセンテージ、結合動態データ (EPOR-CD131-Fc、EPOR-Fc、および CD131-Fc)、および固有の抗体配列を有する 17 クローンについての、EPO/EPOR 相互作用の遮断についてのパーセンテージでのデータを示す。図 28B は、それぞれ、フィコエリトリン (Phycoerythrin) (PE) 標識化抗 EPOR および Alexa Fluor (登録商標) 647 (AF647) 標識化抗 CD131 を用いるフローサイトメトリーによって測定された、ヒト EPOR (hEPOR) およびヒト CD131 (hCD131) の発現を示す。

10

【図 28B】同上。

【0059】

【図 29】図 29A ~ 29D は、精製抗体で染色された、ヒト白血病 UT-7 細胞、EPOR を発現する 293T 細胞 (293T/EPOR)、CD131 を発現する 293T 細胞 (293T/CD131)、ならびに EPOR および CD131 の両方を発現する 293T 細胞 (293T/EPOR/CD131) の平均またはメジアン蛍光強度 (MFI) を示す。図 29A は、異なる抗体濃度にわたる、精製ハイブリドーマクローン M2 および M41 で標識された 293T/EPOR 細胞の MFI を示す。図 29B は、異なる抗体濃度にわたる、精製ハイブリドーマクローン M2 および M41 で標識された 293T/EPOR/CD131 細胞の MFI を示す。図 29C は、異なる抗体濃度にわたる、精製ハイブリドーマクローン M2 および M41 で標識された 293T/CD131 細胞の MFI を示す。図 29D は、異なる抗体濃度にわたる、精製ハイブリドーマクローン M2 および M41 で標識された UT-7 細胞の MFI を示す。

20

【0060】

【図 30】図 30 は、フローに基づくアッセイで分析されたリン酸化 STAT5 を示す。UT-7 細胞、EPOR を発現する 293T 細胞 (293T/EPOR)、ならびに EPOR および CD131 の両方を発現する 293T 細胞 (293T/EPOR/CD131) を、(EPO + M2 または EPO + M41) での刺激または組換えヒト EPO なしでの刺激 (EPO なし対照) 後の、抗 EPOR 抗体 (ハイブリドーマクローン M2; 上パネル または ハイブリドーマクローン M41; 下パネル) とともにインキュベートした。EPO 刺激後の抗 EPOR 抗体 インキュベーションなしの同じ細胞を対照として使用した (EPO、Ab なし対照)。

30

【0061】

【図 31】図 31A ~ 31B は、IME001、IME003、IME004、カルバミル化 EPO (CEPO)、および組換えヒト EPO (rhEPO) の SDS-PAGE 分析を示す。図 31A は、ヒト IgG4 もしくはヒト血清アルブミンの N 末端で融合された EPO を有する発現ベクター IME001 および IME003、ならびにヒトアルブミンの C 末端で融合された EPO を有する発現ベクター IME004 の SDS-PAGE を示す。図 31B は、BSA 対照、Lys-C 消化ありまたはなしの rhEPO、および Lys-C 消化ありまたはなしの CEPO の SDS-PAGE を示す。

40

【0062】

【図 32A-C】図 32A ~ 32D は、IME001、IME003、および IME004 の受容体結合活性を測定する細胞染色アッセイを示す。図 32A は、抗 EPOR PE コンジュゲートで染色された 293T 細胞 (左) または 293T/EPOR 細胞 (右) のフローサイトメトリー分析を示す。図 32B は、1 μg/ml (左)、0.1 μg/ml (中央)、または 0.01 μg/ml (右) の IME001 とインキュベートされ、抗ヒト Fc PE コンジュゲートで染色された 293T/EPOR 細胞のフローサイトメトリ

50

一分析を示す。図32Cは、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ （左）、 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ （中央）、または $0.1\mu\text{g}/\text{ml}$ （右）のIME003（上パネル）またはIME004（下パネル）、ビオチン化抗HSA（ヒト血清アルブミン）、およびストレプトアビジンPEコンジュゲートとインキュベートされた293T/EPOR細胞のフローサイトメトリー分析を示す。図32Dは、IME003/IME004のさまざまな濃度での、IME003 EPOR-Fc、IME003 IME 020、IME004 EPOR-Fc、IME004 IME020の結合を示す。

【図32D】同上。

【0063】

【図33】図33A～33Bは、さまざまなEPOタンパク質で刺激された293T/EPOR細胞におけるSTAT5リン酸化の分析を示す。図33Aは、未処置（対照）の、またはCEPO、IME001、IME003もしくはIME004で刺激された、293T/EPOR細胞のヒトホスホ-STAT5a/b（Y694/Y699）を用いるウェスタンブロット分析を示す。図33Bは、未処置（未処置対照）の、またはIME001、IME003、IME004、IME005、IME008もしくはIME013で刺激された、293T/EPOR細胞の溶解物を用いるホスホ-STAT5酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）の結果を示す。

【0064】

【図34】図34は、シグナルペプチド配列を含むヒトEPOのアミノ酸配列および核酸配列を示す。

【0065】

【図35A～C】図35A～35Eは、末梢リンパ節（pLN）遊走性cDC1におけるEpoR発現を示す。図35Aは、EpoR^{tdT}/+、Zbtb46gfp/+EpoR^{tdT}/+、CCR7^{-/-}EpoR^{tdT}/+、およびBatf3^{-/-}EpoR^{tdT}/+マウスからのpLN遊走性および常在性cDC1におけるEpoR発現のフローサイトメトリー分析を示す。図35Bは、個々のマウス系統の遊走性および常在性cDC1におけるEpoR発現のヒストグラムを示す。図35Cは、個々の鼠径、腋窩、上腕（branchial）、または浅頸リンパ節におけるEPOR発現のフロー分析を示す。図35Dは、pLN遊走性cDCにおけるEPORおよびCD103発現のフローサイトメトリー分析を示す。図35Eは、Rosa26-lox-Stop-lox-EYFPマウスとのEpoR^{tdT}-creマウス交配の実験スキーム、およびEYFP発現についてのpLN遊走性cDC1（MHCII^{high}CD11interXCR1⁺）のフローサイトメトリー分析を示す。

【図35D～E】同上。

【0066】

【図36】図36は、DEC205⁺およびCCR7⁺を発現する末梢LN遊走性EpoR⁺XCR1⁺cDC1のフローサイトメトリー分析を示す。図36は、EpoR^{high}遊走性cDC1とEpoR^{low}遊走性cDCにおけるPD-L1、Tim3、AxlおよびCD131発現を比較するヒストグラムも示す。

【0067】

【図37】図37A～37Cは、DEC205-OvaおよびOva発現細胞に向かうAg特異的Tregの誘導に対する末梢LN（pLN）遊走性EpoR⁺XCR1⁺cDC1の効果を示す。図37Aは、pLN遊走性および常在性EpoR⁺cDC1およびEpoR⁻cDC1のフローサイトメトリー分析を示す。図37Bは、TGFβ処置ありまたはなしの、CD45.2⁺cDC1、精製マクロファージ、およびDEC-205-Ovaと培養されたCellTrace（商標）Violet（CTV）標識化ナイーブCD45.1⁺OT-II細胞のFoxP3発現のフローサイトメトリーおよび定量化を示す。図37Cは、TGFβ処置ありもしくはなし、またはEPO処置ありもしくはなしの、CD45.2⁺cDC1、精製マクロファージ、およびGray照射Act-mOVA胸腺細胞（CD45.2⁺）と培養されたCellTrace（商標）Violet（CT

10

20

30

40

50

V) 標識化ナイーブCD45. 1⁺OT-II細胞のFoxP3発現のフローサイトメトリーおよび定量化を示す。

【0068】

【図38】図38A～38Cは、カルバミル化EPO (CEPO) 処置による*in vitro*の抗原 (Ag) 特異的調節性T細胞 (Treg) 誘導を示す。図38Aは、EPOまたはCEPO処置ありの、CD11c^{Int}MHCII^{High}XR1⁺cDC1のFoxP3発現および増殖 (CellTrace (商標) Violet (CTV)) のフローサイトメトリー分析を示す。図38Aは、未処置 (UNT) のまたはEPOもしくはCEPO処置ありの生存OT-IIにおけるFoxP3+Tregパーセントの定量化も示す。図38Bは、樹状細胞にmTORノックアウトを有するマウス (mTOR^ΔXR1) 、樹状細胞にEPORノックアウトを有するマウス (EPOR^ΔXR1) 、および同腹仔対照による、抗原特異的寛容に対するEPOまたはCEPOの効果を研究する実験スキームを示す。

10

【0069】

【図39】図39A～39Cは、アポトーシス細胞を持つ遊走性cDCにおけるEPORの発現を示す。図39Aは、cDC1を三番目の乳房脂肪体に注射されたマウスの実験スキームを示す。図39Bは、三番目の乳房脂肪体のcDC1におけるEPOR発現のフローサイトメトリー分析を示す。図39Cは、PKH67標識化CD45. 1⁺デキサメタゾン (DEX) 誘導アポトーシス胸腺細胞を注射された、流入領域リンパ節 (鼠径LN) におけるEPOR発現のフローサイトメトリー分析を示す。

20

【0070】

【図40】図40A～40Bは、細胞関連Ag (Ova) に対する流入領域リンパ節における末梢Ag特異的寛容に対するEPOの効果を示す。図40Aは、-1日目に5×10⁵個の精製マクロファージおよびCellTrace (商標) Violet (CTV) 標識化ナイーブCD45. 1⁺OT-II細胞を*i.v.*注射する実験スキームを示す。0日目に、デキサメタゾン (DEX) 誘導アポトーシスAct-mOVA胸腺細胞を、三番目の乳房脂肪体に*s.c.*注射した。50IUのEPOを、4連続日の過程にわたって、*i.p.*で与えた。図40Bは、EPOありまたはなしの流入領域リンパ節 (鼠径LN) のCD45. 1⁺OT-IIにおけるFoxP3発現のフローサイトメトリー分析および定量化を示す。

30

【0071】

【図41】図41A～41Cは、IME003およびIME004の結合活性を示す。図41Aは、IME003およびIME004のさまざまな濃度でのIME083またはIME020へのIME003およびIME004の結合を示す。図41Bは、IME003の種々の濃度でのIME003へのIME061/IME062、IME061/IME063、IME061/IME064、IME063/IME084の結合を示す。図41Cは、IME004の種々の濃度でのIME004へのIME061/IME062、IME061/IME063、IME061/IME064、IME063/IME084の結合を示す。

【0072】

【図42A】図42A～42Dは、赤色のシグナルペプチド配列を含む、ヒトEPOR細胞外ドメイン (ECD) またはヒトCD131 ECD、ヒトCD131 D3D4ドメイン、およびヒトEPOR (F93A) ドメインのアミノ酸配列および核酸配列を示す。図42Aは、IME020およびIME061におけるヒトEPOR ECDのアミノ酸配列および核酸配列を示す。図42Bは、IME062におけるヒトCD131 ECDのアミノ酸配列および核酸配列を示す。図42Cは、IME063におけるヒトCD131 D3D4ドメインのアミノ酸配列および核酸配列を示す。図42Dは、IME083およびIME034におけるヒトEPOR (F93A) ドメインのアミノ酸配列および核酸配列を示す。

40

【図42B】同上。

50

【図 4 2 C】 同上。

【図 4 2 D】 同上。

【発明を実施するための形態】

【0073】

本開示の詳細な説明

本開示のさまざまな実施形態を本明細書に記載するが、当業者には、そのような実施形態が、例としてのみ提供されていることが自明であろう。本明細書に記載される実施形態に対する多数の改変および変更、ならびにその変形および置換は、本開示から逸脱することなく、当業者に明らかであろう。本明細書に記載される実施形態に対するさまざまな代替を、本開示の実施において用いることができることが理解される。本開示のすべての実施形態を、その実施形態と一致する本明細書に記載される他の実施形態のいずれか1つまたは複数と必要に応じて組み合わせることができることも理解される。

10

【0074】

要素が、リスト形式（例えば、マーカッシュ群）で提示される場合、要素のそれぞれの可能な下位群も開示されていること、およびいずれか1つまたは複数の要素をリストまたは群から除去することができることが理解される。

【0075】

反対のことが明確に示されない限り、2つ以上の行為またはステップを含む本明細書に記載されるまたは特許請求の範囲にかかる任意の方法において、方法の行為またはステップの順序は、方法の行為またはステップが挙げられた順序に必ずしも限定されないが、本開示は、順序がそのように限定された実施形態を包含する。

20

【0076】

一般に、本明細書または特許請求の範囲における実施形態が1つまたは複数の特徴を含むとして言及される場合、本開示は、そのような特徴からなるか、またはそれから本質的になる実施形態も包含することがさらに理解される。

【0077】

本開示の任意の実施形態、例えば、先行技術内で見出される任意の実施形態は、特定の除外が本明細書において挙げられているか否かどうにかかわらず、特許請求の範囲から明確に除外することができることも理解される。

【0078】

本明細書のペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質、例えば、抗体またはその断片への言及は、他に具体的に述べられない限り、または文脈が明らかに他を示さない限り、薬学的に許容されるその塩を含むことがさらに理解される。そのような塩は、正の正味電荷、負の正味電荷を有し得るか、または正味電荷なしであり得る。

30

【0079】

見出しは、参照のためおよびある特定のセクションの場所を見つけるのを助けるために本明細書に含まれる。見出しは、その見出しの下にセクションに記載される実施形態および概念の範囲を限定することを意図するものではなく、その実施形態および概念は、本開示全体を通して、他のセクションにおいて適用可能であり得る。

【0080】

本明細書に引用されたすべての特許文献およびすべての非特許文献は、それぞれの特許文献または非特許文献が、その全体が参照により本明細書に組み込まれることが具体的におよび個々に示されたのと同程度まで、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

40

【0081】

赤血球前駆細胞の他に、増加している証拠は、非赤血球細胞、例えば、造血幹細胞（HSC）、巨核球、B細胞、T細胞、マクロファージ（MΦ）、内皮細胞、およびニューロンにおける幅広いEPOR発現を示唆している（Broxmeyer, J Exp Med 2013: 210:205-208）。とりわけ、EPOの免疫調節の役割は、ますます認識されている（Cantarelli et al., Am J Transplant 2019:19:2407-2414; Peng et al.,

50

Cell Death Dis 2020;11:79)。EPOシグナル伝達の関与は、NFκB誘導免疫経路を阻害することによって、炎症応答を抑制する(Nairz et al., Immunity 2011;34:61-74)。また、EPOは、有効なエフェロサイトーシスのためにMΦをプライムし、それによって、自己免疫を防止する(Luo et al., Immunity 2016;44:287-302)。

【0082】

EPOは、虚血性再灌流傷害および心筋梗塞において心臓保護的である。EPOは、内皮一酸化窒素(NO)シンターゼ(eNOS)およびNO産生を活性化する冠状動脈内皮細胞を刺激することによって媒介される新血管新生に関連する心臓機能を改善する(Teng et al., Basic Res. Cardiol. 2011;106:343-354)。

10

【0083】

EPOは、生理学的状態および病理学的状態、例えば、虚血性心血管疾患および腫瘍において内皮細胞(EC)および内皮前駆細胞(EPC)を活性化することによって、新血管新生および血管新生を刺激する。EPORの活性化は、ECおよびEPCの動員、増殖、遊走、および分化をもたらす(Annese et al., Experimental Cell Research, 2019: 374(2):266-273)。

【0084】

中枢神経系において、EPOおよびEPORは、ニューロン、グリア細胞および脳血管内皮によって発現される。EPOは、in vitroで、ならびに外傷、脳卒中、虚血、炎症およびてんかん発作と関連する神経損傷の動物モデルにおいて、神経栄養性および神経保護的であることが示された。EPOの有益な効果はまた、脳卒中、統合失調症および進行性多発性硬化症の臨床研究において実証された。EPOは、アポトーシスを防止することによって直接的に、そして炎症プロセスをモジュレートすること、ならびに神経発生および血管新生を刺激することによって間接的にの両方で、ニューロンを保護する(Wang et al., Stroke 2004;35:1732-7)。

20

【0085】

代謝のEPOによる調節は、酸素送達を超えて広がり、白色脂肪組織および代謝恒常性の維持に寄与する。EPOは、特に雄マウスにおいて、食事性肥満において保護的であり、耐糖能を改善し、インスリン抵抗性を低減し、脂肪量蓄積(fat mass accumulation)を調節する(Alnaeeli and Noguchi, Adipocyte 2015;4:153-157)。EPOは、白色脂肪組織においてマクロファージ浸潤の炎症誘発応答をモジュレートし、炎症性サイトカインの発現を阻害し、マクロファージ浸潤を低減することによって、抗炎症性表現型を促進する(Alnaeeli et al., Diabetes Metab. Res. Rev. 2014;63:2415-2431)。

30

【0086】

EPOの細胞保護的効果の一部が、標準的EPORおよび共通ベータ受容体(βcRまたはCD131; Brines et al., Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101:14907-14912)を含有するヘテロ二量体へのその結合を通して媒介されることが示されている。興味深いことに、カルバミル化EPOは、これらのヘテロ受容体に結合し、組織保護効果を示すが、これは、古典的EPORに結合せず、赤血球生成を刺激しない。βcRは、赤血球生成に必要ではない。非造血細胞によって発現されるEPORと組み合わせられたβcRが、組織保護受容体を構成し、このようにして、組織保護的ヘテロ受容体が作出されると仮定される。

40

【0087】

EPOおよびEPORの発現レベルは調節される。EPO産生は、HIFによって媒介される低酸素条件下で誘導される(Semenza, Blood 2009;114(10):2015-9)。EPORの発現は、転写因子Sp1、GATA1、およびTAL1によって調節される。赤血球前駆細胞におけるEPORへのEPOの結合は、転写因子GATA1およびTAL1の発現を増加させ、これは次に、EPOR発現をトランス活性化する(Suresh et al., Front Physiol. 2020;10:1534)。EPORはまた、タンパク質レベルで調

50

節される。P85は、EPORのエンドサイトーシスおよび分解を促進する。プロリルヒドロキシラーゼD3 (PHD3)は、EPORのプロリンヒドロキシル化を媒介し、プロテアソーム分解をもたらす。TFR2およびScribbleは、EPORの再利用を容易にする (Bhoopalan et al., F1000Res. 2020; 9: F1000 Faculty Rev -1153)。

【0088】

本発明者らは、EPORが、樹状細胞 (DC) およびマクロファージ (肝臓転移誘導全身性抗原特異的免疫寛容を含む、広範囲の原発性および転移性腫瘍におけるMΦ) を含む骨髄性細胞による腫瘍免疫寛容の誘導において重要な役割を果たすことを最近見出した (図2)。また、EPORは、同種臓器、例えば、腎臓、肝臓、肺、心臓などの移植における骨髄性細胞媒介寛容に必須である (図2)。

10

【0089】

定義

本明細書におけるそれらの使用によって他に定義されない限り、または他に明確に示されない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、本出願が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。

【0090】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、不定冠詞「a」および「an」、ならびに定冠詞「the」は、他に具体的に述べられない限り、または文脈が明らかに他を示さない限り、複数の指示対象ならびに単数の指示対象を含み得る。

20

【0091】

「約」または「およそ」という用語は、値が測定または決定される方法の一部では依存する、当業者によって決定される特定の値に対する許容される誤差を意味する。ある特定の実施形態では、「約」または「およそ」という用語は、1標準偏差以内を意味する。一部の実施形態では、誤差の特定の限界 (例えば、チャートまたはデータの表において与えられた平均値に対する標準偏差) が挙げられていない場合、「約」または「およそ」という用語は、挙げられた値を包含するであろう範囲、および有効数字を考慮して同様に挙げられた値の上下を丸めることによって含まれるであろう範囲を意味する。ある特定の実施形態では、「約」または「およそ」という用語は、規定された値の±10%、5%、4%、3%、2%または1%以内を意味する。「約」または「およそ」という用語が、一連の2つもしくはそれよりも多くの数値、または数値の一連の2つもしくはそれよりも多くの範囲の最初の数値に先行する場合はいつでも、「約」または「およそ」という用語は、その一連の数値またはその一連の数値の範囲の数値のそれぞれ1つに適用される。

30

【0092】

「抗体」という用語は、結合タンパク質として機能的に定義され、免疫グロブリン (Ig) コード遺伝子のフレームワーク領域に由来するものとして認識されるアミノ酸配列を含むものとして構造的に定義される、タンパク質を指し得る。抗体は、免疫グロブリン遺伝子または免疫グロブリン遺伝子の断片によって実質的にコードされる1つまたは複数のポリペプチドを含むことができる。認識される免疫グロブリン遺伝子としては、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロンおよびミュー定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が挙げられ得る。軽鎖は、カッパまたはラムダのいずれかとして分類され得る。重鎖は、ガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、またはイプシロンとして分類され得、これは、次に、それぞれ、免疫グロブリンクラスIgG、IgM、IgA、IgDおよびIgEを定義する。一部の実施形態では、これらは、サブクラス (アイソタイプ)、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1およびIgA2にさらに細分化されることがある。

40

【0093】

典型的なガンマ免疫グロブリン (抗体) 構造単位は、四量体を含むことが公知である。それぞれの四量体は、それぞれの対が1つの「軽」鎖 (約25kD) および1つの「重」鎖 (約50~70kD) を有する、ポリペプチド鎖の2つの同一の対から構成され得る。

50

それぞれの鎖のN末端は、抗原認識の主な原因になる約100～110またはそれよりも多くのアミノ酸の可変領域を規定し得る。可変軽鎖（ V_L ）および可変重鎖（ V_H ）という用語は、それぞれ、これらの軽鎖および重鎖を指し得る。

【0094】

抗体は、インタクト免疫グロブリンとして、またはいくつかの十分に特徴付けられた断片として存在し得る。そのため、例えば、ペプシンは、ヒンジ領域中のジスルフィド連結より下で抗体を消化して、 Fab' の二量体である $F(ab)_2'$ を生じさせ、それ自身は、本来ジスルフィド結合によって $VH-CH1$ -ヒンジに接合された軽鎖である。 $F(ab)_2'$ は、穏やかな条件下で還元されて、ヒンジ領域中のジスルフィド連結を破壊し、それによって、 $(Fab')_2$ 二量体を Fab' 単量体に変換し得る。 Fab' 単量体は、本質的に、ヒンジ領域の部分を含む Fab である（他の抗体断片のより詳細な説明について、Fundamental Immunology, W. E. Paul, ed., Raven Press, N.Y. (1993)を参照されたい）。さまざまな抗体断片が、インタクト抗体の消化に関して定義されているが、当業者は、断片が、化学的に、または組換えDNA法を利用することによってのいずれかで、デノボ合成され得ることを理解するであろう。そのため、抗体という用語は、本明細書で使用される場合、抗体全体の改変によって生成されたか、または組換えDNA方法論を使用して合成されたかのいずれかの抗体断片も含み得る。好ましい抗体としては、一本鎖抗体（単一のポリペプチド鎖として存在する抗体）、例えば、可変重および可変軽領域と一緒に接合して（直接的にまたはペプチドリンカーを通して）、連続的なポリペプチドを形成する一本鎖 Fv 抗体（ sFv または $scFv$ ）を含む、 $VH-VL$ 二量体が挙げられ得る。一本鎖 Fv 抗体は、直接的に接合されたか、またはペプチドコードリンカーによって接合されたかのいずれかの VH および VL コード配列を含む核酸から発現され得る共有結合的に連結された $VH-VL$ ヘテロ二量体である（例えば、Huston, et al. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883, 1988、これは、その全体が参考として本明細書に組み込まれる）。 VH および VL は、単一のポリペプチド鎖としてそれぞれに接続されるが、 VH および VL ドメインは、非共有結合的に会合する。あるいは、抗体は、別の断片であり得る。組換え技法を使用することを含んで、他の断片を作成することもできる。例えば、重鎖または軽鎖の一方が $g3$ カプシドタンパク質に融合され、相補鎖が、可溶性分子としてペリプラズムに排出される場合、 Fab 分子は、ファージ上にディスプレイされ得る。2つの鎖は、同じまたは異なるレプリコンにおいてコードされ得、それぞれの Fab 分子中の2つの抗体鎖は、翻訳後にアSEMBLされ、二量体は、 $g3p$ の鎖の一方への連結を介してファージ粒子に組み込まれる（例えば、米国特許第5,733,743号を参照されたい、これは、その全体が参考として本明細書に組み込まれる）。 $scFv$ 抗体、ならびに本来は凝集するが、化学的に分離された抗体 V 領域由来のポリペプチド軽鎖および重鎖を、抗原結合部位の構造に実質的に類似する三次元構造にフォールディングする分子に変換する、いくつかの他の構造が、当業者に公知である（例えば、米国特許第5,091,513号、同第5,132,405号、および同第4,956,778号を参照されたい、これらはすべて、それらの全体が参考として本明細書に組み込まれる）。特に好ましい抗体は、ファージ上にディスプレイされたか、またはベクターを使用する組換え技術によって作成されたすべてのものを含み得、ここで、鎖は、可溶性タンパク質、例えば、 $scFv$ 、 Fv 、 Fab 、 $(Fab')_2$ として分泌される。抗体は、ダイアボディ（*diabody*）およびミニボディ（*minibody*）も含み得る。

【0095】

抗体は、重鎖二量体、例えば、ラクダ科動物由来の抗体も含み得る。ラクダ科動物における重鎖二量体 IgG の VH 領域は、軽鎖との疎水性相互作用を作らなくてもよいので、通常、軽鎖と接触する重鎖中の領域は、ラクダ科動物では親水性アミノ酸残基に変化する。重鎖二量体 IgG の VH ドメインは、 VHH ドメインと呼ばれる。

【0096】

ラクダ科動物では、抗体レパートリーの多様性は、 VH または VHH 領域における相補

10

20

30

40

50

性決定領域（CDR）1、2、および3によって決定され得る。ラクダV_{HH}領域におけるCDR3は、平均して16アミノ酸の比較的長い長さによって特徴付けられ得る（Muyltermans et al., 1994, Protein Engineering 7(9): 1129、これは、その全体が参考として本明細書に組み込まれる）。これは、多くの他の種の抗体のCDR3領域と対照的である。例えば、マウスV_HのCDR3は、平均9アミノ酸を有し得る。

【0097】

ラクダ科動物の可変領域の*in vivo*多様性を維持する、ラクダ科動物由来抗体可変領域のライブラリーは、例えば、その全体が参考として本明細書に組み込まれる、2005年2月17日に公開された米国特許出願公開第US20050037421号に開示されている方法によって作製することができる。

【0098】

「機能的断片」、「抗原結合部分」、「抗原結合断片」、「抗原結合ドメイン」、または「抗体断片」という用語は、抗原に特異的に結合する能力を維持する抗体の1つまたは複数の断片を指すために本明細書で互換的に使用され得る。代表的な抗原結合断片としては、限定されるものではないが、Fab、Fab'、(Fab')₂、Fv、scFv、dsFv、可変重ドメイン、可変軽ドメイン、可変NARドメイン、二特異性scFv、二特異性Fab₂、三特異性Fab₃、AVIMER（登録商標）、ミニボディ、ダイアボディ、マキシボディ（maxibody）、ラクダ科、V_{HH}、イントラボディ（intrabody）、抗体部分を含む融合タンパク質（例えば、ドメイン抗体）、一本鎖結合ポリペプチド、scFv-Fc、またはFab-Fcが挙げられ得る。

【0099】

一部の事例では、抗体またはその機能的断片は、単離された抗体もしくはその機能的断片、精製された抗体もしくはその機能的断片、組換え抗体もしくはその機能的断片、改変された抗体もしくはその機能的断片、または合成抗体もしくはその機能的断片を含み得る。本明細書に記載される抗体を、本明細書に記載されるように、または当技術分野において公知であるように、改変することができることが理解されるであろう。一部の事例では、本明細書に記載される抗体およびその機能的断片は、部分的にまたは全体的に、合成的に生成され得る。抗体またはその機能的断片は、抗原結合ドメインであり得るか、またはそれに相同であり得る、結合ドメインを有するポリペプチドまたはタンパク質であり得る。一部の事例では、抗体またはその機能的断片は、適切な*in vivo*動物モデルにおいて産生させ、次いで、単離および／または精製することができる。

【0100】

「Fc領域」という用語は、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用することができる。「Fc領域」は、ネイティブ配列Fc領域またはバリエーションFc領域であり得る。免疫グロブリンのFc領域は、一般に、2つの定常ドメインCH2およびCH3を含むことができる。

【0101】

「抗体」としては、限定されるものではないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、二特異性抗体、多特異性抗体、ヘテロコンジュゲート抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、脱免疫化抗体、その変異体、その融合体、そのイムノコンジュゲート、その抗原結合断片、その機能的断片、ならびに／または必要な特異性の抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子の任意の他の改変された構成、例えば、抗体のグリコシル化バリエーション、抗体のアミノ酸配列バリエーション、および／もしくは共有結合的に改変された抗体が挙げられ得る。

【0102】

抗体は、ヒト抗体であり得る。ヒト抗体は、ヒトによって産生されたおよび／または当技術分野において公知のもしくは本明細書に開示されるヒト抗体を作製するための技法のいずれかを使用して作製された抗体のものに対応するアミノ酸配列を有する抗体であり得る。ヒト抗体のこの定義は、少なくとも1つのヒト重鎖ポリペプチドまたは少なくとも1つのヒト軽鎖ポリペプチドを含む抗体を含む。そのような一例は、マウス軽鎖およびヒト

10

20

30

40

50

重鎖ポリペプチドを含む抗体である。ヒト抗体は、当技術分野において公知のさまざまな技法を使用して生成することができる。一実施形態では、ヒト抗体は、ファージライブラリーから選択され、ここで、ファージライブラリーは、ヒト抗体を発現する (Vaughan et al., 1996, *Nature Biotechnology*, 14:309-314; Sheets et al., 1998, *PNAS USA*, 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter, 1991, *J. Mol. Biol.*, 227:381; Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.*, 222:581)。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を、トランスジェニック動物、例えば、内因性免疫グロブリン遺伝子が部分的にまたは完全に不活性化されたマウスに導入することによって作製することもできる。このアプローチは、米国特許第5,545,807号;同第5,545,806号;同第5,569,825号;同第5,625,126号;同第5,633,425号;および同第5,661,016号に記載されている。あるいは、ヒト抗体は、標的抗原に対する抗体を産生するヒトBリンパ球を不死化することによって調製されてもよい(そのようなBリンパ球は、対象から回収され得るか、または *in vitro* で免疫化され得る)。例えば、Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., 1991, *J. Immunol.*, 147 (1):86-95; および米国特許第5,750,373号を参照されたい。

10

【0103】

本明細書で使用される場合、抗体の「結合特異性」または「抗体特異性」という用語は、抗体が結合する抗原の正体、好ましくは、抗体が結合するエピトープの正体を指し得る。

20

【0104】

本明細書で使用される場合、「キメラポリヌクレオチド」という用語は、ポリヌクレオチドが、野生型である領域および変異されている領域を含むことを意味し得る。これは、ポリヌクレオチドが、1つのポリヌクレオチド由来の野生型領域および別の関連ポリヌクレオチド由来の野生型領域を含むことも意味し得る。

【0105】

本明細書で使用される場合、「相補性決定領域」または「CDR」という用語は、KabatおよびChothiaによって例示される当技術分野において認識されている用語を指し得る。CDRはまた、一般に、超可変領域または超可変ループとして公知である (Chothia and Lesk (1987) *J. Mol. Biol.* 196: 901; Chothia et al. (1989) *Nature* 342: 877; E. A. Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md.) (1987); および Tramontano et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 175、これらはすべて、それらの全体が参考として本明細書に組み込まれる)。「フレームワーク領域」または「FR」は、CDRに隣接するVドメインの領域を指し得る。CDRおよびフレームワーク領域の位置は、さまざまな当技術分野において周知の定義、例えば、Kabat、Chothia、国際IMMUNOGENTICSデータベース (IMGT)、およびAbMを使用して決定することができる(例えば、Johnson et al., 上記; Chothia & Lesk, 1987, *Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. J. Mol. Biol.* 196, 901-917; Chothia C. et al., 1989, *Conformations of immunoglobulin hypervariable regions. Nature* 342, 877-883; Chothia C. et al., 1992, *structural repertoire of the human VH segments J. Mol. Biol.* 227, 799-817; Al-Lazikani et al., *J. Mol. Biol.* 1997, 273(4)を参照されたい)。抗原結合部位の定義はまた、以下に記載されている: Ruiz et al., *IMGT, the international IMMUNOGENTICS database. Nucleic Acids Res.*, 28, 219-221 (2000); および Lefranc, M.-P. *IMGT, the international IMMUNOGENTICS database. Nucleic Acids Res. Jan 1;29(1):207-9* (2001); MacCallum et al., *Antibody-antigen interactions: Contact anal*

30

40

50

ysis and binding site topography, J. Mol. Biol., 262 (5), 732-745 (1996); および Martin et al, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 86, 9268-9272 (1989); Martin, et al, Methods Enzymol., 203, 121-153, (1991); Pedersen et al, Immunomethods, 1, 126, (1992); および Rees et al, In Sternberg M. J. E. (ed.), Protein Structure Prediction, Oxford University Press, Oxford, 141-172 1996、これらはすべて、それらの全体が参考として本明細書に組み込まれる)。

【0106】

本明細書で使用される場合、「親和性」という用語は、2つの薬剤の可逆的結合についての平衡定数を指し得、結合親和性 (K_D) として表される。一部の 경우에는、 K_D は、抗体または抗原結合断片／抗原複合体からの抗体の解離についての速度定数を指し得る k_{off} の、抗原への抗体、抗原結合ドメイン、または抗原結合断片の会合についての速度定数を指し得る k_{on} に対する比として表すことができる。結合親和性は、例えば、表面プラズモン共鳴 (SPR; Biacore)、Kinexa バイオセンサー、シンチレーション近接アッセイ、酵素結合免疫吸着検定法 (ELISA)、ORIGEN イムノアッセイ (IGEN)、蛍光消光、蛍光移動、酵母ディスプレイ、またはその任意の組合せを含む、当技術分野において公知の方法を使用して決定されてもよい。結合親和性はまた、好適なバイオアッセイを使用してスクリーニングされてもよい。本明細書の抗体、抗原結合ドメイン、または抗原結合断片の結合親和性 (K_D) は、600 nM 未満、590 nM 未満、580 nM 未満、570 nM 未満、560 nM 未満、550 nM 未満、540 nM 未満、530 nM 未満、520 nM 未満、510 nM 未満、500 nM 未満、490 nM 未満、480 nM 未満、470 nM 未満、460 nM 未満、450 nM 未満、440 nM 未満、430 nM 未満、420 nM 未満、410 nM 未満、400 nM 未満、390 nM 未満、380 nM 未満、370 nM 未満、360 nM 未満、350 nM 未満、340 nM 未満、330 nM 未満、320 nM 未満、310 nM 未満、300 nM 未満、290 nM 未満、280 nM 未満、270 nM 未満、260 nM 未満、250 nM 未満、240 nM 未満、230 nM 未満、220 nM 未満、210 nM 未満、200 nM 未満、190 nM 未満、180 nM 未満、170 nM 未満、160 nM 未満、150 nM 未満、140 nM 未満、130 nM 未満、120 nM 未満、110 nM 未満、100 nM 未満、90 nM 未満、80 nM 未満、70 nM 未満、50 nM 未満、50 nM 未満、49 nM 未満、48 nM 未満、47 nM 未満、46 nM 未満、45 nM 未満、44 nM 未満、43 nM 未満、42 nM 未満、41 nM 未満、40 nM 未満、39 nM 未満、38 nM 未満、37 nM 未満、36 nM 未満、35 nM 未満、34 nM 未満、33 nM 未満、32 nM 未満、31 nM 未満、30 nM 未満、29 nM 未満、28 nM 未満、27 nM 未満、26 nM 未満、25 nM 未満、24 nM 未満、23 nM 未満、22 nM 未満、21 nM 未満、20 nM 未満、19 nM 未満、18 nM 未満、17 nM 未満、16 nM 未満、15 nM 未満、14 nM 未満、13 nM 未満、12 nM 未満、11 nM 未満、10 nM 未満、9 nM 未満、8 nM 未満、7 nM 未満、6 nM 未満、5 nM 未満、4 nM 未満、3 nM 未満、2 nM 未満、1 nM 未満、990 pM 未満、980 pM 未満、970 pM 未満、960 pM 未満、950 pM 未満、940 pM 未満、930 pM 未満、920 pM 未満、910 pM 未満、900 pM 未満、890 pM 未満、880 pM 未満、870 pM 未満、860 pM 未満、850 pM 未満、840 pM 未満、830 pM 未満、820 pM 未満、810 pM 未満、800 pM 未満、790 pM 未満、780 pM 未満、770 pM 未満、760 pM 未満、750 pM 未満、740 pM 未満、730 pM 未満、720 pM 未満、710 pM 未満、700 pM 未満、690 pM 未満、680 pM 未満、670 pM 未満、660 pM 未満、650 pM 未満、640 pM 未満、630 pM 未満、620 pM 未満、610 pM 未満、600 pM 未満、590 pM 未満、580 pM 未満、570 pM 未満、560 pM 未満、550 pM 未満、540 pM 未満、530 pM 未満、520 pM 未満、510 pM 未満、500 pM 未満、490 pM 未満、480 pM 未満、470 pM 未満、460 pM 未満、450 pM 未満、440 pM 未満、430 pM 未満、420 pM 未満、410 pM 未満、400 p

10

20

30

40

50

M未満、390 pM未満、380 pM未満、370 pM未満、360 pM未満、350 pM未満、340 pM未満、330 pM未満、320 pM未満、310 pM未満、300 pM未満、290 pM未満、280 pM未満、270 pM未満、260 pM未満、250 pM未満、240 pM未満、230 pM未満、220 pM未満、210 pM未満、200 pM未満、190 pM未満、180 pM未満、170 pM未満、またはそれらの間の任意の整数であり得る。

【0107】

抗体は、それが、他の物質に結合するよりも、より高い親和性、アビディティーで、より容易に、および／またはより長い期間、標的に結合することができる場合に、標的に選択的に結合することができる。例えば、EPOタンパク質に選択的に結合する抗EPO抗体またはその機能的断片は、それが、EPOタンパク質ではないタンパク質に結合するよりも、より高い親和性、アビディティーで、より容易に、および／またはより長い期間、この標的に結合することができる、抗体または機能的断片である。

10

【0108】

本明細書で使用される場合、「EPOアナログ」という用語は、そのポリペプチド構造の改変を有するポリペプチド、または野生型ヒトエリスロポエチンと比較して、より短い、より長い、および／もしくは異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドを指し得、これらはすべて、高い親和性で、ヘテロ-EPORまたはホモ-EPORに結合する。EPOアナログは、ヘテロ-EPORまたはホモ-EPORのアンタゴニストまたはアゴニストであってもよい。EPOアナログは、ヘテロ-EPORの活性またはホモ-EPORの活性を遮断してもよい。EPOアナログは、ホモ-EPORを活性化することなく、ヘテロ-EPORを活性化してもよい。EPOアナログは、ヘテロ-EPORを活性化することなく、ホモ-EPORを活性化してもよい。EPOアナログは、ホモ-EPORを阻害することなく、ヘテロ-EPORを阻害してもよい。EPOアナログは、ヘテロ-EPORを阻害することなく、ホモ-EPORを阻害してもよい。

20

【0109】

「少なくとも」または「より大きな」という用語が、一連の2つまたはそれよりも多くの数値の最初の数値に先行する場合はいつでも、「少なくとも」または「より大きな」という用語は、その一連の数値中の数値のそれぞれ1つに適用される。

【0110】

「異種」という用語は、それが関連するアミノ酸またはヌクレオチド配列と関連して天然で見出されないアミノ酸またはヌクレオチド配列を指し得る。

30

【0111】

本明細書で使用される場合、「免疫療法」という用語は、免疫系の構成要素、例えば、抗体または免疫細胞のモジュレートを目的とするか、または免疫系を刺激する、阻害する、もしくはそうでなければモジュレートする薬物もしくは他の薬剤による、特定の療法を指し得る。例えば、「免疫療法」は、チェックポイント阻害剤療法、養子細胞療法および／または自己もしくは同種CAR T細胞療法を指し得る。

【0112】

「以下」または「未満」という用語が、一連の2つまたはそれよりも多くの数値の最初の数値に先行する場合はいつでも、「以下」または「未満」という用語は、その一連の数値中の数値のそれぞれ1つに適用される。

40

【0113】

「ポリヌクレオチド」という用語は、ヌクレオチド単位から構成されるポリマーを指し得る。ポリヌクレオチドとしては、デオキシリボ核酸（「DNA」）およびリボ核酸（「RNA」）などの天然に存在する核酸、ならびに核酸アナログが挙げられ得る。核酸アナログとしては、天然に存在しない塩基、天然に存在するホスホジエステル結合以外の他のヌクレオチドとの連結に参加するヌクレオチド、または／およびホスホジエステル結合以外の連結を通して付着した塩基が挙げられ得る。ヌクレオチドアナログの非限定的な例としては、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロトリエステル、ホスホル

50

アミデート、ボラノホスフェート、メチルホスホネート、キラルーメチルホスホネート、2-Ο-メチルリボヌクレオチド、ペプチド核酸（PNA）などが挙げられ得る。そのようなポリヌクレオチドは、例えば、自動DNA合成機を使用して合成することができる。「核酸分子」という用語は、より大きなポリヌクレオチドを指し得る。「オリゴヌクレオチド」という用語は、より短いポリヌクレオチドを指し得る。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、約50以下のヌクレオチドを含み得る。ヌクレオチド配列がDNA配列（すなわち、A、T、G、C）によって表される場合、これは、「U」が「T」を置き換えるRNA配列（すなわち、A、U、G、C）も含むことが理解される。

【0114】

「ポリペプチド」という用語は、ペプチド結合を介して連結される、天然または／および非天然アミノ酸残基、天然に存在するその構造的バリエーション、または／および合成の天然に存在しないそのアナログから構成されるポリマーを指し得る。合成ポリペプチドは、例えば、自動ポリペプチド合成機を使用して合成することができる。ポリペプチドは、ポリペプチドをコードする核酸配列を発現する細胞において組換え的に産生させることもできる。「タンパク質」という用語は、より大きなポリペプチドを指し得る。「ペプチド」という用語は、より短いポリペプチドを指し得る。ある特定の実施形態では、ペプチドは、約50以下、約40以下または約30以下のアミノ酸残基を含み得る。ポリペプチドは、抗体およびその断片を含み得る。従来の表記が、ポリペプチド配列を描くために本明細書で使用され、ポリペプチド配列の左側末端は、アミノ（N）末端であり、ポリペプチド配列の右側末端は、カルボキシル（C）末端である。

【0115】

ポリペプチドは、1つまたは複数の改変が意図的であるか否かどうにかかわらず、1つまたは複数の翻訳後改変などのポリペプチドの合成または細胞産生の過程の間に行われ得る1つまたは複数の改変を含み得る。改変としては、限定されないが、グリコシル化（例えば、N-連結グリコシル化およびO-連結グリコシル化）、脂質化、リン酸化、硫酸化、アセチル化（例えば、N末端のアセチル化）、アミド化（例えば、C末端のアミド化）、ヒドロキシル化、メチル化、分子内または分子間ジスルフィド結合の形成、2つの側鎖間のラクタムの形成、ピログルタメートの形成、カルバミル化、およびユビキチン化が挙げられ得る。別の例として、ポリペプチドは、天然ポリマー（例えば、多糖）もしくは合成ポリマー（例えば、ポリエチレングリコール [PEG]）に付着し得、脂質化され得（例えば、C₈〜C₂₀アシル基でアシル化される）、または検出可能な作用物質（例えば、放射性核種、蛍光色素もしくは酵素）で標識され得る。PEG化は、プロテアーゼ抵抗性、安定性および半減期を増加させ、溶解度を増加させ、ポリペプチドの凝集を低減することができる。

【0116】

「保存的置換」という用語は、機能的、構造的または化学的に類似する天然または非天然アミノ酸によるポリペプチド中のアミノ酸の置換を指し得る。ある特定の実施形態では、以下の群は、互いに対して保存的置換である天然アミノ酸をそれぞれ含有する：

- 1) グリシン（Gly／G）、アラニン（Ala／A）；
- 2) イソロイシン（Ile／I）、ロイシン（Leu／L）、メチオニン（Met／M）、バリン（Val／V）；
- 3) フェニルアラニン（Phe／F）、チロシン（Tyr／Y）、トリプトファン（Trp／W）；
- 4) セリン（Ser／S）、トレオニン（Thr／T）、システイン（Cys／C）；
- 5) アスパラギン（Asn／N）、グルタミン（Gln／Q）；
- 6) アスパラギン酸（Asp／D）、グルタミン酸（Glu／E）；および
- 7) アルギニン（Arg／R）、リシン（Lys／K）、ヒスチジン（His／H）。

【0117】

さらなる実施形態では、以下の群は、互いに対して保存的置換である天然アミノ酸をそれぞれ含有する：

- 1) 非極性：Ala、Val、Leu、Ile、Met、Pro（プロリン／P）、Phe、Trp；
- 2) 疎水性：Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp；
- 3) 脂肪族：Ala、Val、Leu、Ile；
- 4) 芳香族：Phe、Tyr、Trp、His；
- 5) 非荷電の極性または親水性：Gly、Ala、Pro、Ser、Thr、Cys、Asn、Gln、Tyr（チロシンは、極性側鎖を有する疎水性アミノ酸と見なされることがある）；
- 6) 脂肪族ヒドロキシルまたはスルフヒドリル含有：Ser、Thr、Cys；
- 7) アミド含有：Asn、Gln；
- 8) 酸性：Asp、Glu；
- 9) 塩基性：Lys、Arg、His；および
- 10) 小型：Gly、Ala、Ser、Cys。

10

【0118】

他の実施形態では、アミノ酸は、下記に示されるようにグループ化され得る：

- 1) 疎水性：Val、Leu、Ile、Met、Phe、Trp、Tyr；
- 2) 芳香族：Phe、Tyr、Trp、His；
- 3) 中性の親水性：Gly、Ala、Pro、Ser、Thr、Cys、Asn、Gln；
- 4) 酸性：Asp、Glu；
- 5) 塩基性：Lys、Arg、His；および
- 6) 主鎖の配向に影響を及ぼす残基：Pro、Gly。

20

【0119】

親ポリペプチドに対して1つまたは複数の改変を有するポリペプチドは、適切な場合、親ポリペプチドの「アナログ」、「誘導体」または「バリエーション」と呼ばれることがある。

【0120】

本開示は、正の正味電荷を有するもの、負の正味電荷を有するもの、および正味電荷を有さないものを含む、ポリペプチドの薬学的に許容される塩を包含する。

【0121】

30

「薬学的に許容される」という用語は、過度の刺激、アレルギー反応、免疫原性および毒性がなく、対象の組織および臓器と接触する使用に好適であり、妥当な利益／リスク比と釣り合った、意図される使用に有効な、物質（例えば、活性成分または添加物）を指し得る。医薬組成物の「薬学的に許容される」添加物または担体は、組成物の他の成分とも適合する。「薬学的に許容される」という用語は、化合物の生物学的活性または性質を抑制せず、相対的に非毒性である、担体または希釈剤などの材料を指し得、すなわち、材料は、望ましくない生物学的効果を引き起こすことなく、またはそれが含有される組成物の構成要素のいずれかと有害な様式で相互作用することなく、個体に投与され得る。薬学的に許容される添加物は、治療活性を有さず、投与される対象に対して非毒性である、医薬組成物中の任意の薬学的に許容される成分、例えば、医薬製品の製剤化において使用される、崩壊剤、結合剤、フィラー、溶媒、緩衝液、張度剤（tonicity agent）、安定剤、抗酸化剤、界面活性剤、担体、希釈剤、賦形剤、保存剤または滑沢剤を表し得る。医薬組成物は、生物への化合物の投与を容易にすることができ、薬学的に使用することができる調製物への活性化化合物の加工処理を容易にする1つまたは複数の薬学的に許容される不活性成分を使用して、従来の様式で製剤化することができる。適した製剤は、選択された投与の経路に依存し、医薬組成物の要約は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Edition (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., Pharma

40

50

ceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980 ; およ
びPharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Sevent
h Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999)に見ることができる。一部の
実施形態では、医薬組成物は、疾患組織または疾患細胞への注射のために、活性物質（例
えば、本明細書に記載されるE P O Rアゴニストまたはアンタゴニスト）を、水溶液に溶
解することによって製剤化することができる。一部の実施形態では、医薬組成物は、疾患
組織または疾患細胞への直接注射のために、活性物質（例えば、本明細書に記載されるE
P O Rアゴニストまたはアンタゴニスト）を、水溶液に溶解することによって製剤化する
ことができる。

【0122】

「ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」という用語は、 $5 \times \text{SSC}$ にて5
0 %のホルムアミド、 42°C の温度でのハイブリダイゼーション、および $0.2 \times \text{SSC}$
、 60°C でのフィルターの洗浄を指し得る（ $1 \times \text{SSC}$ は、 0.15 M の NaCl 、 0.015 M のクエン酸ナトリウムである）。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条
件は、洗浄のための低イオン強度および高温、例えば、 50°C での 0.015 M の塩化ナ
トリウム／ 0.0015 M のクエン酸ナトリウム／ 0.1% のドデシル硫酸ナトリウム；
 42°C での変性剤、例えば、ホルムアミド、例えば、 50% （ v/v ）のホルムアミドと
、 0.1% のウシ血清アルブミン／ 0.1% のFicoll／ 0.1% のポリビニルピロ
リドン／ 50 mM のリン酸ナトリウム緩衝液 $\text{pH} 6.5$ と 750 mM の塩化ナトリウム、
 75 mM のクエン酸ナトリウム；または 42°C での 50% のホルムアミド、 $5 \times \text{SSC}$ （
 0.75 M の NaCl 、 0.075 M のクエン酸ナトリウム）、 50 mM のリン酸ナトリ
ウム（ $\text{pH} 6.8$ ）、 0.1% のピロリン酸ナトリウム、 $5 \times$ デンハート液、超音波処理
サケ精子DNA（ $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）、 0.1% のSDS、および 10% の硫酸デキストラ
ンを用いるハイブリダイゼーションと、 $0.2 \times \text{SSC}$ （塩化ナトリウム／クエン酸ナト
リウム）中 42°C および 50% のホルムアミド中 55°C での洗浄、それに続いて、 55°C
でのEDTAを含有する $0.1 \times \text{SSC}$ からなる高ストリンジェンシーの洗浄も包含する
。

【0123】

「対象」という用語は、限定されるものではないが、哺乳動物、例えば、霊長類（例
えば、ヒト、チンパンジーまたはサル）、げっ歯類（例えば、ラット、マウス、モルモット
、スナネズミまたはハムスター）、ウサギ類（*lagomorph*）（例えば、ウサギ）
、ブタ（*swine*）（例えば、ブタ（*pig*））、ウマ（*equine*）（例えば、ウ
マ（*horse*））、イヌ（*canine*）（例えば、イヌ（*dog*））、またはネコ（
feline）（例えば、ネコ（*cat*））を含む動物を指し得る。哺乳動物の追加例と
しては、限定されるものではないが、哺乳動物綱の任意のメンバー：ヒト、非ヒト霊長類
、例えば、チンパンジー、ならびに他の類人猿およびサル種；家畜動物、例えば、ウシ、
ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタ；飼育動物、例えば、ウサギ、イヌ、およびネコ；げっ歯類、
例えば、ラット、マウスおよびハムスターなどを含む実験動物などが挙げられ得る。一部
の場合では、哺乳動物は、ヒトである。一部の事例では、対象は、成人、小児、または幼
児である。一部の場合では、対象は、動物であり得る。一部の場合では、動物は、人間お
よび非ヒト動物を含み得る。一実施形態では、非ヒト動物は、本明細書に記載される非ヒ
ト哺乳動物であり得る。一部の事例では、対象は、コンパニオン動物である。一部の事例
では、対象は、ネコ、イヌ、またはげっ歯類である。

【0124】

2つのポリペプチドまたはポリヌクレオチドの文脈における「実質的に相同」または「
実質的に同一」という用語は、配列比較アルゴリズムを使用して、または目視検査によっ
て測定される、最大対応について比較および整列される場合に、少なくとも約 50% 、 60% 、 65% 、 70% 、 75% 、 80% 、 85% 、 90% 、 91% 、 92% 、 93% 、 94% 、 95% 、 96% 、 97% 、 98% 、または 99% のアミノ酸または核酸残基配列同
一性を有する2つまたはそれよりも多くの配列または部分配列を指し得る。「実質的に相

同」または「実質的に同一」という用語は、少なくとも約70%のアミノ酸または核酸残基同一性を意味し得る。「実質的に相同」または「実質的に同一」という用語は、少なくとも約85%のアミノ酸または核酸残基配列同一性を意味し得る。実質的な相同性または同一性は、少なくとも約20、30、40、50、100、150または200残基の長さである配列の領域にわたって存在し得る。配列は、比較バイオポリマーのいずれかまたは両方の全長にわたって実質的に相同または同一であり得る。

【0125】

比較のための配列の最適なアライメントは、例えば、Smith and Waterman, Adv. Appl. Math., 2:482 (1981)の局所相同性アルゴリズムによって；Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol., 48:443 (1970)の相同性アライメントアルゴリズムによって；Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:2444 (1988)の類似性検索法によって；これらのアルゴリズムのコンピュータによる実施（例えば、Wisconsin Genetics Software Package、Genetics Computer Group、Madison、WisconsinにおけるGAP、BESTFIT、FASTA、およびTFASTA）によって；または目視検査によって実施することができる。

【0126】

有用なアルゴリズムの一例は、PILEUPである。PILEUPは、累進ペアワイズアライメントを使用して関連配列の群から多重配列アライメントを作出して、関係および配列同一性パーセントを示す。これは、アライメントを作出するために使用されるクラスタリング関係を示すツリーまたは樹状図もプロットする。PILEUPは、Feng and Doolittle, J. Mol. Evol., 35:351-360 (1987)の累進アライメント法の単純化したものを使用する。使用される方法は、Higgins and Sharp, CABIOS, 5:151-153 (1989)によって記載される方法と類似する。プログラムは、約5,000ヌクレオチドまたはアミノ酸の最大長さをそれぞれ有する、最大で約300配列を整列することができる。多重アライメント手順は、2つの最も類似する配列のペアワイズアライメントで開始し、2つの整列された配列のクラスターを生じさせる。次いで、このクラスターを、整列された配列の次に最も関連する配列またはクラスターと整列させる。配列の2つのクラスターを、2つの個々の配列のペアワイズアライメントの単純な伸長によって整列させる。最終的なアライメントは、一連の累進ペアワイズアライメントによって達成される。プログラムは、特定の配列、および配列比較の領域についてのそれらのアミノ酸またはヌクレオチド座標を指定することによって、ならびにプログラムパラメーターを指定することによって実行される。例えば、参照配列は、以下のパラメーターを使用して、配列同一性関連パーセントを決定するために他の試験配列と比較することができる：デフォルトギャップウェイト（3.00）、デフォルトギャップ長ウェイト（0.10）、および重み付きエンドギャップ。配列の多重アライメントを作成するために有用な別のアルゴリズムは、Clustal Wである（例えば、Thompson et al., Nucleic Acids Research, 22:4673-4680 [1994]を参照されたい）。

【0127】

配列同一性パーセントおよび配列類似性パーセントを決定するために好適なアルゴリズムの別の例は、BLASTアルゴリズムであり、これは、Altschul et al., J. Mol. Biol., 215:403-410 (1990)に記載されている。BLAST分析を実行するためのソフトウェアは、National Center for Biotechnology Informationを通して公に利用可能である。このアルゴリズムは、データベース配列中の同じ長さのワードと整列させた場合に、一部の正の閾値スコアTと一致するか、またはそれを満たす、クエリー配列中に長さWの短いワードを特定することによって、高スコア配列ペア（HSP）を最初に特定することを含む。Tは、隣接ワードスコア閾値と称される（Altschul 1990）。これらの最初の隣接ワードヒットは、それらを含むより長いHSPを見つけるために検索を開始するためのシードとしての役割を果たす。次いで、ワードヒットを、累積アライメントスコアが増加し得る限り、それぞれの

配列に沿って両方向に伸長させる。累積スコアは、ヌクレオチド配列について、パラメーターM（一致する残基の対に対する報酬スコア；常に >0 ）およびN（一致しない残基に対するペナルティスコア；常に <0 ）を使用して計算される。アミノ酸配列について、スコアリング行列を使用して、累積スコアを計算する。それぞれの方向におけるワードヒットの伸長は、以下の場合に停止される：累積アライメントスコアが、その最大達成値から量X低下する場合；1つもしくは複数の負のスコアリング残基アライメントの蓄積に起因して、累積スコアがゼロもしくはそれ未満になる場合；またはいずれかの配列の末端に達する場合。BLASTアルゴリズムパラメーターW、T、およびXは、アライメントの感度およびスピードを決定する。BLASTNプログラム（ヌクレオチド配列用）は、デフォルトとして、例えば、11のワードの長さ（W）、10の期待値（E）、 $M=5$ 、 $N=-4$ 、および両鎖の比較を使用する。アミノ酸配列について、BLASTPプログラムは、デフォルトとして、例えば、3のワードの長さ（W）、10の期待値（E）、およびBLOSUM62スコアリング行列を使用する（Henikoff and Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:10915 [1989]を参照されたい）。

10

【0128】

配列同一性パーセントを計算することに加えて、BLASTアルゴリズムは、2つの配列間の類似性の統計分析も行う（例えば、Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:5873-5787 [1993]を参照されたい）。BLASTアルゴリズムによって提供される類似性の1つの尺度は、2つのヌクレオチドまたはアミノ酸配列間の一致が偶然に起こる確率の指標を提供する、最小合計確率 $[P(N)]$ である。ある特定の実施形態では、参照ポリヌクレオチドに対する試験ポリヌクレオチドの比較における最小合計確率が約0.1、0.01または0.001未満である場合、ポリヌクレオチドは、参照配列と類似していると考えられる。

20

【0129】

ポリペプチドは、2つのポリペプチドが保存的なアミノ酸置換によってのみ異なる場合、第2のポリペプチドと実質的に相同または同一であり得る。2つの核酸配列は、2つのポリヌクレオチドが、本明細書に記載されるストリンジェントな条件下、または高度にストリンジェントな条件下で、互いにハイブリダイズする場合、実質的に相同または同一であり得る。

【0130】

「治療有効量」という用語は、対象に投与された場合に、処置される医学的状態を予防する、それを発生するリスクを低減する、その開始を遅延させる、その進行を遅くする、またはその退縮を引き起こす、あるいは医学的状態またはその状態の1つもしくは複数の症状もしくは合併症をある程度まで緩和するのに十分である、化合物の量を指し得る。「治療有効量」という用語は、研究者、獣医師、医師または臨床医によって求められる、細胞、組織、臓器、系、動物またはヒトの生物学的または医学的応答を誘発するのに十分である、化合物の量も指し得る。

30

【0131】

「処置する」、「処置すること」および「処置」という用語は、医学的状態または状態と関連する1つもしくは複数の症状もしくは合併症を緩和すること、好転させる（ameliorate）こと、もしくは抑止すること、状態の1つもしくは複数の原因を緩和すること、好転させること、もしくは根絶すること、追加の症状を防止すること、疾患もしくは状態を阻害すること、例えば、疾患もしくは状態の発生を停止させること、疾患もしくは状態を軽減すること、疾患もしくは状態の退縮を引き起こすこと、疾患もしくは状態によって引き起こされた状態を軽減すること、または予防的および／もしくは治療的に疾患もしくは状態の症状を止めることを含み得る。一部の実施形態では、疾患または状態を処置することは、疾患組織または疾患細胞のサイズを低減することを含み得る。一部の実施形態では、対象における疾患または状態を処置することは、対象の生存を増加させることを含み得る。一部の実施形態では、疾患または状態を処置することは、疾患の重症度を低減することもしくは好転させること、疾患の開始を遅延させること、疾患の進行を阻害

40

50

すること、対象についての入院もしくは入院の長さを低減すること、対象のクオリティオブライフを改善すること、疾患と関連する症状の数を低減すること、疾患と関連する症状の重症度を低減することもしくは好転させること、疾患と関連する症状の期間を低減すること、疾患と関連する症状の再発を防止すること、疾患の症状の発生もしくは開始を阻害すること、または疾患と関連する症状の進行を阻害することを含み得る。一部の実施形態では、がんを処置することは、腫瘍のサイズを低減すること、またはがんを有する患者の生存を増加させることを含み得る。医学的状態の「処置」への言及は、状態の防止を含み得る。「防止する」、「防止すること」および「防止」という用語は、医学的状態または状態と関連する1つもしくは複数の症状または合併症を排除すること、それが発生するリスクを低減すること、およびその開始を遅延させることを含み得る。

10

【0132】

エリスロポエチン（EPO）アナログまたは操作されたEPO

一部の態様では、作成または操作され得る少なくとも8種類のEPOアナログが本明細書に提供される。一部の実施形態では、EPOアナログは、操作されたEPOとも称され得る。EPOアナログまたは操作されたEPOは、ヘテローEPORと結合することができ、ホモEPORと結合することができず、ヘテローEPORのアゴニストまたはアンタゴニストのいずれかであり得る。他のEPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモEPORと結合することができ、ヘテローEPORと結合することができず、ホモEPORのアゴニストまたはアンタゴニストのいずれかであり得る。EPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモEPORおよびヘテローEPORの両方と結合することができ、両方に対するアゴニスト、両方に対するアンタゴニスト、または一方に対するアゴニストおよび他方に対するアンタゴニストであり得る。EPOアナログまたは操作されたEPOという用語は、配列番号1に示されるEPOを含み得る。

20

【0133】

エリスロポエチン（EPO）は、低酸素に応答する赤血球産生の調節因子として最初に特定された、多面的サイトカイン糖タンパク質である。成熟したヒト165アミノ酸長のEPOタンパク質配列は、配列番号1

APPRLICDSRVLERYLLEAKEAENITTTGCAEHCSLNENIT
VPDTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQAL
LVNSSQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLLRALGAQKEAIS
PPDAASAAPLRTITADTFRKLF RVYSNFLR GKLLKLYTGE
ACRTGDR（配列番号1）によって表される。シグナルペプチド配列を含むヒトEPOのアミノ酸配列および核酸配列を図34に示す。本明細書に記載される操作されたEPOバリエーションおよびアナログにおけるアミノ酸残基位置番号は、シグナルペプチドのアミノ酸残基位置番号を含まないことがある。一部の実施形態では、本明細書に記載される操作されたEPOバリエーションおよびアナログのアミノ酸残基位置は、配列番号1とのアライメントによって決定され得る。

30

【0134】

EPOは、コンパクトな球状構造を形成する4つのアルファヘリックス（A、B、C、およびD）を含む。ヒト組換えエリスロポエチン（哺乳動物細胞において発現される）は、3つのN連結および1つのO連結オリゴ糖鎖を含有し、これは、一緒に、糖タンパク質の総分子量の約40%を構成する。N連結グリコシル化は、24、38および83位に位置するアスパラギン残基（Asn）で起こるが、O連結グリコシル化は、126位に位置するセリン残基（Ser）で起こる。

40

【0135】

ヘリックスのうちの3つ（A、CおよびD）が、ホモEPORとの2つの結合部位に関与する。ヘリックスBは、ヘテローEPORとの相互作用に関与する。高い親和性部位（部位1）および低い親和性部位（部位2）を含有する、EPOおよびホモEPORの相互作用界面は、結晶構造においてマッピングされている（Syed et al, Nature, 1998:395(6701):511-6）。部位1は、アミノ酸残基S9、R10、E13、L16

50

、L17、K20、T44、K45、V46、N47、F48、Y49、K52、R131、I133、K140、R143、N147、R150、G151、K154、およびL155を含む親水性相互作用によって対向する末端で隣接する中央の疎水性結合ポケットによって特徴付けられる。K20E、T44I、K45I、V46A、F48G、R143A、R150A、R150Q、L155A、およびL155Nの変異は、*in vitro*生物活性が1/5未満になったことが示されたが、K45I、N147K、R150E、およびG151Aの変異は、活性が1/50未満になったことが示された。部位1の変異は、ホモ-EPORに対する親和性のかなりの低減をもたらす。部位2は、アミノ酸残基L5、D8、R10、V11、R14、Y15、Q78、D96、K97、V99、S100、R103、S104、T107、L108、およびR110を含む。V11S、R14A、R14E、Y15I、K97A、K97E、S104A、L108A、およびR110Eの変異は、*in vitro*生物活性が1/5未満になったことが示されたが、R14Q、S100E、S100T、R103A、R103E、R103H、R103N、R103Q、S104I、およびL108Kの変異は、活性が1/50未満になったことが示された。部位2の変異を有するEPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモ-EPORに対する高い結合親和性を維持し得るが、シグナル伝達活性を失い得る。部位1または2に変異を有するが、ヘリックスBに変異を有さないこれらのEPOバリエーションは、ヘテロ-EPORとの活性を有するはずである。

10

【0136】

ヘリックスBは、ホモ-EPORへの結合に関与しない。ヘテロ-EPORは、EPOR鎖およびCD131鎖を有する。CD131は、EPO受容体鎖とのヘテロ六量体受容体およびより高次の十二量体複合体をもたらすホモ二量体であり得る。EPOのヘリックスBは、EPOR/CD131（ヘテロ-EPOR）の結合に重要である可能性がある。

20

【0137】

カルバミル化EPO（CEPO）は、化学的に改変されたEPOアナログであり、ここで、ヘリックスA、C、およびD中に存在するLys残基が、カルバミル化によって改変されている。ヘリックスBは、Lys残基を有しておらず、そのため、改変されない。CEPOは、EPOと、ヘテロ-EPORについて同等の活性であるが、ホモ-EPORに対して活性ではないことが示されている。ヘリックスA、CおよびDにおけるLys残基の他の改変は、ヘテロ-EPORと相互作用し、ホモ-EPORと相互作用しないEPOアナログまたは操作されたEPOを作製するために使用することができる。例えば、周知のPEG化試薬を使用して、PEGを、EPO中のLys残基に付着させて、血清半減期、およびヘテロ-EPORを活性化し、ホモ-EPORを活性化しないという優先度を改善する、化学的に改変されたEPOアナログを作製することができる。PEGは、低分子量PEG（例えば、5000ダルトン）であり得、PEG上のLys反応性基を使用して、ヘリックスA、CおよびD中のLys残基のすべてまたはほとんどまたはすべてを改変することができる。同様に、EPOにおいて、他の部分をLys残基に付着させ、ヘテロ-EPORに結合することができ、ホモ-EPORに結合することができない他の化学的誘導体をもたらす、他の化学的改変を行うことができる。一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPO上の1つまたは複数のLys残基を、カルバミル化することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPO上のすべてのLys残基を、カルバミル化することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPO上のLys残基は、カルバミル化されなくてもよい。

30

40

【0138】

ヘリックスBのペプチドアナログは、CEPOに対する類似の活性も示した。ヘテロ-EPORの活性化は、EPORではなく、CD131の細胞内ドメインのリン酸化をもたらす。ホモ-EPORおよびヘテロ-EPORの両方の活性化は、JAK2およびSTAT5活性化をもたらす。例えば、ヘリックスBペプチドの外側水性面の三次元構造を模倣する11アミノ酸の線状ペプチドであるQEQLERALNSS（配列番号2）は、ヘテ

50

ローEPO Rを活性化するようなペプチドアナログである。このペプチドは、N末端残基がグルタミンであるので、環化して、環状ペプチドを作製することができる。環状ペプチドも、ヘテローEPO Rを活性化する。

【0139】

EPOは、以前に、その*in vivo*半減期を増強するために、機能的Fc融合タンパク質として発現されている (Schriebl et al, Protein Expr Purif. 2006, 49(2):265-75; Shi et al, PLoS One, 2013 8(8):e72673)。アルブミン融合、PEG化、またはより多くのグリコシル化部位の操作を含む他の方法は、*in vivo*のPKの性質を改善することができる (Joung et al, Protein Expr Purif. 2009:68(2):137-45; Elliott et al, Nat Biotechnol. 2003:21(4):414-21)。本明細書に記載されるEPOバリエーションは、Fc融合タンパク質として発現され、受容体特異性について試験され得る。それらはまた、アルブミン融合体としてまたは他のモダリティ (例えば、PEG化) で発現され得る。

【0140】

一部の態様では、ヘテローEPO Rと結合し (アンタゴニストとして)、ホモEPO Rと結合しないヒトEPOアナログを作成または操作することができる。一部の実施形態では、これらのEPOアナログまたは操作されたEPOは、Fc融合タンパク質として発現され得る。ヘリックスBにおける表面残基 (Q58、E62、Q65、L69、E72、R76、A79、L80、N83、S84、およびS85) は、ヘテローEPO Rとの相互作用において重要な役割を果たすことができ、変異/置換させることができる。例えば、ヘリックスBをコードする核酸は、アラニンスキャニングおよび/または飽和変異誘発を使用して変異させることができる。ヘテローEPO Rに結合し、ヘテローEPO Rの活性化の低減を引き起こすことが可能な (しかし、依然としてヘテローEPO Rと結合する) EPO中の変異を、ホモEPO RへのEPOアナログ結合を低減する上に記載された変異と組み合わせることができる。得られたEPOアナログまたは操作されたEPOは、ヘテローEPO Rをアンタゴナイズすることができ、ホモEPO Rへの結合を低減し得るか、またはそれに結合することができない。

【0141】

一部の態様では、本明細書に記載されるヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、少なくとも1つのアミノ酸置換または変異を含み得る。一部の実施形態では、本明細書に記載されるヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、少なくとも8つ、少なくとも9つ、または少なくとも10のアミノ酸置換を含み得る。例えば、本明細書に記載されるヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、アミノ酸残基K20、N24、N38、K45、K52、Q58、E62、Q65、L69、E72、R76、L80、N83、S84、S85、K97、R103、K116、K140、N147、R150、G151、K152、もしくはK154、またはその組合せにおける少なくとも1つのアミノ酸置換または変異を含み得る。一部の実施形態では、本明細書に記載されるヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、アミノ酸残基K20、N24、N38、K45、K52、Q58、E62、Q65、L69、E72、R76、L80、N83、S84、S85、K97、R103、K116、K140、N147、R150、G151、K152、もしくはK154、またはその組合せにおける少なくとも1つのアミノ酸置換または変異を含み得る。この実施形態では、K20、N24、N38、K45、K52、Q58、E62、Q65、L69、E72、R76、L80、N83、S84、S85、K97、R103、K116、K140、N147、R150、G151、K152、もしくはK154、またはその組合せを含む少なくとも1つのアミノ酸は、任意の他のアミノ酸 (例えば、A、R、N、D、C、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y、またはV) で置換され得るか、またはそれに変異され得る。一部の実施形態では、アミノ酸残基位置は、配列番号1とのアライメントによって決定され得る。例えば、本明細書に記載されるヒトEPOアナログまたは操作されたE

P Oは、K 2 0 A、N 2 4 Q、N 2 4 A、N 2 4 S、N 3 8 Q、N 3 8 A、N 3 8 S、K 4 5 A、K 5 2 A、Q 5 8 A、E 6 2 R、E 6 2 A、Q 6 5 A、L 6 9 A、E 7 2 A、R 7 6 E、R 7 6 A、L 8 0 A、N 8 3 Q、N 8 3 A、N 8 3 S、S 8 4 A、S 8 5 A、K 9 7 A、K 1 1 6 A、G 1 5 1 A、R 1 0 3 A、K 4 5 D、N 1 4 7 K、R 1 5 0 E、Q 6 5 A、E 7 2 R、N 8 3 A、K 1 4 0 A、K 1 5 2 A、もしくはK 1 5 4 A、またはその組合せを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含み得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される少なくとも1つのアミノ酸置換または変異を含むヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ヘテロ-E P O Rのアゴニストまたはアンタゴニストであり得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される少なくとも1つのアミノ酸置換または変異を含むヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ホモ-E P O Rのアゴニストまたはアンタゴニストであり得る。

10

【0142】

一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、R 1 0 3 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、K 4 5 Dを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、N 1 4 7 Kを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、R 1 5 0 Eを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、Q 5 8 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、E 6 2 Rを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、E 6 2 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、Q 6 5 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、L 6 9 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、E 7 2 Rを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、E 7 2 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、R 7 6 Eを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、R 7 6 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、L 8 0 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、N 8 3 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、S 8 4 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、S 8 5 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、K 9 7 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、K 1 1 6 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、K 1 4 0 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、G 1 5 1 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、K 1 5 2 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、K 1 5 4 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、K 4 5 Dを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、N 1 4 7 Kを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、R 1 5 0 Eを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、K 4 5 DおよびR 1 0 3 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、N 1 4 7 KおよびR 1 0 3 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、R 1 5 0 EおよびR 1 0 3 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、Q 6 5 AおよびE 7 2 Rを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、Q 6 5 A、E 7 2 R、およびN 8 3 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、K 1 4 0 AおよびK 1 5 2 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、K 1 4 0 A、K 1 5 2 A、およびK 1 5 4 Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、N 2 4 Q、N 3 8 Q、およびN 8 3 Qを含み

20

30

40

50

得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、E62A、Q65A、E72A、およびR76Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、N24A、N38A、およびN83Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、N24S、N38S、およびN83Sを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、R103AおよびG151Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、K20A、K45A、およびK52Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、K20A、K45A、K52A、K140A、K152A、およびK154Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、K97AおよびK116Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、K20A、K45A、K52A、K97A、K116A、K140A、K152A、およびK154Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、Q58A、Q65A、およびE72Rを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、L80A、N83A、S84A、およびS85Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、Q58A、Q65A、E72R、L80A、N83A、S84A、およびS85Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、Q58AおよびL69Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、Q58AおよびL80Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、L69AおよびL80Aを含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、Q58A、L69A、およびL80Aを含み得る。

10

20

30

40

50

【0143】

一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、配列番号1973～2019のいずれか1つに対して、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.1%、少なくとも99.2%、少なくとも99.3%、少なくとも99.4%、少なくとも99.5%、少なくとも99.6%、少なくとも99.7%、少なくとも99.8%、少なくとも99.9%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、配列番号1973～2019のいずれか1つのアミノ酸配列を含み得る。

【0144】

一部の実施形態では、ヒトEPOアナログまたは操作されたEPOは、配列番号2020～2064のいずれか1つに対して、少なくとも70%、少なくとも71%、少なくとも72%、少なくとも73%、少なくとも74%、少なくとも75%、少なくとも76%、少なくとも77%、少なくとも78%、少なくとも79%、少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.1%、少なくとも99.2%、少なくとも99.3%、少なくとも99.4%、少なくとも99.5%、少なくとも99.6%、少なくとも99.7%、少なくとも99.8%、少なくとも99.9%、または100%の配列同一性を有する配列を含むヌクレオチド配列を有し得る。一部の実施形態では、ヒトEPOアナ

ログまたは操作されたEPOは、配列番号2020～2064のいずれか1つのヌクレオチド配列を有し得る。

【0145】

一部の実施形態では、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、約600nM未満、約590nM未満、約580nM未満、約570nM未満、約560nM未満、約550nM未満、約540nM未満、約530nM未満、約520nM未満、約510nM未満、約500nM未満、約490nM未満、約480nM未満、約470nM未満、約460nM未満、約450nM未満、約440nM未満、約430nM未満、約420nM未満、約410nM未満、約400nM未満、約390nM未満、約380nM未満、約370nM未満、約360nM
10 未満、約350nM未満、約340nM未満、約330nM未満、約320nM未満、約310nM未満、約300nM未満、約290nM未満、約280nM未満、約270nM未満、約260nM未満、約250nM未満、約240nM未満、約230nM未満、約220nM未満、約210nM未満、約200nM未満、約190nM未満、約180nM未満、約170nM未満、約160nM未満、約150nM未満、約140nM未満、約130nM未満、約120nM未満、約110nM未満、約100nM未満、約90nM未満、約80nM未満、約70nM未満、約50nM未満、約50nM未満、約49nM未満、約48nM未満、約47nM未満、約46nM未満、約45nM未満、約44nM未満、約43nM未満、約42nM未満、約41nM未満、約40nM未満、約39nM未満、約38nM未満、約37nM未満、約36nM未満、約35nM未満、約34
20 nM未満、約33nM未満、約32nM未満、約31nM未満、約30nM未満、約29nM未満、約28nM未満、約27nM未満、約26nM未満、約25nM未満、約24nM未満、約23nM未満、約22nM未満、約21nM未満、約20nM未満、約19nM未満、約18nM未満、約17nM未満、約16nM未満、約15nM未満、約14nM未満、約13nM未満、約12nM未満、約11nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満、約990pM未満、約980pM未満、約970pM未満、約960pM未満、約950pM未満、約940pM未満、約930pM未満、約920pM未満、約910pM未満、約900pM未満、約890pM未満、約880pM未満、約870pM未満、約860pM未満、約850pM未満、約840p
30 M未満、約830pM未満、約820pM未満、約810pM未満、約800pM未満、約790pM未満、約780pM未満、約770pM未満、約760pM未満、約750pM未満、約740pM未満、約730pM未満、約720pM未満、約710pM未満、約700pM未満、約690pM未満、約680pM未満、約670pM未満、約660pM未満、約650pM未満、約640pM未満、約630pM未満、約620pM未満、約610pM未満、約600pM未満、約590pM未満、約580pM未満、約570pM未満、約560pM未満、約550pM未満、約540pM未満、約530pM未満、約520pM未満、約510pM未満、約500pM未満、約490pM未満、約480pM未満、約470pM未満、約460pM未満、約450pM未満、約440p
40 M未満、約430pM未満、約420pM未満、約410pM未満、約400pM未満、約390pM未満、約380pM未満、約370pM未満、約360pM未満、約350pM未満、約340pM未満、約330pM未満、約320pM未満、約310pM未満、約300pM未満、約290pM未満、約280pM未満、約270pM未満、約260pM未満、約250pM未満、約240pM未満、約230pM未満、約220pM未満、約210pM未満、約200pM未満、約190pM未満、約180pM未満、約170pM未満、それらの間の約または任意の整数の結合親和性で、ホモ-EPORに結合することができる。

【0146】

一部の実施形態では、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、約600nM未満、約590nM未満、約580

10

20

30

40

50

nM未満、約570nM未満、約560nM未満、約550nM未満、約540nM未満、約530nM未満、約520nM未満、約510nM未満、約500nM未満、約490nM未満、約480nM未満、約470nM未満、約460nM未満、約450nM未満、約440nM未満、約430nM未満、約420nM未満、約410nM未満、約400nM未満、約390nM未満、約380nM未満、約370nM未満、約360nM未満、約350nM未満、約340nM未満、約330nM未満、約320nM未満、約310nM未満、約300nM未満、約290nM未満、約280nM未満、約270nM未満、約260nM未満、約250nM未満、約240nM未満、約230nM未満、約220nM未満、約210nM未満、約200nM未満、約190nM未満、約180nM未満、約170nM未満、約160nM未満、約150nM未満、約140nM未満、約130nM未満、約120nM未満、約110nM未満、約100nM未満、約90nM未満、約80nM未満、約70nM未満、約50nM未満、約50nM未満、約49nM未満、約48nM未満、約47nM未満、約46nM未満、約45nM未満、約44nM未満、約43nM未満、約42nM未満、約41nM未満、約40nM未満、約39nM未満、約38nM未満、約37nM未満、約36nM未満、約35nM未満、約34nM未満、約33nM未満、約32nM未満、約31nM未満、約30nM未満、約29nM未満、約28nM未満、約27nM未満、約26nM未満、約25nM未満、約24nM未満、約23nM未満、約22nM未満、約21nM未満、約20nM未満、約19nM未満、約18nM未満、約17nM未満、約16nM未満、約15nM未満、約14nM未満、約13nM未満、約12nM未満、約11nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満、約990pM未満、約980pM未満、約970pM未満、約960pM未満、約950pM未満、約940pM未満、約930pM未満、約920pM未満、約910pM未満、約900pM未満、約890pM未満、約880pM未満、約870pM未満、約860pM未満、約850pM未満、約840pM未満、約830pM未満、約820pM未満、約810pM未満、約800pM未満、約790pM未満、約780pM未満、約770pM未満、約760pM未満、約750pM未満、約740pM未満、約730pM未満、約720pM未満、約710pM未満、約700pM未満、約690pM未満、約680pM未満、約670pM未満、約660pM未満、約650pM未満、約640pM未満、約630pM未満、約620pM未満、約610pM未満、約600pM未満、約590pM未満、約580pM未満、約570pM未満、約560pM未満、約550pM未満、約540pM未満、約530pM未満、約520pM未満、約510pM未満、約500pM未満、約490pM未満、約480pM未満、約470pM未満、約460pM未満、約450pM未満、約440pM未満、約430pM未満、約420pM未満、約410pM未満、約400pM未満、約390pM未満、約380pM未満、約370pM未満、約360pM未満、約350pM未満、約340pM未満、約330pM未満、約320pM未満、約310pM未満、約300pM未満、約290pM未満、約280pM未満、約270pM未満、約260pM未満、約250pM未満、約240pM未満、約230pM未満、約220pM未満、約210pM未満、約200pM未満、約190pM未満、約180pM未満、約170pM未満、それらの間の約または任意の整数の結合親和性で、ヘテロ-EPORに結合することができる。

10

20

30

40

【0147】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPOは、野生型またはネイティブEPOタンパク質と比較して、ヘテロ-EPORに対するより低い結合親和性を有し得る。例えば、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブEPOタンパク質のものよりも低いヘテロ-EPOR結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、本明細書

50

に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブEPOタンパク質のヘテローEPOR結合親和性よりも少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約26%、少なくとも約27%、少なくとも約28%、少なくとも約29%、少なくとも約30%、少なくとも約31%、少なくとも約32%、少なくとも約33%、少なくとも約34%、少なくとも約35%、少なくとも約36%、少なくとも約37%、少なくとも約38%、少なくとも約39%、少なくとも約40%、少なくとも約41%、少なくとも約42%、少なくとも約43%、少なくとも約44%、少なくとも約45%、少なくとも約46%、少なくとも約47%、少なくとも約48%、少なくとも約49%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%低いヘテローEPOR結合親和性を有し得る。

10

【0148】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPOは、野生型またはネイティブEPOタンパク質と比較して、ヘテローEPORに対するより高い結合親和性を有し得る。例えば、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブEPOタンパク質のものよりも高いヘテローEPOR結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブEPOタンパク質のヘテローEPOR結合親和性よりも少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約26%、少なくとも約27%、少なくとも約28%、少なくとも約29%、少なくとも約30%、少なくとも約31%、少なくとも約32%、少なくとも約33%、少なくとも約34%、少なくとも約35%、少なくとも約36%、少なくとも約37%、少なくとも約38%、少なくとも約39%、少なくとも約40%、少なくとも約41%、少なくとも約42%、少なくとも約43%、少なくとも約44%、少なくとも約45%、少なくとも約46%、少なくとも約47%、少なくとも約48%、少なくとも約49%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%高いヘテローEPOR結合親和性を有し得る。

20

30

40

【0149】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPOは、野生型またはネイティブEPOタンパク質と比較して、ヘテローEPORに対する同じレベルの結合親和性を有し得る。例えば、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブEPOタンパク質のものと同一または類似するヘテローEPOR結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPOは、野生型またはネイティブEPO

50

タンパク質と比較して、ホモ－E P O R に対する同じレベルの結合親和性を有し得る。例えば、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むE P O アナログまたは操作されたE P O は、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブE P O タンパク質のものと同一または類似するホモ－E P O R 結合親和性を有し得る。

【0150】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P O アナログまたは操作されたE P O は、野生型またはネイティブE P O タンパク質と比較して、ホモ－E P O R に対するより低い結合親和性を有し得る。例えば、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むE P O アナログまたは操作されたE P O は、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブE P O タンパク質のものよりも低いホモ－E P O R 結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むE P O アナログまたは操作されたE P O は、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブE P O タンパク質のホモ－E P O R 結合親和性よりも少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約26%、少なくとも約27%、少なくとも約28%、少なくとも約29%、少なくとも約30%、少なくとも約31%、少なくとも約32%、少なくとも約33%、少なくとも約34%、少なくとも約35%、少なくとも約36%、少なくとも約37%、少なくとも約38%、少なくとも約39%、少なくとも約40%、少なくとも約41%、少なくとも約42%、少なくとも約43%、少なくとも約44%、少なくとも約45%、少なくとも約46%、少なくとも約47%、少なくとも約48%、少なくとも約49%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%低いホモ－E P O R 結合親和性を有し得る。

【0151】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P O アナログまたは操作されたE P O は、野生型またはネイティブE P O タンパク質と比較して、ホモ－E P O R に対するより高い結合親和性を有し得る。例えば、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むE P O アナログまたは操作されたE P O は、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブE P O タンパク質のものよりも高いホモ－E P O R 結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むE P O アナログまたは操作されたE P O は、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブE P O タンパク質のホモ－E P O R 結合親和性よりも少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約26%、少なくとも約27%、少なくとも約28%、少なくとも約29%、少なくとも約30%、少なくとも約31%、少なくとも約32%、少なくとも約33%、少なくとも約34%、少なくとも約35%、少なくとも約36%、少なくとも約37%、少なくとも約38%、少なくとも約39%、少なくとも約40%、少なくとも約41%、少なくとも約42%、少なくとも約43%、少

なくとも約44%、少なくとも約45%、少なくとも約46%、少なくとも約47%、少なくとも約48%、少なくとも約49%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%高いホモ-E P O R結合親和性を有し得る。

【0152】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ヘテロ-E P O受容体に対する結合親和性よりも高い結合親和性で、ホモ-E P O受容体に結合することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ヘテロ-E P O受容体に対する結合親和性よりも低い結合親和性で、ホモ-E P O受容体に結合することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ホモ-E P O受容体に対する結合親和性よりも高い結合親和性で、ヘテロ-E P O受容体に結合することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ホモ-E P O受容体に対する結合親和性よりも低い結合親和性で、ヘテロ-E P O受容体に結合することができる。

10

【0153】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ホモ-E P O Rの活性を促進することができ、またはその活性のレベルを増加させることができる。一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ホモ-E P O Rの活性のレベルに対する効果を有し得ない。一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ホモ-E P O Rの活性を阻害することができ、またはその活性のレベルを減少させることができる。一部の実施形態では、ホモ-E P O R活性としては、限定されるものではないが、ホモ-E P O Rの細胞内ドメイン、ヤヌスチロシンキナーゼ2 (J a k 2)、またはシグナル伝達および転写活性化因子5 (S t a t 5)のリン酸化が挙げられ得る。一部の実施形態では、ホモ-E P O R活性としては、限定されるものではないが、J a k 2、J a k 2経路、S t a t 5経路、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (M A P K)、M A P K経路、細胞外シグナル調節キナーゼ (E R K)、E R K経路、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ (P I 3 K)、P I 3 K経路、v-A k tマウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子/プロテインキナーゼ-B (A k t/P K B)、A k t/P K B経路、ラパマイシンの哺乳動物標的 (m T O R)、またはm T O R経路の活性化が挙げられ得る。

20

30

【0154】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ヘテロ-E P O Rの活性を促進することができ、またはその活性のレベルを増加させることができる。一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ヘテロ-E P O Rの活性のレベルに対する効果を有し得ない。一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは、ヘテロ-E P O Rの活性を阻害することができ、またはその活性のレベルを減少させることができる。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R活性としては、限定されるものではないが、ヘテロ-E P O Rの細胞内ドメイン、ヤヌスチロシンキナーゼ2 (J a k 2)、またはシグナル伝達および転写活性化因子5 (S t a t 5)のリン酸化が挙げられ得る。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R活性としては、限定されるものではないが、J a k 2、J a k 2経路、S t a t 5経路、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (M A P K)、M A P K経路、細胞外シグナル調節キナーゼ (E R K)、E R K経路、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ (P I 3 K)、P I 3 K経路、v-A k tマウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子/プロテインキナーゼ-B (A k t/P K B)、A k t/P K B経路、ラパマイシンの哺乳動物標的 (m T O R)、またはm T O R経路の活性化が挙げられ得る。

40

【0155】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるE P Oアナログまたは操作されたE P Oは

50

、野生型またはネイティブ E P O タンパク質と比較して、J a k 2、S t a t 5、m T O R、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B 活性化のレベルにもホモ E P O R またはヘテロ E P O R の細胞内ドメインのリン酸化にも影響を及ぼさなくてもよい。例えば、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O が、細胞または細胞の集団に導入される場合、細胞または細胞の集団は、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブ E P O タンパク質が導入されている細胞または細胞の集団のものと同一または類似する、J a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、または m T O R の活性化レベルを有し得る。ホモ E P O R、ヘテロ E P O R、J a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、または m T O R の活性化またはリン酸化は、当技術分野において公知の任意の方法を使用して測定することができる。J a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、または m T O R の活性化レベルを測定するための方法の例としては、限定されるものではないが、ウェスタンブロット、フローサイトメトリーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、または酵素結合免疫吸着検定法 (E L I S A) が挙げられる。

10

【 0 1 5 6 】

一部の実施形態では、本明細書に記載される E P O アナログまたは操作された E P O は、J a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、または m T O R の活性化を増加または促進することができる。例えば、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O が導入された細胞または細胞の集団は、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブ E P O タンパク質が導入された細胞または細胞の集団のものよりも高い、J a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、または m T O R の活性化レベルを有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O が導入された細胞または細胞の集団は、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブ E P O タンパク質が導入された細胞または細胞の集団の J a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、または m T O R の活性化レベルよりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 1 0 %、少なくとも約 1 1 %、少なくとも約 1 2 %、少なくとも約 1 3 %、少なくとも約 1 4 %、少なくとも約 1 5 %、少なくとも約 1 6 %、少なくとも約 1 7 %、少なくとも約 1 8 %、少なくとも約 1 9 %、少なくとも約 2 0 %、少なくとも約 2 1 %、少なくとも約 2 2 %、少なくとも約 2 3 %、少なくとも約 2 4 %、少なくとも約 2 5 %、少なくとも約 2 6 %、少なくとも約 2 7 %、少なくとも約 2 8 %、少なくとも約 2 9 %、少なくとも約 3 0 %、少なくとも約 3 1 %、少なくとも約 3 2 %、少なくとも約 3 3 %、少なくとも約 3 4 %、少なくとも約 3 5 %、少なくとも約 3 6 %、少なくとも約 3 7 %、少なくとも約 3 8 %、少なくとも約 3 9 %、少なくとも約 4 0 %、少なくとも約 4 1 %、少なくとも約 4 2 %、少なくとも約 4 3 %、少なくとも約 4 4 %、少なくとも約 4 5 %、少なくとも約 4 6 %、少なくとも約 4 7 %、少なくとも約 4 8 %、少なくとも約 4 9 %、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 5 5 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 6 5 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 7 5 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、または少なくとも約 9 9 % 高い、J a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、または m T O R の活性化レベルを有し得る。

20

30

40

【 0 1 5 7 】

一部の実施形態では、本明細書に記載される E P O アナログまたは操作された E P O は、J a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、または m T O R の活性化を減少または阻害することができる。例えば、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O が導入された細胞ま

50

たは細胞の集団は、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブEPOタンパク質が導入された細胞または細胞の集団のものよりも低い、J a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、またはm T O Rの活性化レベルを有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOが導入された細胞または細胞の集団は、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含まない野生型またはネイティブEPOタンパク質が導入された細胞または細胞の集団のJ a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、またはm T O Rの活性化レベルよりも少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約26%、少なくとも約27%、少なくとも約28%、少なくとも約29%、少なくとも約30%、少なくとも約31%、少なくとも約32%、少なくとも約33%、少なくとも約34%、少なくとも約35%、少なくとも約36%、少なくとも約37%、少なくとも約38%、少なくとも約39%、少なくとも約40%、少なくとも約41%、少なくとも約42%、少なくとも約43%、少なくとも約44%、少なくとも約45%、少なくとも約46%、少なくとも約47%、少なくとも約48%、少なくとも約49%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%低い、J a k 2、S t a t 5、M A P K、E R K、P I 3 K、A k t / P K B、またはm T O Rの活性化レベルを有し得る。

10

20

【0158】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモ-EPORに対するアゴニストとして作用し、ホモ-EPORに選択的に結合することができる。一部の実施形態では、ホモ-EPORに対するアゴニストであるEPOアナログまたは操作されたEPOは、ヘテロ-EPORに対するよりも、ホモ-EPORに対するより高い結合親和性を有し得る。例えば、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモ-EPORに対するアゴニストであり、ヘテロ-EPOR結合親和性よりも高いホモ-EPOR結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモ-EPORに対するアゴニストであり、ヘテロ-EPOR結合親和性よりも少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約26%、少なくとも約27%、少なくとも約28%、少なくとも約29%、少なくとも約30%、少なくとも約31%、少なくとも約32%、少なくとも約33%、少なくとも約34%、少なくとも約35%、少なくとも約36%、少なくとも約37%、少なくとも約38%、少なくとも約39%、少なくとも約40%、少なくとも約41%、少なくとも約42%、少なくとも約43%、少なくとも約44%、少なくとも約45%、少なくとも約46%、少なくとも約47%、少なくとも約48%、少なくとも約49%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、ま

30

40

50

たは少なくとも約 99 % 高いホモ-E P O R 結合親和性を有し得る。

【0159】

一部の実施形態では、本明細書に記載される E P O アナログまたは操作された E P O は、ホモ-E P O R に対するアゴニストとして作用し、ホモ-E P O R に対する結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、ホモ-E P O R に対するアゴニストである E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するよりも、ホモ-E P O R に対するより高い結合特異性または選択性を有し得る。例えば、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O は、ホモ-E P O R に対するアゴニストであり、ヘテロ-E P O R 結合特異性または選択性よりも高いホモ-E P O R 結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O は、ホモ-E P O R に対するアゴニストであり、ヘテロ-E P O R 結合特異性または選択性よりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 11 %、少なくとも約 12 %、少なくとも約 13 %、少なくとも約 14 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 16 %、少なくとも約 17 %、少なくとも約 18 %、少なくとも約 19 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 21 %、少なくとも約 22 %、少なくとも約 23 %、少なくとも約 24 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 26 %、少なくとも約 27 %、少なくとも約 28 %、少なくとも約 29 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 31 %、少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %、少なくとも約 43 %、少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %、少なくとも約 47 %、少なくとも約 48 %、少なくとも約 49 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % 高いホモ-E P O R 結合特異性または選択性を有し得る。

【0160】

一部の実施形態では、本明細書に記載される E P O アナログまたは操作された E P O は、ホモ-E P O R に対するアンタゴニストとして作用し、ホモ-E P O R に選択的に結合することができる。一部の実施形態では、ホモ-E P O R に対するアンタゴニストである E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するよりも、ホモ-E P O R に対するより高い結合親和性を有し得る。例えば、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O は、ホモ-E P O R に対するアンタゴニストであり、ヘテロ-E P O R 結合親和性よりも高いホモ-E P O R 結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O は、ホモ-E P O R に対するアンタゴニストであり、ヘテロ-E P O R 結合親和性よりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 11 %、少なくとも約 12 %、少なくとも約 13 %、少なくとも約 14 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 16 %、少なくとも約 17 %、少なくとも約 18 %、少なくとも約 19 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 21 %、少なくとも約 22 %、少なくとも約 23 %、少なくとも約 24 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 26 %、少なくとも約 27 %、少なくとも約 28 %、少なくとも約 29 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 31 %、少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %、少なくとも約 43 %、少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %、少なく

とも約47%、少なくとも約48%、少なくとも約49%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%高いホモ-EPO R結合親和性を有し得る。

【0161】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモ-EPO Rに対するアンタゴニストとして作用し、ホモ-EPO Rに対する結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、ホモ-EPO Rに対するアンタゴニストであるEPOアナログまたは操作されたEPOは、ヘテロ-EPO Rに対するよりも、ホモ-EPO Rに対するより高い結合特異性または選択性を有し得る。例えば、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモ-EPO Rに対するアンタゴニストであり、ヘテロ-EPO R結合特異性または選択性よりも高いホモ-EPO R結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモ-EPO Rに対するアンタゴニストであり、ヘテロ-EPO R結合特異性または選択性よりも少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約26%、少なくとも約27%、少なくとも約28%、少なくとも約29%、少なくとも約30%、少なくとも約31%、少なくとも約32%、少なくとも約33%、少なくとも約34%、少なくとも約35%、少なくとも約36%、少なくとも約37%、少なくとも約38%、少なくとも約39%、少なくとも約40%、少なくとも約41%、少なくとも約42%、少なくとも約43%、少なくとも約44%、少なくとも約45%、少なくとも約46%、少なくとも約47%、少なくとも約48%、少なくとも約49%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約99%高いホモ-EPO R結合特異性または選択性を有し得る。

【0162】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPOは、ヘテロ-EPO Rに対するアゴニストとして作用し、ヘテロ-EPO Rに選択的に結合することができる。一部の実施形態では、ヘテロ-EPO Rに対するアゴニストであるEPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモ-EPO Rに対するよりも、ヘテロ-EPO Rに対するより高い結合親和性を有し得る。例えば、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、ヘテロ-EPO Rに対するアゴニストであり、ホモ-EPO R結合親和性よりも高いヘテロ-EPO R結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される1つまたは複数のアミノ酸置換を含むEPOアナログまたは操作されたEPOは、ヘテロ-EPO Rに対するアゴニストであり、ホモ-EPO R結合親和性よりも少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約26%、少なくとも約27%、少なくとも約28%、少なくとも約29%、少なくとも約30%、少なくとも約31%、少なくとも約32%、少なくとも約33%、少なくとも約34%、少なくとも約3

5 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %、少なくとも約 43 %、少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %、少なくとも約 47 %、少なくとも約 48 %、少なくとも約 49 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % 高いヘテロ-E P O R 結合親和性を有し得る。

【0163】

一部の実施形態では、本明細書に記載される E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するアゴニストとして作用し、ヘテロ-E P O R に対する結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R に対するアゴニストである E P O アナログまたは操作された E P O は、ホモ-E P O R に対するよりも、ヘテロ-E P O R に対するより高い結合特異性または選択性を有し得る。例えば、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するアゴニストであり、ホモ-E P O R 結合特異性または選択性よりも高いヘテロ-E P O R 結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するアゴニストであり、ホモ-E P O R 結合特異性または選択性よりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 11 %、少なくとも約 12 %、少なくとも約 13 %、少なくとも約 14 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 16 %、少なくとも約 17 %、少なくとも約 18 %、少なくとも約 19 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 21 %、少なくとも約 22 %、少なくとも約 23 %、少なくとも約 24 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 26 %、少なくとも約 27 %、少なくとも約 28 %、少なくとも約 29 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 31 %、少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %、少なくとも約 43 %、少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %、少なくとも約 47 %、少なくとも約 48 %、少なくとも約 49 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % 高いヘテロ-E P O R 結合特異性または選択性を有し得る。

【0164】

一部の実施形態では、本明細書に記載される E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストとして作用し、ヘテロ-E P O R に選択的に結合することができる。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストである E P O アナログまたは操作された E P O は、ホモ-E P O R に対するよりも、ヘテロ-E P O R に対するより高い結合親和性を有し得る。例えば、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストであり、ホモ-E P O R 結合親和性よりも高いヘテロ-E P O R 結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストであり、ホモ-E P O R 結合親和性よりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 11 %、少なくとも約 12 %、少なくとも約 13 %、少なくとも約 14 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 16 %、少なくとも約 17 %、少なくとも約 18 %、少なくとも約 19 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 21 %、少なくとも約 22 %

、少なくとも約 23 %、少なくとも約 24 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 26 %
、少なくとも約 27 %、少なくとも約 28 %、少なくとも約 29 %、少なくとも約 30 %
、少なくとも約 31 %、少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %
、少なくとも約 35 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %
、少なくとも約 39 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %
、少なくとも約 43 %、少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %
、少なくとも約 47 %、少なくとも約 48 %、少なくとも約 49 %、少なくとも約 50 %
、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %
、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %
、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % 高いヘテロ-E P O R 結合親和性を有し得る。

10

【0165】

一部の実施形態では、本明細書に記載される E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストとして作用し、ヘテロ-E P O R に対する結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストである E P O アナログまたは操作された E P O は、ホモ-E P O R に対するよりも、ヘテロ-E P O R に対するより高い結合特異性または選択性を有し得る。例えば、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストであり、ホモ-E P O R 結合特異性または選択性よりも高いヘテロ-E P O R 結合特異性または選択性を有し得る。一部の
実施形態では、本明細書に記載される 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む E P O アナログまたは操作された E P O は、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストであり、ホモ-E P O R 結合特異性または選択性よりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 11 %、
少なくとも約 12 %、少なくとも約 13 %、少なくとも約 14 %、少なくとも約 15 %、
少なくとも約 16 %、少なくとも約 17 %、少なくとも約 18 %、少なくとも約 19 %、
少なくとも約 20 %、少なくとも約 21 %、少なくとも約 22 %、少なくとも約 23 %、
少なくとも約 24 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 26 %、少なくとも約 27 %、
少なくとも約 28 %、少なくとも約 29 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 31 %、
少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %、少なくとも約 35 %、
少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、
少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %、少なくとも約 43 %、
少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %、少なくとも約 47 %、
少なくとも約 48 %、少なくとも約 49 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、
少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、
少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、
または少なくとも約 99 % 高いヘテロ-E P O R 結合特異性または選択性を有し得る。

20

30

【0166】

一部の実施形態では、本明細書に記載される E P O アナログまたは操作された E P O は、ヒト血漿中で 1 時間～5 日の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される E P O アナログまたは操作された E P O は、約 1 時間～約 120 時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される E P O アナログまたは操作された E P O は、約 1 時間～約 5 時間、約 1 時間～約 10 時間、約 1 時間～約 12 時間、約 1 時間～約 24 時間、約 1 時間～約 36 時間、約 1 時間～約 48 時間、約 1 時間～約 60 時間、
約 1 時間～約 72 時間、約 1 時間～約 84 時間、約 1 時間～約 96 時間、約 1 時間～約 120 時間、約 5 時間～約 10 時間、約 5 時間～約 12 時間、約 5 時間～約 24 時間、約 5 時間～約 36 時間、約 5 時間～約 48 時間、約 5 時間～約 60 時間、約 5 時間～約 72 時間、約 5 時間～約 84 時間、約 5 時間～約 96 時間、約 5 時間～約 120 時間、約 10 時間～約 12 時間、約 10 時間～約 24 時間、約 10 時間～約 36 時間、約 10 時間～約 4

40

50

8時間、約10時間～約60時間、約10時間～約72時間、約10時間～約84時間、約10時間～約96時間、約10時間～約120時間、約12時間～約24時間、約12時間～約36時間、約12時間～約48時間、約12時間～約60時間、約12時間～約72時間、約12時間～約84時間、約12時間～約96時間、約12時間～約120時間、約24時間～約36時間、約24時間～約48時間、約24時間～約60時間、約24時間～約72時間、約24時間～約84時間、約24時間～約96時間、約24時間～約120時間、約36時間～約48時間、約36時間～約60時間、約36時間～約72時間、約36時間～約84時間、約36時間～約96時間、約36時間～約120時間、約48時間～約60時間、約48時間～約72時間、約48時間～約84時間、約48時間～約96時間、約48時間～約120時間、約60時間～約72時間、約60時間～約84時間、約60時間～約96時間、約60時間～約120時間、約72時間～約84時間、約72時間～約96時間、約72時間～約120時間、約84時間～約96時間、約84時間～約120時間、または約96時間～約120時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPOは、約1時間、約5時間、約10時間、約12時間、約24時間、約36時間、約48時間、約60時間、約72時間、約84時間、約96時間、または約120時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPOは、少なくとも約1時間、約5時間、約10時間、約12時間、約24時間、約36時間、約48時間、約60時間、約72時間、約84時間、または約96時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載されるEPOアナログまたは操作されたEPOは、最大で約5時間、約10時間、約12時間、約24時間、約36時間、約48時間、約60時間、約72時間、約84時間、約96時間、または約120時間の半減期を有し得る。

10

20

30

40

50

【0167】

本開示は、EPORの細胞外ドメイン（ECD）を含む操作されたEPORも包含する。EPORのECDは、2つのドメインD1およびD2を含み、これらの2つのドメインは、EPO結合に必要である。一部の実施形態では、ECD-EPOR-FcのFc融合タンパク質は、EPOに結合することができる。一部の実施形態では、ECD-EPOR-FcのFc融合タンパク質は、EPOR活性化を遮断することができる。一部の実施形態では、ECD-EPOR-FcのFc融合タンパク質は、変異を含むことができる。例えば、ECD-EPOR-FcのFc融合タンパク質は、アミノ酸残基F93に変異を含むことができる。一部の実施形態では、ECD-EPOR-FcのFc融合タンパク質は、F93A変異を含むことができる。一部の実施形態では、F93A変異を含むECD-EPOR-FcのFc融合タンパク質は、EPOに結合することができない。例えば、F93A変異を含む単量体EPOR-ECDまたはF93A変異を含む二量体EPOR-Fcは、EPOに結合することができない。

【0168】

本開示は、CD131の細胞外ドメイン（ECD）を含む操作されたヘテロ-EPORも包含する。CD131のECDは、4つのドメインD1、D2、D3、およびD4を含む。D1およびD2ドメインは、細胞膜の遠位での二量体化の原因となる。理論に縛られることを望まないが、D3およびD4ドメインは、EPORと相互作用して、ヘテロ-EPORを形成する領域であり得る。一部の実施形態では、ノブ-イン-ホール技術を使用して、EPOR-ECDおよびCD131-ECDを有するヘテロ二量体Fc融合タンパク質を作成することができる。EPOR-ECDおよびCD131-ECDを有するヘテロ二量体Fc融合タンパク質の設計の非限定的な例を、表3-3に示し、配列を図42A～42Dに示す。一部の実施形態では、EPO結合は、CD131のD3およびD4ドメインを必要とし得る。例えば、F93A置換を有する単量体または二量体EPORは、EPOと結合することができないが、しかしながら、F93A変異を有する単量体EPORおよびCD131単量体のヘテロ-EPORは、EPOと結合する。ヘテロ-EPORへのEPO結合は、CDC131サブユニットに特異的であると思われる。一部の実施形態

では、ヘテロ二量体 E P O R (F 9 3 A) / C D 1 3 1 - F c を使用して、ホモ E P O R ではなく、ヘテロ E P O R を特異的に遮断し得る。

【 0 1 6 9 】

抗 E P O R 、抗 C D 1 3 1 、および抗 E P O 抗体

一部の態様では、標的に選択的に結合することができる、抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片が本明細書に提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、標的タンパク質の抗原または標的タンパク質の抗原上のエピトープに結合することができる。

【 0 1 7 0 】

一部の実施形態では、抗体は、単一特異性抗体であり得、単一のエピトープに結合する。例えば、単一特異性抗体は、複数の免疫グロブリン可変ドメイン配列を有し得、そのそれぞれは、同じエピトープと結合する。一部の実施形態では、抗体は、二特異性抗体であり得る。二特異性抗体は、2つ以下の抗原に対する特異性を有し得る。二特異性抗体は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する第1の免疫グロブリン可変ドメイン配列、および第2のエピトープに対する結合特異性を有する第2の免疫グロブリン可変ドメイン配列によって特徴付けられ得る。一部の実施形態では、第1および第2のエピトープは、同じ抗原上、例えば、同じタンパク質（または多量体タンパク質のサブユニット）上にあり得る。一部の実施形態では、第1および第2のエピトープは、重複し得る。一部の実施形態では、第1および第2のエピトープは、重複しない。一部の実施形態では、第1および第2のエピトープは、異なる抗原上、例えば、異なるタンパク質（または多量体タンパク質の異なるサブユニット）上にあり得る。一部の実施形態では、二特異性抗体は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する重鎖可変ドメイン配列および軽鎖可変ドメイン配列、ならびに第2のエピトープに対する結合特異性を有する重鎖可変ドメイン配列および軽鎖可変ドメイン配列を含み得る。一部の実施形態では、二特異性抗体は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する半抗体、および第2のエピトープに対する結合特異性を有する半抗体を含み得る。一部の実施形態では、二特異性抗体は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する半抗体またはその断片、および第2のエピトープに対する結合特異性を有する半抗体またはその断片を含み得る。一部の実施形態では、二特異性抗体は、第1のエピトープに対する結合特異性を有する s c F v もしくは F a b またはその断片、および第2のエピトープに対する結合特異性を有する s c F v もしくは F a b またはその断片を含み得る。

【 0 1 7 1 】

一部の実施形態では、抗体は、多特異性または多機能性抗体であり得る。例えば、多特異性または多機能性抗体は、複数の免疫グロブリン可変ドメイン配列を含み得、複数の免疫グロブリン可変ドメイン配列のうちの第1の免疫グロブリン可変ドメイン配列は、第1のエピトープに対する結合特異性を有し、複数の免疫グロブリン可変ドメイン配列のうちの第2の免疫グロブリン可変ドメイン配列は、第2のエピトープに対する結合特異性を有する。一部の実施形態では、第1および第2のエピトープは、同じ抗原上、例えば、同じタンパク質（または多量体タンパク質のサブユニット）上にある。一部の実施形態では、第1および第2のエピトープは、重複し得る。一部の実施形態では、第1および第2のエピトープは、重複しなくてもよい。一部の実施形態では、第1および第2のエピトープは、異なる抗原上、例えば、異なるタンパク質（または多量体タンパク質の異なるサブユニット）上にあり得る。一部の実施形態では、多特異性抗体は、第3、第4または第5の免疫グロブリン可変ドメインを含み得る。一部の実施形態では、多特異性抗体は、二特異性抗体、三特異性抗体、または四特異性抗体であり得る。一部の実施形態では、多特異性抗体は、I g E 、 F c ε R I α 、 F c ε R I I 、腫瘍関連抗原 (F A A) 、またはその組合せに選択的に結合する1つまたは複数の追加の結合ドメインを必要に応じてさらに含み得る。本明細書に記載される任意の二特異性または多特異性抗体は、単離された、精製された、組換え、合成、またはその任意の組合せであり得る。本明細書に記載される二特異性または多特異性抗体は、任意の好適な方法を介して作製することができ、組換え、合成、

またはその組合せであり得る。一態様では、本明細書に記載される二特異性または多特異性抗体の1つまたは複数を含む液体組成物または凍結乾燥組成物が本明細書に提供され得る。一実施形態では、組成物は、二特異性または多特異性抗体の集団を含み得る。別の実施形態では、組成物は、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、またはそれよりも多くの上記に記載された二特異性または多特異性抗体の集団を含み得る。本明細書に記載される二特異性または多特異性抗体は、*in vitro*アッセイにおいて利用して、例えば、混合培養物（例えば、生検または血液試料などの生体試料）から、1つまたは複数の腫瘍細胞を特定および／または精製することができる。本明細書に記載される二特異性または多特異性抗体を *in vivo* 動物モデルにおいて利用して、腫瘍に対する二特異性または多特異性抗体の治療有効性を試験することができる。

10

【0172】

一部の実施形態では、抗体は、ダイアボディおよび一本鎖分子、ならびに抗体の抗原結合断片（例えば、Fab、F(ab')₂、およびFv）を含み得る。例えば、抗体分子は、重（H）鎖可変ドメイン配列（本明細書でVHと略される）、および軽（L）鎖可変ドメイン配列（本明細書でVLと略される）を含み得る。一部の実施形態では、抗体は、重鎖および軽鎖を含み得る（本明細書で半抗体と称される）。別の例では、抗体は、2つの重（H）鎖可変ドメイン配列および2つの軽（L）鎖可変ドメイン配列を含み得、それによって、2つの抗原結合性部位、例えば、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fc、Fd、Fd'、Fv、一本鎖抗体（例えばscFv）、単一可変ドメイン抗体、ダイアボディ（Dab）（二価および二特異性）、およびキメラ（例えば、ヒト化）抗体を形成し、これは、抗体全体の改変によって生成されるか、または組換えDNA技術を使用してデノボで合成されるものであってもよい。これらの機能的抗体断片は、それらの個々の抗原と選択的に結合する能力を保持し得る。抗体および抗体断片は、限定されるものではないが、IgG、IgA、IgM、IgD、およびIgEを含む、抗体の任意のクラス由来、ならびに抗体の任意のサブクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4）由来のものであり得る。抗体の調製物は、モノクローナルまたはポリクローナルであり得る。抗体はまた、ヒト抗体、ヒト化抗体、CDRグラフト化抗体、または *in vitro* で作成された抗体であり得る。抗体は、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4から選択される重鎖定常領域を有し得る。抗体はまた、例えば、カップまたはラムダから選択される軽鎖を有し得る。「免疫グロブリン」（Ig）という用語は、本明細書で「抗体」という用語と互換的に使用される。

20

30

【0173】

抗体の抗原結合断片の非限定的な例としては、Fab断片（VL、VH、CLおよびCH1ドメインからなる一価断片）；F(ab')₂断片（ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFab断片を含む二価断片）；VHおよびCH1ドメインからなるFd断片；抗体の単一アームのVLおよびVHドメインからなるFv断片；VHドメインからなるダイアボディ（dAb）断片；ラクダまたはラクダ化可変ドメイン；一本鎖Fv（scFv）（例えば、Bird et al. (1988) Science 242:423-426；およびHuston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883を参照されたい）；ならびに単一ドメイン抗体が挙げられ得る。これらの抗体断片は、当業者に公知の従来の技法を使用して得ることができ、断片は、インタクト抗体と同じ様式で有用性についてスクリーニングされる得る。例えば、一本鎖抗体（scFv）を操作することができる（例えば、Colcher, D. et al. (1999) Ann N Y Acad Sci 880:263-80；およびReiter, Y. (1996) Clin Cancer Res 2:245-52を参照されたい）。一部の実施形態では、一本鎖抗体は、二量体化または多量体化されて、同じ標的タンパク質の異なるエピトープに対する特異性を有する多価抗体が作成され得る。一部の実施形態では、抗体は、インタクト分子およびその機能的断片を含み得る。抗体の定常領域を、変更または変異させて、抗体の1つまたは複数の性質を改変する（例えば、Fc受容体結合、抗体グリコシル化、システイン残基の数、エフェクター細胞機能、または補体機能の1つまたは複数を増加または減少させる）ことができる。抗体定常領域を変更

40

50

するための方法は、当技術分野において公知である。一部の実施形態では、変更された機能、例えば、エフェクターリガンド、例えば、細胞上のFcR、または補体のC1成分に対する変更された親和性を有する抗体は、抗体の定常部分の少なくとも1つのアミノ酸残基を異なる残基で置き換えることによって生成することができる（例えば、EP388, 151A1、米国特許第5,624,821号および米国特許第5,648,260号を参照されたく、これらのすべての内容は、参考として本明細書に組み込まれる）。

【0174】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、非抗体スキファールドを含むことができる。非抗体スキファールドの非限定的な例としては、アフィボディ、アフィリン、アンチカリン、アトリマー（*atrim er*）、アビマー、二環式ペプチド、Cys-ノット、DARPin、FN3スキファールド（例えば、アドネクチン、センチリン、プロネクチン、Tn3）、フィノマー（*fy nomer*）、Kunitzドメイン、またはオボディ（*OBod y*）が挙げられる。

10

【0175】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、誘導体化され得るか、または別の機能的分子（例えば、別のペプチドまたはタンパク質）に連結され得る。本明細書で使用される場合、「誘導体化」抗体は、改変されている抗体である。誘導体化の方法としては、限定されるものではないが、蛍光部分、放射性ヌクレオチド、毒素、酵素または親和性リガンド、例えば、ビオチンの付加が挙げられ得る。例えば、抗体は、1つまたは複数の他の分子実体、例えば、別の抗体（例えば、二特異性抗体またはダイアボディ）、検出可能な作用物質、細胞傷害剤、医薬剤、および／または例えば、化学カップリング、遺伝子融合、非共有結合性の会合、または他の方法を使用することによる、別の分子（例えば、ストレプトアビジンコア領域またはポリヒスチジンタグ）との抗体もしくは抗体部分の会合を媒介し得るタンパク質もしくはペプチドに機能的に連結され得る。1種の誘導体化抗体は、2つまたはそれよりも多くの抗体（同じ種類または異なる種類のもの、例えば、二特異性抗体を作出するため）を架橋することによって生成することができる。好適な架橋剤としては、適切なスペーサーによって分離された2つの別個の反応性基を有するヘテロ二機能性であるもの（例えば、*m*-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル）またはホモ二機能性であるもの（例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル）が挙げられ得る。そのようなリンカーは、*Pierce Chemical Company*、*Rockford*、*ILL*から入手可能である。

20

30

【0176】

一部の実施形態では、抗体は、単ドメイン抗体でもあり得る。単ドメイン抗体は、相補性決定領域が単ドメインポリペプチドの一部である抗体を含み得る。非限定的な例としては、重鎖抗体、軽鎖を天然に欠いている抗体、従来の4鎖抗体に由来する単ドメイン抗体、操作された抗体、および抗体に由来するもの以外の単ドメインスキファールドが挙げられ得る。単ドメイン抗体は、当技術分野における任意のもの、または任意の将来の単ドメイン抗体であり得る。単ドメイン抗体は、限定されるものではないが、マウス、ヒト、ラクダ、ラマ、魚、サメ、ヤギ、ウサギ、およびウシを含む任意の種に由来し得る。一部の実施形態では、単ドメイン抗体は、軽鎖を欠いている重鎖抗体として公知の天然に存在する単ドメイン抗体であり得る。そのような単ドメイン抗体は、例えば、WO94/04678に開示されている。一部の実施形態では、軽鎖を天然に欠いている重鎖抗体に由来するこの可変ドメインは、VHHまたはナノボディとして本明細書で公知である。そのようなVHH分子は、ラクダ科の種、例えば、ラクダ、ラマ、ヒトコブラクダ、アルパカおよびグアナコにおいて生じる抗体に由来し得る。ラクダ科以外の他の種が、軽鎖を天然に欠いている重鎖抗体を産生してもよい。

40

【0177】

VHおよびVL領域は、「フレームワーク領域」（FRまたはFW）と称される、より保存された領域が組み入れられた、「相補性決定領域」（CDR）と称される超可変性の

50

領域に細分化することができる。フレームワーク領域およびCDRの範囲は、いくつかの方法によって厳密に定義されている (Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Chothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; および the AbM definition used by Oxford Molecular's AbM antibody modeling softwareを参照されたい)。一般に、例えば、Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. In: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg)を参照されたい。一部の実施形態では、CDRは、抗原特異性および結合親和性を付与する抗体可変領域内のアミノ酸配列を含み得る。一部の実施形態では、抗体は、それぞれの重鎖可変領域に3つのCDR (VH-CDR1、VH-CDR2、およびVH-CDR3) およびそれぞれの軽鎖可変領域に3つのCDR (VL-CDR1、VL-CDR2、およびVL-CDR3) を有し得る。一部の実施形態では、所与のCDRのアミノ酸配列の境界は、Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (「Kabat」番号付けスキーム)、Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948 (「Chothia」番号付けスキーム) に記載されているものを含む、いくつかの公知のスキームのいずれかを使用して決定することができる。

10

20

【0178】

本明細書に記載される抗体は、組換え的に、例えば、ファージディスプレイを使用して、またはコンビナトリアル法を使用することによって、生成することができる。抗体を作成するためのファージディスプレイおよびコンビナトリアル法は、当技術分野において公知である (例えば、Ladnerらの米国特許第5,223,409号; Kangらの国際公開第WO92/18619号; Dowerらの国際公開第WO91/17271号; Winterらの国際公開WO92/20791; Marklandらの国際公開第WO92/15679号; Breitlingらの国際公開WO93/01288; McCaffertyらの国際公開第WO92/01047号; Garrardらの国際公開第WO92/09690号; Ladnerらの国際公開第WO90/02809号; Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hay et al. (1992) Hum Antibod Hybridomas 3:81-85; Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281; Griffths et al. (1993) EMBO J 12:725-734; Hawkins et al. (1992) J Mol Biol 226:889-896; Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628; Gram et al. (1992) PNAS 89:3576-3580; Garrad et al. (1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboom et al. (1991) Nuc Acid Res 19:4133-4137; およびBarbas et al. (1991) PNAS 88:7978-7982に記載されている通り、これらのすべての内容は、参照により本明細書に組み込まれる)。

30

【0179】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、完全ヒト抗体 (例えば、ヒト免疫グロブリン配列から抗体を産生するように遺伝子操作されたマウスにおいて作製される抗体)、または非ヒト抗体、例えば、げっ歯類 (マウスまたはラット)、ヤギ、霊長類 (例えば、サル)、またはラクダ抗体であり得る。一部の実施形態では、非ヒト抗体は、げっ歯類抗体 (マウスまたはラット抗体) であり得る。げっ歯類抗体を生成する方法は、当技術分野において公知である。

40

【0180】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、ヒト化抗体またはヒト化抗原結合断片であり得る。本明細書で使用される場合、「ヒト化」抗体は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含有する、キメラ免疫

50

グロブリン、免疫グロブリン鎖、またはその断片に特異的である、非ヒト（例えば、マウス）抗体の形態を指す。一部の実施形態では、ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域（CDR）由来の残基が、所望の特異性、親和性、および生物学的活性を有する、マウス、ラット、またはウサギなどの非ヒト種のCDR（ドナー抗体）由来の残基によって置き換えられている、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）であり得る。一部の実施形態では、ヒト化抗体は、ドナーCDRで置き換えられた、少なくとも1つまたは2つ、しかし一般には、3つすべてのレシピエントCDR（重およびまたは軽免疫グロブリン鎖のもの）を有し得る。一部の実施形態では、抗体は、非ヒトCDRの少なくとも一部分で置き換えられ得るか、またはCDRの一部のみが、非ヒトCDRで置き換えられ得る。一部の実施形態では、抗原に結合するために必要な最小数のCDRが、置き換えられ得る。一部の実施形態では、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域（FR）残基が、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらにまた、ヒト化抗体は、レシピエント抗体においても、インポートされたCDRまたはフレームワーク配列においても見出されないが、抗体の性能をさらに精緻化または最適化するために含まれる、残基を含んでもよい。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には、2つの可変ドメインを含み得、ここで、すべてまたは実質的にすべてのCDR領域は、非ヒト免疫グロブリンのものに相当し、すべてまたは実質的にすべてのFR領域は、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。ヒト化抗体は、最適には、免疫グロブリン定常領域またはドメイン（Fc）の少なくとも一部分、典型的には、ヒト免疫グロブリンのものも含み得る。抗体は、例えば、WO 99 / 58572に記載されているようにして改変されたFc領域を有し得る。ヒト化抗体の他の形態は、元の抗体由来の1つまたは複数のCDR「に由来する」1つまたは複数のCDRとも称される、元の抗体に関して変更されている1つまたは複数のCDR（1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つ）を有する。ヒト化抗体は、例えば、CDRグラフト化またはCDR置換などの遺伝子操作技法を使用して、抗体可変ドメインをモデリングすること、および抗体を生成することによって、生成することができ、ここで、免疫グロブリン鎖の1つ、2つ、またはすべてのCDRを置き換えることができる。ヒト化抗体の生成のためのさまざまな技法の記載は、例えば、米国特許5,225,539; Morrison et al., (1984) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 81:6851-55; Whittle et al., (1987) Prot. Eng. 1:499-505; Co et al., (1990) J. Immunol. 148:1149-1154; Co et al., (1992) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 88:2869-2873; Carter et al., (1992) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89:4285-4289; Routledge et al., (1991) Eur. J. Immunol. 21:2717-2725およびPCT特許公開第WO 91 / 09967号; 同第WO 91 / 09968号および同第WO 92 / 113831号に見出される。例えば、ヒトモノクローナル抗体は、マウス系ではなくヒト免疫グロブリン遺伝子を持つトランスジェニックマウスを使用して、作成することができる。目的の抗原で免疫化されたこれらのトランスジェニックマウスからの脾臓細胞を使用して、ヒトタンパク質由来のエピトープに対する特異的な親和性を有するヒトmAbを分泌するハイブリドーマを生成することができる（例えば、Woodらの国際出願WO 91 / 00906、KucherlapatiらのPCT公開WO 91 / 10741; Lonbergらの国際出願WO 92 / 03918; Kayらの国際出願92 / 03917; Lonberg, N. et al. 1994 Nature 368: 856-859; Green, L.L. et al. 1994 Nature Genet. 7:13-21; Morrison, S.L. et al. 1994 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855; Bruggeman et al. 1993 Year Immunol 7:33-40; Tuailon et al. 1993 PNAS 90:3720-3724; Bruggeman et al. 1991 Eur J Immunol 21:1323-1326を参照されたい）。一部の実施形態では、免疫適格トランスジェニックマウスを使用することができる。一部の実施形態では、免疫適格トランスジェニックマウスは、ヒト抗体重鎖、ヒト抗体軽鎖、またはその組合せを含み得る。一部の実施形態では、免疫適格トランスジェニックマウスは、ヒト抗体重鎖、ヒト抗体ラムダ軽鎖、ヒト抗体カッパ軽鎖、またはその組合せを含み得る。一部の実施形態では、1つまたは複数の特定のアミノ

10

20

30

40

50

酸を、ヒト化抗体において、置換、欠失または付加することができる。ドナー由来のアミノ酸を選択するための基準は、US 5, 585, 089、例えば、US 5, 585, 089の12～16欄、例えば、US 5, 585, 089の12～16欄に記載されており、これらの内容は、参考として本明細書に組み込まれる。抗体をヒト化するための他の技法は、1992年12月23日に公開されたPadlanらのEP 519596 A1に記載されている。

【0181】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、CDRグラフト化スキャフォールドドメインを含み得る。一部の実施形態では、スキャフォールドドメインは、フィブロネクチンドメイン、例えば、フィブロネクチンIII型ドメインに基づき得る。一部の実施形態では、フィブロネクチンIII型(Fn3)ドメインの全体的なフォールディングは、抗体重鎖の最小機能的抗体断片の可変ドメインのものと密接に関連し得る。Fn3の末端に3つのループがあり、BC、DEおよびFGループの位置は、抗体のVHドメインのCDR1、2および3のものにおよそ対応する。一部の実施形態では、Fn3は、ジスルフィド結合を有していなくてもよく、したがって、Fn3は、抗体およびそれらの断片と異なって、還元条件下で安定であり得る(例えば、WO 98/56915; WO 01/64942; WO 00/34784を参照されたい)。Fn3ドメインは、改変(例えば、本明細書に記載されるCDRまたは超可変ループを使用する)または変更して、例えば、本明細書に記載される抗原/マーカー/細胞に結合するドメインを選択することができる。一部の実施形態では、スキャフォールドドメイン、例えば、フォールディングされたドメインは、抗体、例えば、モノクローナル抗体の重鎖可変ドメイン由来の3つのベータ鎖を欠失させることによって作出された「ミニボディ」スキャフォールドに基づき得る(例えば、Tramontano et al., 1994, J Mol. Recognit. 7:9; およびMartin et al., 1994, EMBO J. 13:5303-5309を参照されたい)。一部の実施形態では、ミニボディを使用して、2つの超可変ループを提示することができる。一部の実施形態では、スキャフォールドドメインは、V様ドメイン(例えば、CoiaらのWO 99/45110を参照されたい)または2つのジスルフィド結合によって一緒に保持された74残基の6鎖ベータシートサンドイッチであるテンダミスタチン(tendamistatin)に由来するドメイン(例えば、McConnell and Hoess, 1995, J Mol. Biol. 250:460を参照されたい)であり得る。例えば、テンダミスタチンのループは、改変(例えば、CDRまたは超可変ループを使用する)または変更して、例えば、本明細書に記載されるマーカー/抗原/細胞に結合するドメインを選択することができる。別の例示的なスキャフォールドドメインは、CTLA-4の細胞外ドメインに由来するベータサンドイッチ構造である(例えば、WO 00/60070を参照されたい)。他の例示的なスキャフォールドドメインとしては、限定されるものではないが、T細胞受容体、MHCタンパク質、細胞外ドメイン(例えば、フィブロネクチンIII型リピート、EGFリピート)、プロテアーゼ阻害剤(例えば、Kunitzドメイン、エコチン、BPTIなど)、TPRリピート; トリフォイル構造、ジンクフィンガードメイン、DNA結合タンパク質、特に、単量体DNA結合タンパク質、RNA結合タンパク質、酵素、例えば、プロテアーゼ(特に、不活性化プロテアーゼ)、RNAse、シャペロン、例えば、チオレドキシン、および熱ショックタンパク質; ならびに細胞内シグナル伝達ドメイン(例えば、SH2およびSH3ドメイン)が挙げられ得る。例えば、参照により本明細書に組み込まれるUS 20040009530およびUS 7, 501, 121を参照されたい。一部の実施形態では、スキャフォールドドメインは、例えば、以下の基準: (1) アミノ酸配列、(2) いくつかの相同ドメインの配列、(3) 三次元構造、および/または(4) pH、温度、塩分、有機溶媒、酸化剤濃度の範囲にわたる安定性データの1つまたは複数によって、評価および選択することができる。一部の実施形態では、スキャフォールドドメインは、小さい、安定なタンパク質ドメイン、例えば、100、70、50、40または30未満のアミノ酸のタンパク質であり得る。ドメインは、1つもしくは複数のジスルフィド結合を含み得るか、または金属、例えば、亜鉛を

10

20

30

40

50

キレートし得る。

【0182】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、非ヒト生物（例えば、ラットまたはマウス）において作成された、可変領域、またはその一部分、例えば、CDRを含み得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、キメラ抗体、CDRグラフト化抗体、またはヒト化抗体であり得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、非ヒト生物において作成し、改変することができる。例えば、非ヒト生物（例えば、ラットまたはマウス）において作成された抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、可変フレームワーク領域または定常領域において改変して、ヒトにおける抗原性および／または免疫原性を減少させることができる。一部の実施形態では、キメラ抗体は、当技術分野において公知の組換えDNA技法によって生成することができる（Robinsonら、国際特許公開PCT/US86/02269；Akiraら、欧州特許出願184,187；Taniguchi, M., 欧州特許出願171,496；Morrisonら、欧州特許出願173,494；Neubergerら、国際出願WO86/01533；Cabillyらの米国特許第4,816,567号；Cabillyら、欧州特許出願125,023；Better et al. (1988 Science 240:1041-1043)；Liu et al. (1987) PNAS 84:3439-3443；Liu et al., 1987, J. Immunol. 139:3521-3526；Sun et al. (1987) PNAS 84:214-218；Nishimura et al., 1987, Canc. Res. 47:999-1005；Wood et al. (1985) Nature 314:446-449；およびShaw et al., 1988, J. Natl Cancer Inst. 80:1553-1559を参照されたい）。

10

20

【0183】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、標的タンパク質の抗原または標的タンパク質の抗原上のエピトープに選択的に結合することができる。一部の実施形態では、標的は、エリスロポエチン（EPO）タンパク質、ホモ-EPORもしくはヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニット、ヘテロ-EPORのCD131サブユニット、またはその組合せを含み得る。一部の実施形態では、標的は、ヘテロ-EPORを含み得る。例えば、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含むヘテロ-EPORに選択的に結合することができる。この実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットの両方に結合することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、天然に存在しないものであり得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、単離および／または精製することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体、その抗原結合断片、またはその機能的断片は、in vitroアッセイ（例えば、結合アッセイ、機能性アッセイなど）において使用することができる。

30

【0184】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその機能的断片は、標的に結合することができ、アンタゴニストとして作用することができる。一例では、抗EPO抗体は、EPOタンパク質と結合することができ、EPOタンパク質とホモ-EPORとの間の複合体の形成を防止することができる。別の例では、抗EPO抗体は、EPOタンパク質と結合することができ、EPOタンパク質とヘテロ-EPORとの間の複合体の形成を防止することができる。さらに別の例では、抗EPOR抗体は、EPO受容体サブユニットと結合することができ、ホモ-EPORの複合体形成、ヘテロ-EPORの複合体形成、EPOタンパク質とホモ-EPORとの間の複合体形成、またはEPOタンパク質とヘテロ-EPORとの間の複合体形成を防止することができる。さらに別の例では、抗CD131抗体は、ヘテロ-EPORのCD131サブユニットと結合することができ、

40

50

ヘテロ-E P O Rの複合体形成またはE P Oタンパク質とヘテロ-E P O Rとの間の複合体形成を防止することができる。一部の実施形態では、ホモ-E P O Rの複合体形成またはE P Oタンパク質とホモ-E P O Rとの間の複合体形成を防止することで、ホモ-E P O Rの活性化または機能の防止をもたらし得る。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O Rの複合体形成またはE P Oタンパク質とヘテロ-E P O Rとの間の複合体形成を防止することで、ヘテロ-E P O Rの活性化または機能の防止をもたらし得る。一部の実施形態では、抗E P O抗体は、E P Oタンパク質と結合し、ホモ-E P O Rまたはヘテロ-E P O RへのE P Oタンパク質の結合に影響を及ぼすことなく、ホモ-E P O Rまたはヘテロ-E P O Rの活性を阻害またはそのレベルを減少させることができる。一部の実施形態では、抗E P O R抗体は、ホモ-E P O Rまたはヘテロ-E P O RのE P O受容体サブユニットに結合し、ホモ-E P O Rもしくはヘテロ-E P O Rの複合体形成、またはE P Oタンパク質とホモ-E P O Rとの間もしくはE P Oタンパク質とヘテロ-E P O Rとの間の複合体形成に影響を及ぼすことなく、ホモ-E P O Rまたはヘテロ-E P O Rの活性を阻害またはそのレベルを減少させることができる。一部の実施形態では、抗C D 1 3 1抗体は、ヘテロ-E P O RのC D 1 3 1サブユニットと結合し、ヘテロ-E P O Rの複合体形成またはヘテロ-E P O RへのE P Oタンパク質の結合に影響を及ぼすことなく、ヘテロ-E P O Rの活性を阻害またはそのレベルを減少させることができる。

10

20

30

40

50

【0185】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその機能的断片は、標的に結合することができ、アゴニストとして作用することができる。一例では、抗E P O R抗体は、ホモ-E P O RへのE P Oの結合を模倣する様式で、ホモ-E P O RのE P O受容体サブユニットと結合することができる。別の例では、抗E P O R抗体は、ヘテロ-E P O RへのE P Oの結合を模倣する様式で、ヘテロ-E P O RのE P O受容体サブユニットと結合することができる。さらに別の例では、抗C D 1 3 1抗体は、ヘテロ-E P O RへのE P Oの結合を模倣する様式で、ヘテロ-E P O RのC D 1 3 1サブユニットと結合することができる。一部の実施形態では、ホモ-E P O RへのE P Oの結合を模倣することで、ホモ-E P O Rの活性化をもたらし得る。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O RへのE P Oの結合を模倣することで、ヘテロ-E P O Rの活性化をもたらし得る。一部の実施形態では、抗E P O抗体は、ホモ-E P O Rまたはヘテロ-E P O Rに対するE P Oタンパク質の結合親和性に影響を及ぼすことなく、ホモ-E P O Rまたはヘテロ-E P O Rの活性を促進または増加させることができる。一部の実施形態では、抗E P O R抗体は、ホモ-E P O Rもしくはヘテロ-E P O Rに対するE P Oタンパク質の結合親和性、またはホモ-E P O R（例えば、ホモ-E P O Rの2つのE P O受容体サブユニット間）もしくはヘテロ-E P O R（例えば、E P O受容体サブユニットとヘテロ-E P O RのC D 1 3 1サブユニットとの間）の結合親和性に影響を及ぼすことなく、ホモ-E P O Rまたはヘテロ-E P O Rの活性を促進または増加させることができる。一部の実施形態では、抗C D 1 3 1抗体は、ヘテロ-E P O RへのE P Oタンパク質の結合親和性、またはヘテロ-E P O R（例えば、E P O受容体サブユニットとヘテロ-E P O RのC D 1 3 1サブユニットとの間）の結合親和性に影響を及ぼすことなく、ヘテロ-E P O Rの活性を促進または増加させることができる。

【0186】

一部の実施形態では、ホモ-E P O R活性またはヘテロ-E P O R活性としては、限定されるものではないが、ホモ-E P O Rの細胞内ドメイン、ヘテロ-E P O Rの細胞内ドメイン、ヤヌスチロシンキナーゼ2（J a k 2）、またはシグナル伝達および転写活性化因子5（S t a t 5）のリン酸化が挙げられ得る。一部の実施形態では、ホモ-E P O R活性またはヘテロ-E P O R活性としては、限定されるものではないが、J a k 2、J a k 2経路、S t a t 5経路、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ（M A P K）、M A P K経路、細胞外シグナル調節キナーゼ（E R K）、E R K経路、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ（P I 3 K）、P I 3 K経路、v-A k tマウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子／プロテインキナーゼ-B（A k t／P K B）、A k t／P K B経路、ラパマイシン

の哺乳動物標的 (mTOR)、またはmTOR経路の活性化が挙げられ得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその機能的断片は、ホモ-EPOR、ヘテロ-EPOR、Jak2、Stat5、MAPK、ERK、PI3K、Akt/PKB、またはmTORの活性化またはリン酸化を阻害することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその機能的断片は、Jak2、Jak2経路、Stat5、Stat5経路、MAPK、MAPK経路、ERK、ERK経路、PI3K、PI3K経路、Akt/PKB、Akt/PKB経路、mTOR、またはmTOR経路の活性化を阻害することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその機能的断片は、ホモ-EPOR、ヘテロ-EPOR、Jak2、Stat5、またはmTORの活性化またはリン酸化を促進することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその機能的断片は、Jak2、Jak2経路、Stat5、Stat5経路、MAPK、MAPK経路、ERK、ERK経路、PI3K、PI3K経路、Akt/PKB、Akt/PKB経路、mTOR、またはmTOR経路の活性化を促進することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその機能的断片は、ホモ-EPOR、ヘテロ-EPOR、Jak2、Stat5、MAPK、ERK、PI3K、Akt/PKB、またはmTORの活性化またはリン酸化に影響を及ぼさなくてもよい。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその機能的断片は、Jak2、Jak2経路、Stat5、Stat5経路、MAPK、MAPK経路、ERK、ERK経路、PI3K、PI3K経路、Akt/PKB、Akt/PKB経路、mTOR、またはmTOR経路の活性化に影響を及ぼさなくてもよい。一部の実施形態では、ホモ-EPOR、ヘテロ-EPOR、Jak2、Stat5、MAPK、ERK、PI3K、Akt/PKB、またはmTORの活性化またはリン酸化は、当技術分野において公知の任意の方法を使用して測定することができる。Jak2、Stat5、MAPK、ERK、PI3K、Akt/PKB、またはmTORの活性化レベルを測定するための方法の例としては、限定されるものではないが、ウエスタンブロット、フローサイトメトリーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、または酵素結合免疫吸着検定法 (ELISA) が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0187】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、またはその機能的断片は、標的に結合することができ、ヘテロ-EPORに対するアゴニストとして作用することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-EPORに対するアゴニストであり得、ヘテロ-EPORに選択的に結合することができる。一部の実施形態では、抗EPO抗体、抗EPOR抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-EPORに対するアゴニストであり得、ホモ-EPORに対するよりも、ヘテロ-EPORに対するより高い結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-EPORに対するアゴニストであり得、ホモ-EPOR結合親和性よりも少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約3%、少なくとも約4%、少なくとも約5%、少なくとも約6%、少なくとも約7%、少なくとも約8%、少なくとも約9%、少なくとも約10%、少なくとも約11%、少なくとも約12%、少なくとも約13%、少なくとも約14%、少なくとも約15%、少なくとも約16%、少なくとも約17%、少なくとも約18%、少なくとも約19%、少なくとも約20%、少なくとも約21%、少なくとも約22%、少なくとも約23%、少なくとも約24%、少なくとも約25%、少なくとも約26%、少なくとも約27%、少なくとも約28%、少なくとも約29%、少なくとも約30%、少なくとも約31%、少なくとも約32%、少なくとも約33%、少なくとも約34%、少なくとも約35%、少なくとも約36%、少なくとも約37%、少なくとも約38%、少なくとも約39%、少なくとも約40%、少なくとも約41%、少なくとも約42%、少なくとも約43%、少なくとも約44%、少なくとも約45%、少なくとも約46%、少なくとも約47%、少なくとも約48%、少なくとも約49%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%

、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % 高いヘテロ-E P O R 結合親和性を有し得る。

【0188】

一部の実施形態では、抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-E P O R に対するアゴニストであり得、ヘテロ-E P O R に対する結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-E P O R に対するアゴニストであり得、ホモ-E P O R に対するよりも、ヘテロ-E P O R に対するより高い特異性または選択性を有し得る。例えば、抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-E P O R に対するアゴニストであり得、ホモ-E P O R 結合特異性または選択性よりも高いヘテロ-E P O R 結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-E P O R に対するアゴニストであり得、ホモ-E P O R 結合特異性または選択性よりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 11 %、少なくとも約 12 %、少なくとも約 13 %、少なくとも約 14 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 16 %、少なくとも約 17 %、少なくとも約 18 %、少なくとも約 19 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 21 %、少なくとも約 22 %、少なくとも約 23 %、少なくとも約 24 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 26 %、少なくとも約 27 %、少なくとも約 28 %、少なくとも約 29 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 31 %、少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %、少なくとも約 43 %、少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %、少なくとも約 47 %、少なくとも約 48 %、少なくとも約 49 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % 高いヘテロ-E P O R 結合特異性または選択性を有し得る。

【0189】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、標的に結合することができ、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストとして作用することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストであり得、ヘテロ-E P O R に選択的に結合することができる。一部の実施形態では、抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストであり得、ホモ-E P O R に対するよりも、ヘテロ-E P O R に対するより高い結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストであり得、ホモ-E P O R 結合親和性よりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 11 %、少なくとも約 12 %、少なくとも約 13 %、少なくとも約 14 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 16 %、少なくとも約 17 %、少なくとも約 18 %、少なくとも約 19 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 21 %、少なくとも約 22 %、少なくとも約 23 %、少なくとも約 24 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 26 %、少なくとも約 27 %、少なくとも約 28 %、少なくとも約 29 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 31 %、少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、少

なくとも約 40%、少なくとも約 41%、少なくとも約 42%、少なくとも約 43%、少なくとも約 44%、少なくとも約 45%、少なくとも約 46%、少なくとも約 47%、少なくとも約 48%、少なくとも約 49%、少なくとも約 50%、少なくとも約 55%、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、または少なくとも約 99% 高いヘテロ-EPO-R 結合親和性を有し得る。

【0190】

一部の実施形態では、抗 EPO 抗体、抗 EPO-R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-EPO-R に対するアンタゴニストであり得、ヘテロ-EPO-R に対する結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、抗 EPO 抗体、抗 EPO-R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-EPO-R に対するアンタゴニストであり得、ホモ-EPO-R に対するよりも、ヘテロ-EPO-R に対するより高い特異性または選択性を有し得る。例えば、抗 EPO 抗体、抗 EPO-R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-EPO-R に対するアンタゴニストであり得、ホモ-EPO-R 結合特異性または選択性よりも高いヘテロ-EPO-R 結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 EPO 抗体、抗 EPO-R 抗体、またはその機能的断片は、ヘテロ-EPO-R に対するアンタゴニストであり得、ホモ-EPO-R 結合特異性または選択性よりも少なくとも約 1%、少なくとも約 2%、少なくとも約 3%、少なくとも約 4%、少なくとも約 5%、少なくとも約 6%、少なくとも約 7%、少なくとも約 8%、少なくとも約 9%、少なくとも約 10%、少なくとも約 11%、少なくとも約 12%、少なくとも約 13%、少なくとも約 14%、少なくとも約 15%、少なくとも約 16%、少なくとも約 17%、少なくとも約 18%、少なくとも約 19%、少なくとも約 20%、少なくとも約 21%、少なくとも約 22%、少なくとも約 23%、少なくとも約 24%、少なくとも約 25%、少なくとも約 26%、少なくとも約 27%、少なくとも約 28%、少なくとも約 29%、少なくとも約 30%、少なくとも約 31%、少なくとも約 32%、少なくとも約 33%、少なくとも約 34%、少なくとも約 35%、少なくとも約 36%、少なくとも約 37%、少なくとも約 38%、少なくとも約 39%、少なくとも約 40%、少なくとも約 41%、少なくとも約 42%、少なくとも約 43%、少なくとも約 44%、少なくとも約 45%、少なくとも約 46%、少なくとも約 47%、少なくとも約 48%、少なくとも約 49%、少なくとも約 50%、少なくとも約 55%、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、または少なくとも約 99% 高いヘテロ-EPO-R 結合特異性または選択性を有し得る。

【0191】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 EPO 抗体、抗 EPO-R 抗体、またはその機能的断片は、標的に結合することができ、ホモ-EPO-R に対するアゴニストとして作用することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 EPO 抗体、抗 EPO-R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-EPO-R に対するアゴニストであり得、ホモ-EPO-R に選択的に結合することができる。一部の実施形態では、抗 EPO 抗体、抗 EPO-R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-EPO-R に対するアゴニストであり得、ヘテロ-EPO-R に対するよりも、ホモ-EPO-R に対するより高い結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 EPO 抗体、抗 EPO-R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-EPO-R に対するアゴニストであり得、ヘテロ-EPO-R 結合親和性よりも少なくとも約 1%、少なくとも約 2%、少なくとも約 3%、少なくとも約 4%、少なくとも約 5%、少なくとも約 6%、少なくとも約 7%、少なくとも約 8%、少なくとも約 9%、少なくとも約 10%、少なくとも約 11%、少なくとも約 12%、少なくとも約 13%、少なくとも約 14%、少なくとも約 15%、少なくとも約 16%、少なくとも約 17%、少なくとも約 18%、少なくとも約 19%、少なくとも約 20%、少なくとも約 21%、少なくとも約 22%、少なくとも約 23%、少なくとも約 24%、少なくとも約 25%、少なくとも約 26%、少なくとも約 27%、少なくとも約 28%、少なく

とも約 29 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 31 %、少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %、少なくとも約 43 %、少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %、少なくとも約 47 %、少なくとも約 48 %、少なくとも約 49 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % 高いホモ-E P O R 結合親和性を有し得る。

【0192】

一部の実施形態では、抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-E P O R に対するアゴニストであり得、ホモ-E P O R に対する結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-E P O R に対するアゴニストであり得、ヘテロ-E P O R に対するよりも、ホモ-E P O R に対するより高い特異性または選択性を有し得る。例えば、抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-E P O R に対するアゴニストであり得、ヘテロ-E P O R 結合特異性または選択性よりも高いホモ-E P O R 結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-E P O R に対するアゴニストであり得、ヘテロ-E P O R 結合特異性または選択性よりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 11 %、少なくとも約 12 %、少なくとも約 13 %、少なくとも約 14 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 16 %、少なくとも約 17 %、少なくとも約 18 %、少なくとも約 19 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 21 %、少なくとも約 22 %、少なくとも約 23 %、少なくとも約 24 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 26 %、少なくとも約 27 %、少なくとも約 28 %、少なくとも約 29 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 31 %、少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %、少なくとも約 43 %、少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %、少なくとも約 47 %、少なくとも約 48 %、少なくとも約 49 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % 高いホモ-E P O R 結合特異性または選択性を有し得る。

【0193】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、標的に結合することができ、ホモ-E P O R に対するアンタゴニストとして作用することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-E P O R に対するアンタゴニストであり得、ホモ-E P O R に選択的に結合することができる。一部の実施形態では、抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-E P O R に対するアンタゴニストであり得、ヘテロ-E P O R に対するよりも、ホモ-E P O R に対するより高い結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-E P O R に対するアンタゴニストであり得、ヘテロ-E P O R 結合親和性よりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 11 %、少なくとも約 12 %、少なくとも約 13 %、少なくとも約 14 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 16 %、少なくとも約 17 %、少なくとも約 18 %、少なくとも約 19 %、少なくとも

約 20 %、少なくとも約 21 %、少なくとも約 22 %、少なくとも約 23 %、少なくとも約 24 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 26 %、少なくとも約 27 %、少なくとも約 28 %、少なくとも約 29 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 31 %、少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %、少なくとも約 43 %、少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %、少なくとも約 47 %、少なくとも約 48 %、少なくとも約 49 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % 高いホモ-EPO R 結合親和性を有し得る。

10

【0194】

一部の実施形態では、抗 EPO 抗体、抗 EPO R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-EPO R に対するアンタゴニストであり得、ホモ-EPO R に対する結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、抗 EPO 抗体、抗 EPO R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-EPO R に対するアンタゴニストであり得、ヘテロ-EPO R に対するよりも、ホモ-EPO R に対するより高い特異性または選択性を有し得る。例えば、抗 EPO 抗体、抗 EPO R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-EPO R に対するアンタゴニストであり得、ヘテロ-EPO R 結合特異性または選択性よりも高いホモ-EPO R 結合特異性または選択性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 EPO 抗体、抗 EPO R 抗体、またはその機能的断片は、ホモ-EPO R に対するアンタゴニストであり得、ヘテロ-EPO R 結合特異性または選択性よりも少なくとも約 1 %、少なくとも約 2 %、少なくとも約 3 %、少なくとも約 4 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 6 %、少なくとも約 7 %、少なくとも約 8 %、少なくとも約 9 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 11 %、少なくとも約 12 %、少なくとも約 13 %、少なくとも約 14 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 16 %、少なくとも約 17 %、少なくとも約 18 %、少なくとも約 19 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 21 %、少なくとも約 22 %、少なくとも約 23 %、少なくとも約 24 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 26 %、少なくとも約 27 %、少なくとも約 28 %、少なくとも約 29 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 31 %、少なくとも約 32 %、少なくとも約 33 %、少なくとも約 34 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 36 %、少なくとも約 37 %、少なくとも約 38 %、少なくとも約 39 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 41 %、少なくとも約 42 %、少なくとも約 43 %、少なくとも約 44 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 46 %、少なくとも約 47 %、少なくとも約 48 %、少なくとも約 49 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % 高いホモ-EPO R 結合特異性または選択性を有し得る。

20

30

【0195】

一部の態様では、本明細書に記載される抗体は、EPO、ヘテロ-EPO R、またはホモ-EPO R に対する特異性を有し、上記に記載された形態のすべてを含む。抗体は、特定の生物における使用のために操作することができる。生物は、ヒト、イヌ、または商業的に価値がある家畜、例えば、ブタ、ウマ、イヌ、ネコ、ニワトリ、または他の鳥類などであり得る。そのような抗体の操作としては、例えば、CDR スプライシング、ヒト化 (humanization)、ヒト化 (human engineering)、キメラ化、または当該技術分野において公知のレパートリー技術またはモノクローナル技術のいずれかを使用するヒト (または他の生物) 抗体の単離が挙げられ得る。

40

【0196】

代替スキャフォールドを有する抗体のある特定の例としては、限定されるものではないが、ナノボディ、アフィボディ、マイクロボディ、エビボディ (evibody)、およ

50

びドメイン抗体が挙げられ得る。抗体を作出するために有用な代替スキファールドのある特定の例としては、限定されるものではないが、ラクダ科動物由来の単ドメイン抗体；プロテアーゼ阻害剤；ヒト血清トランスフェリン；C T L A - 4；限定されるものではないが、フィブロネクチン I I I 型ドメインを含む、フィブロネクチン；C 型レクチン様ドメイン；リポカリンファミリータンパク質；アンキリンリピートタンパク質；プロテイン A の Z - ドメイン；ガンマークリスタリン；テンダミスタット；ネオカルチノスタチン；C B M 4 - 2；T 細胞受容体；I m 9；設計された A R タンパク質；設計された T P R タンパク質；ジンクフィンガードメイン；p V I I I；トリ隣ポリペプチド；G C N 4；W W ドメイン；S r c ホモロジー 3 (S H 3) ドメイン；S r c ホモロジー 2 (S H 2) ドメイン；P D Z ドメイン；T E M - 1 ベーターラクタマーゼ；G F P；チオレドキシン；S t a p h y l c o c c a l ヌクレアーゼ；P H D - フィンガードメイン；C I - 2；B P T I；A P P I；H P S T I；エコチン；L A C I - D 1；L D T I；M T I - I I；サソリ毒素；昆虫デフェンシン A ペプチド；E E T I - I I；M i n - 2 3；C B D；P B P；チトクロム b 5 6 2；トランスフェリン；L D L 受容体ドメイン A；およびユビキチンが挙げられ得る。代替スキファールドのある特定の例は、Hey et al., "Artificial, non-antibody binding proteins for pharmaceutical and industrial applications" Trends in Biotechnology, 23:514-22 (2005)および Binz et al., "Engineering novel binding proteins from nonimmunoglobulin domains" Nature Biotechnology, 23:1257-68 (2005)において議論されており、これらはどちらも、すべての目的のために、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

【0197】

二特異性または二機能性抗体は、2つの異なる重鎖／軽鎖対および2つの異なる結合部位を含み得る。二特異性抗体は、限定されるものではないが、ハイブリドーマの融合または F a b ' 断片の連結を含む、各種の方法によって生成され得る。例えば、Songsivilai & Lachmann Clin. Exp. Immunol 79: 315-321 (1990)、Kostelny et al. J. Immunol. 148:1547-1553 (1992)を参照されたく、これは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0198】

二特異性抗体分子は、5つの異なる構造群：(i) 二特異性免疫グロブリン G (B s I g G)；(ii) 追加の抗原結合部分が付け加えられた I g G；(iii) 二特異性抗体断片；(iv) 二特異性融合タンパク質；および (v) 二特異性抗体コンジュゲートに分類することができる。B s I g G は、それぞれの抗原について一価であるフォーマットである。例示的な B s I g G フォーマットとしては、限定されるものではないが、c r o s s M a b、D A F (ツーインワン (t w o - i n - o n e))、D A F (フォーインワン (f o u r - i n - o n e))、D u t a M a b、D T - I g G、ノブーインホール (k n o b s - i n - h o l e s) 共通 L C、ノブーインホールアセンブリ、電荷対、F a b アーム交換、S E E D ボディ (S E E D b o d y)、トリオマブ (t r i o m a b)、L U Z - Y、F c a b、κ λ - ボディ (κ λ - b o d y)、オルトゴナル F a b が挙げられる。Spiess et al. Mol. Immunol. 67(2015):95-106を参照されたい。例示的な B s I g G としては、抗 C D 3 アームおよび抗 E p C A M アームを含有するカツマキソマブ (F r e s e n i u s B i o t e c h、T r i o n P h a r m a、N e o p h a r m)、ならびに C D 3 および H E R 2 を標的化するエルツマキソマブ (N e o v i i B i o t e c h、F r e s e n i u s B i o t e c h) が挙げられる。一部の実施形態では、B s I g G は、ヘテロ二量体化のために操作されている重鎖を含む。例えば、重鎖は、「ノブーイントゥーホール (k n o b s - i n t o - h o l e s)」戦略、S E E D プラットフォーム、共通重鎖 (例えば、κ λ ボディ中)、およびヘテロ二量体 F c 領域の使用を使用して、ヘテロ二量体化のために操作することができる。Spiess et al. Mol. Immunol. 67(2015):95-106を参照されたい。B s I g G におけるホモ二量体の重鎖対合を回避するために使用されてきた戦略としては、ノブーイン-

30

40

50

ホール、デュオボディ、アジメトリック (a z y m e t r i c)、電荷対、H A - T F、S E E D ボディ、および差次的プロテイン A 親和性が挙げられる。同文献を参照されたい。B s I g G は、異なる宿主細胞における構成要素抗体の別々の発現、およびその後の精製 / B s I g G へのアセンブリーによって生成することができる。B s I g G は、単一の宿主細胞における構成要素抗体の発現によって生成することもできる。B s I g G は、例えば、プロテイン A および逐次的 pH 溶出を使用する、親和性クロマトグラフィーを使用して精製することができる。追加の抗原結合性部分を付け加えられた I g G は、二特異性抗体分子の別のフォーマットである。例えば、単一特異性 I g G は、例えば、重鎖または軽鎖のいずれかの N または C 末端で、追加の抗原結合性単位を単一特異性 I g G 上に付け加えることによって二特異性を有するように操作することができる。例示的な追加の抗原結合性単位としては、単一ドメイン抗体 (例えば、可変重鎖または可変軽鎖)、操作されたタンパク質スキュフォールド、および対合した抗体可変ドメイン (例えば、一本鎖可変断片または可変断片) が挙げられる。同文献を参照されたい。付け加えられた I g G フォーマットの例としては、二重可変ドメイン I g G (D V D - I g)、I g G (H) - s c F v、s c F v - (H) I g G、I g G (L) - s c F v、s c F v - (L) I g G、I g G (L, H) - F v、I g G (H) - V、V (H) - I g G、I g G (L) - V、V (L) - I g G、K I H I g G - s c F a b、2 s c F v - I g G、I g G - 2 s c F v、s c F v 4 - I g、ザイボディ (z y b o d y)、および D V I - I g G (フォーインワン) が挙げられる。Spiess et al. Mol. Immunol. 67(2015):95-106を参照されたい。I g G - s c F v の例は、I G F - 1 R および H E R 3 と結合する M M - 1 4 1 (M e r r i m a c k P h a r m a c e u t i c a l s) である。D V D - I g の例としては、I L - 1 α および I L - 1 β と結合する A B T - 9 8 1 (A b b V i e)、ならびに T N F および I L - 1 7 A と結合する A B T - 1 2 2 (A b b V i e) が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0199】

二特異性抗体断片 (B s A b) は、抗体定常ドメインの一部またはすべてを欠く二特異性抗体分子のフォーマットである。例えば、一部の B s A b は、F c 領域を欠く。一部の実施形態では、二特異性抗体断片は、単一の宿主細胞における B s A b の効率的な発現を許容するペプチドリンカーによって接続された重鎖および軽鎖領域を含む。例示的な二特異性抗体断片としては、限定されるものではないが、ナノボディ、ナノボディー H A S、B i T E、D i a b o d y、D A R T、T a n d A b、s c D i a b o d y、s c D i a b o d y - C H 3、D i a b o d y - C H 3、トリプルボディ、ミニ抗体、ミニボディ、T r i B i ミニボディ、s c F v - C H 3 K I H、F a b - s c F v、s c F v - C H - C L - s c F v、F (a b')₂、F (a b')₂ - s c F v₂、s c F v - K I H、F a b - s c F v - F c、四価 H C A b、s c D i a b o d y - F c、D i a b o d y - F c、タンデム s c F v - F c、およびイントラボディが挙げられる。例えば、B i T E フォーマットは、タンデム s c F v を含み、構成要素の s c F v は、T 細胞上の C D 3、およびがん細胞上の表面抗原に結合する。二特異性融合タンパク質としては、例えば、追加の特異性および / または機能性を加えるために、他のタンパク質に連結された抗体断片が挙げられる。二特異性融合タンパク質の例は、i m m T A C であり、これは、H L A 提示ペプチドを認識する親和性成熟 T 細胞受容体に連結された抗 C D 3 s c F v を含む。一部の実施形態では、ドック-アンド-ロック (d o c k - a n d - l o c k) (D N L) 法を使用して、より高い価数を有する二特異性抗体分子を作成することができる。また、アルブミン結合タンパク質またはヒト血清アルブミンへの融合は、抗体断片の血清半減期を延長させることができる。一部の実施形態では、化学的コンジュゲーション、例えば、抗体および / または抗体断片の化学的コンジュゲーションを使用して、B s A b 分子を作出することができる。例示的な二特異性抗体コンジュゲートとしては、C o v X ボディフォーマットが挙げられ、ここで、低分子量薬物は、それぞれの F a b アームまたは抗体もしくはその断片中の単一の反応性リシンに部位特異的にコンジュゲートされる。一部の実施形態では、コンジュゲーションは、低分子量薬物の血清半減期を改善する。例示的な C

o v X ボディは、C V X - 2 4 1 (N C T 0 1 0 0 4 8 2 2) であり、これは、V E G F または A n g 2 のいずれかを阻害する2つの短いペプチドにコンジュゲートされた抗体を含む。一部の事例では、二特異性抗体は、リンカーをさらに含み得る。一部の事例では、二特異性抗体は、F c ドメインをさらに含み得る。F c ドメインは、例えば、ヒト I g G 1 F c ドメインであり得る。F c ドメインは、ノブーインーホールを含み得る。一部の事例では、二特異性抗体は、リンカーおよび F c ドメインをさらに含み得る。一部の実施形態では、リンカーは、ペプチドリンカーであり得る。ペプチドリンカーの非限定的な例としては、(G S)_n、(G G S)_n、(G G G S)_n、(G G S G)_n、(G G S G G)_n、または(G G G G S)_nが挙げられ得、n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10であり得る。例えば、連結するペプチドは、(G G G G S)₃または(G G G G S)₄であり得る。本明細書に記載されるリンカーを、多特異性抗体のために使用することができる。この実施形態では、多特異性抗体は、2つ以上のリンカーを有し得る。この実施形態では、リンカーは、同じであり得る。あるいは、リンカーは、異なり得る。

10

20

30

40

50

【0200】

抗体分子は、宿主系における、組換え発現、例えば、少なくとも1つまたは複数の構成要素の組換え発現によって生成することができる。例示的な宿主系としては、真核細胞（例えば、哺乳動物細胞、例えば、C H O 細胞、または昆虫細胞、例えば、S F 9 もしくは S 2 細胞）および原核細胞（例えば、E . c o l i）が挙げられる。二特異性抗体分子は、異なる宿主細胞における構成要素の別々の発現、およびその後の精製／アセンブリーによって生成することができる。あるいは、抗体分子は、単一の宿主細胞における構成要素の発現によって生成することができる。二特異性抗体分子の精製は、例えば、プロテイン A および逐次的 p H 溶出を使用する、親和性クロマトグラフィーなどの、さまざまな方法によって行うことができる。他の実施形態では、親和性タグ、例えば、ヒスチジン含有タグ、m y c タグ、またはストレプトアビジンタグを精製のために使用することができる。

【0201】

ある態様では、抗体は、抗体およびプロドラッグのすべてまたは部分を含むコンジュゲート分子の部分であってもよい。「プロドラッグ」という用語は、薬学的に活性な物質の前駆体または誘導体の形態を指す。プロドラッグは、親薬物と比較して、細胞に対する細胞傷害が低くあり得、より活性な細胞傷害性親形態に酵素的に活性化または変換できる。例示的なプロドラッグとしては、限定されるものではないが、ホスフェート含有プロドラッグ、チオホスフェート含有プロドラッグ、サルフェート含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、D - アミノ酸改変プロドラッグ、グリコシル化プロドラッグ、ペーターラクトム含有プロドラッグ、必要に応じて置換されたフェノキシアセトアミド含有プロドラッグおよび必要に応じて置換されたフェニルアセトアミド含有プロドラッグ、5 - フルオロシトシンおよび他の5 - フルオロウリジンプロドラッグが挙げられ得、これらは、より活性な細胞傷害性遊離薬物に変換され得る。プロドラッグ形態に誘導体化され得る細胞傷害性薬物の例としては、限定されるものではないが、上記に記載された細胞傷害剤が挙げられ得る。例えば、米国特許第 6, 7 0 2, 7 0 5 号を参照されたい。

【0202】

一部の態様では、抗 E P O R、抗 C D 1 3 1、または抗 E P O 抗体は、抗原結合ドメインまたは抗原結合断片を含み得る。一部の実施形態では、抗原結合ドメインまたは抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V H)、軽鎖可変領域 (V L)、またはその組合せを含み得る。一部の実施形態では、重鎖可変領域 (V H) は、表 5 に列挙された V H 配列のいずれか 1 つに対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、V H は、表 5 に列挙された V H 配列のいずれか 1 つを含み得る。一部の実施形態では

、V Hは、表7に列挙されたV H配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、V Hは、表7に列挙されたV H配列のいずれか1つを含み得る。一部の実施形態では、V Hは、表9に列挙されたV H配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、V Hは、表9に列挙されたV H配列のいずれか1つを含み得る。

10

【0203】

一部の実施形態では、軽鎖可変領域（V L）は、表5に列挙されたV L配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、V Lは、表5に列挙されたV L配列のいずれか1つを含み得る。一部の実施形態では、V Lは、表7に列挙されたV L配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、V Lは、表7に列挙されたV L配列のいずれか1つを含み得る。一部の実施形態では、V Lは、表9に列挙されたV L配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、V Lは、表9に列挙されたV L配列のいずれか1つを含み得る。

20

30

【0204】

一部の実施形態では、V Hは、V H相補性決定領域1（V H-C D R 1）、V H-C D R 2、またはV H-C D R 3を含み得る。一部の実施形態では、V Hは、V H相補性決定領域1（V H-C D R 1）、V H-C D R 2、およびV H-C D R 3を含み得る。

【0205】

一部の実施形態では、V H-C D R 1は、表14に列挙されたV H-C D R 1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、V H-C D R 1は、配列番号2068~2255のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少な

40

50

くとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR1は、配列番号2068~2255のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、EPO受容体サブユニットに結合する抗EPO R抗体は、表14に列挙されたVH-CDR1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVH-CDR1配列を含み得る。

【0206】

一部の実施形態では、VH-CDR1は、表15に列挙されたVH-CDR1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR1は、配列番号2820~2948のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、EPO受容体サブユニットに結合する抗CD131抗体は、表15に列挙されたVH-CDR1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVH-CDR1配列を含み得る。

【0207】

一部の実施形態では、VH-CDR1は、表16に列挙されたVH-CDR1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR1は、配列番号3336~3471のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、

または少なくとも20%の配列同一性を有するVH-CDR1配列を含み得る。

【0208】

一部の実施形態では、VH-CDR2は、表14におけるVH-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR2は、配列番号2256~2443のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR2は、配列番号2256~2443のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、EPO受容体サブユニットに結合する抗EPOR抗体は、表14に列挙されたVH-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVH-CDR2配列を含み得る。

10

20

【0209】

一部の実施形態では、VH-CDR2は、表15に列挙されたVH-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR2は、配列番号2949~3077のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR2は、配列番号2949~3077のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、EPO受容体サブユニットに結合する抗CD131抗体は、表15に列挙されたVH-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVH-CDR2配列を含み得る。

30

40

【0210】

一部の実施形態では、VH-CDR2は、表16に列挙されたVH-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施

50

形態では、VH-CDR2は、配列番号3472～3607のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR2は、配列番号3472～3607のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットの両方に結合する抗EPOR抗体は、表16に列挙されたVH-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVH-CDR2配列を含み得る。

10

【0211】

一部の実施形態では、VH-CDR3は、表4に列挙されたVH-CDR3配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR3は、配列番号63～250のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、EPO受容体サブユニットに結合する抗EPOR抗体は、表4に列挙されたVH-CDR3配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVH-CDR3配列を含み得る。

20

30

【0212】

一部の実施形態では、VH-CDR3は、表6に列挙されたVH-CDR3配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR3は、配列番号815～943のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのCD131サブユニットに結合する抗CD131抗体は、表6に列挙された

40

50

VH-CDR3配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVH-CDR3配列を含み得る。

【0213】

一部の実施形態では、VH-CDR3は、表8に列挙されたVH-CDR3配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR3は、配列番号1331~1466のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VH-CDR3は、配列番号1331~1466のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットの両方に結合する抗EPOR抗体は、表8に列挙されたVH-CDR3配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVH-CDR3配列を含み得る。

【0214】

一部の実施形態では、VLは、VL相補性決定領域1 (VL-CDR1)、VL-CDR2、またはVL-CDR3を含み得る。一部の実施形態では、VLは、VL相補性決定領域1 (VL-CDR1)、VL-CDR2、およびVL-CDR3を含み得る。

【0215】

一部の実施形態では、VL-CDR1は、表14に列挙されたVL-CDR1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR1は、配列番号2444~2631のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR1は、配列番号2444~2631のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、EPO受容体サブユニットに結合する抗EPOR抗体は、表14に列挙されたVL-CDR1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。

%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVL-CDR1配列を含み得る。

【0216】

一部の実施形態では、VL-CDR1は、表15に列挙されたVL-CDR1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR1は、配列番号3078~3206のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR1は、配列番号3078~3206のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、EPO受容体サブユニットに結合する抗CD131抗体は、表15に列挙されたVL-CDR1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVL-CDR1配列を含み得る。

10

20

【0217】

一部の実施形態では、VL-CDR1は、表16に列挙されたVL-CDR1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR1は、配列番号3608~3743のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR1は、配列番号3608~3743のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットの両方に結合する抗EPOR抗体は、表16に列挙されたVL-CDR1配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVL-CDR1配列を含み得る。

30

40

【0218】

一部の実施形態では、VL-CDR2は、表14におけるVL-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、

50

25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR2は、配列番号2632～2819のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR2は、配列番号2632～2819のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、EPO受容体サブユニットに結合する抗EPO R抗体は、表14に列挙されたVL-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVL-CDR2配列を含み得る。

10

【0219】

一部の実施形態では、VL-CDR2は、表15に列挙されたVL-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR2は、配列番号3207～3335のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR2は、配列番号3207～3335のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、EPO受容体サブユニットに結合する抗CD131抗体は、表15に列挙されたVL-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVL-CDR2配列を含み得る。

20

30

【0220】

一部の実施形態では、VL-CDR2は、表16に列挙されたVL-CDR2配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR2は、配列番号3744～3879のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR2は、配列番号3744～3879のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態で

40

50

は、ヘテロ－E P O RのE P O受容体サブユニットおよびC D 1 3 1サブユニットの両方に結合する抗E P O R抗体は、表 1 6 に列挙されたV L－C D R 2 配列のいずれか1つに対して、少なくとも1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも2 0 %の配列同一性を有するV L－C D R 2 配列を含み得る。

【 0 2 2 1 】

一部の実施形態では、V L－C D R 3 は、表 4 に列挙されたV H－C D R 3 配列のいずれか1つに対して、少なくとも1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも2 0 %の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、V L－C D R 3 は、配列番号 2 5 1～4 3 8 のいずれか1つに対して、少なくとも1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも2 0 %の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、E P O受容体サブユニットに結合する抗E P O R抗体は、表 4 に列挙されたV L－C D R 3 配列のいずれか1つに対して、少なくとも1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも2 0 %の配列同一性を有するV L－C D R 3 配列を含み得る。

【 0 2 2 2 】

一部の実施形態では、V L－C D R 3 は、表 6 に列挙されたV L－C D R 3 配列のいずれか1つに対して、少なくとも1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも2 0 %の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、V L－C D R 3 は、配列番号 9 4 4～1 0 7 2 のいずれか1つに対して、少なくとも1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも2 0 %の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ－E P O RのC D 1 3 1サブユニットに結合する抗C D 1 3 1抗体は、表 6 に列挙されたV L－C D R 3 配列のいずれか1つに対して、少なくとも1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも2 0 %の配列同一性を有するV L－C D R 3 配列を含み得る。

【 0 2 2 3 】

一部の実施形態では、VL-CDR3は、表8に列挙されたVL-CDR3配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR3は、配列番号1467~1602のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含み得る。一部の実施形態では、VL-CDR3は、配列番号1467~1602のいずれか1つの配列を含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットの両方に結合する抗EPOR抗体は、表8に列挙されたVL-CDR3配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVL-CDR3配列を含み得る。

10

20

【0224】

一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットに結合する抗EPOR抗体は、配列番号2068~2255のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含むVH-CDR1、配列番号2256~2443のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含むVH-CDR2、および配列番号63~250のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含むVH-CDR3を含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットに結合する抗EPOR抗体は、配列番号2444~2631のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含むVL-CDR1、配列番号2632~2819のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列

30

40

50

を含む V L - C D R 2、および配列番号 2 5 1 ~ 4 3 8 の配列に対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する配列を含む V L - C D R 3 を含み得る。

【 0 2 2 5 】

一部の実施形態では、抗 C D 1 3 1 抗体は、配列番号 2 8 2 0 ~ 2 9 4 8 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する配列を含む V H - C D R 1、配列番号 2 9 4 9 ~ 3 0 7 7 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する配列を含む V H - C D R 2、および配列番号 8 1 5 ~ 9 4 3 の配列に対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する配列を含む V H - C D R 3 を含み得る。一部の実施形態では、抗 C D 1 3 1 抗体は、配列番号 3 0 7 8 ~ 3 2 0 6 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する配列を含む V L - C D R 1、配列番号 3 2 0 7 ~ 3 3 3 5 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する配列を含む V L - C D R 2、および配列番号 9 4 4 ~ 1 0 7 2 の配列に対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する配列を含む V L - C D R 3 を含み得る。

【 0 2 2 6 】

一部の実施形態では、ヘテロ - E P O R の E P O 受容体サブユニットおよび C D 1 3 1 サブユニットの両方に結合する抗 E P O R 抗体は、配列番号 3 3 3 6 ~ 3 4 7 1 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する配列を含む V H - C D R 1、配列番号 3 4 7 2 ~ 3 6 0 7 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9

10

20

30

40

50

9.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含むVH-CDR2、および配列番号1331~1466のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含むVH-CDR3を含み得る。一部の実施形態では、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットの両方に結合する抗EPOR抗体は、配列番号3608~3743のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含むVL-CDR1、配列番号3744~3879のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含むVL-CDR2、および配列番号1467~1602の配列に対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有する配列を含むVL-CDR3を含み得る。

10

20

30

40

50

【0227】

一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットに結合する抗EPOR抗体は、表5に列挙されたVH配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVHを含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットに結合する抗EPOR抗体は、表5に列挙されたVL配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLを含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットに結合する抗EPOR抗体は、配列番号439~626のいずれか1つのアミノ酸配列を含むVH、および配列番号627~814のいずれか1つのアミノ酸配列を含むVLを含み得る。

【0228】

一部の実施形態では、抗CD131抗体は、表7に列挙されたVH配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%

、 96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVHを含み得る。一部の実施形態では、抗CD131抗体は、表7に列挙されたVL配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLを含み得る。一部の実施形態では、抗CD131抗体は、配列番号1073～1201のいずれか1つのアミノ酸配列を含むVH、および配列番号1202～1330のいずれか1つのアミノ酸配列を含むVLを含み得る。

10

【0229】

一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットの両方に結合する抗EPOR抗体は、表9に列挙されたVH配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVHを含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットの両方に結合する抗EPOR抗体は、表9に列挙されたVL配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLを含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORのEPO受容体サブユニットおよびヘテロ-EPOR EPO受容体サブユニットのCD131サブユニットの両方に結合する抗EPOR抗体は、配列番号1603～1738のいずれか1つのアミノ酸配列を含むVH、および配列番号1739～1874のいずれか1つのアミノ酸配列を含むVLを含み得る。

20

30

【0230】

一部の実施形態では、抗EPOR抗体、抗CD131抗体、または抗EPO抗体は、VH配列およびカップ鎖可変領域(VK)配列を含み得る。一部の実施形態では、抗EPOR抗体、抗CD131抗体、または抗EPO抗体は、VH配列およびラムダ鎖可変領域を含み得る。一部の実施形態では、抗EPOR抗体、抗CD131抗体、または抗EPO抗体は、表10に列挙されたVH配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVH配列を含み得る。一部の実施形態では、抗EPOR抗体、抗CD131抗体、または抗EPO抗体は、配列番号1739～1955のいずれか1つのVH配列を含み得る。例えば、抗EPOR抗体、抗CD131抗体、または抗EPO抗体は、配列番号1739～1955のいずれか1つのVH配列のいずれか1つに対して、少なくとも100%、99.9%、99.8%、99.7%、99.6%、99.5%、99.4%、99.3%、99.2%、99.1%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または少なくとも20%の配列同一性を有するVH配列を含み得る。一部の実施形態では、抗EPOR抗体、抗C

40

50

D 1 3 1 抗体、または抗 E P O 抗体は、表 1 0 に列挙された V K 配列のいずれか 1 つに対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する V K 配列を含み得る。一部の実施形態では、抗 E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体、または抗 E P O 抗体は、配列番号 1 9 5 6 ~ 1 9 7 2 のいずれか 1 つの V K 配列を含み得る。例えば、抗 E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体、または抗 E P O 抗体は、配列番号 1 9 5 6 ~ 1 9 7 2 のいずれか 1 つの V K 配列のいずれか 1 つに対して、少なくとも 1 0 0 %、9 9 . 9 %、9 9 . 8 %、9 9 . 7 %、9 9 . 6 %、9 9 . 5 %、9 9 . 4 %、9 9 . 3 %、9 9 . 2 %、9 9 . 1 %、9 9 %、9 8 %、9 7 %、9 6 %、9 5 %、9 4 %、9 3 %、9 2 %、9 1 %、9 0 %、8 5 %、8 0 %、7 5 %、7 0 %、6 5 %、6 0 %、5 5 %、5 0 %、4 5 %、4 0 %、3 5 %、3 0 %、2 5 %、または少なくとも 2 0 % の配列同一性を有する V K 配列を含み得る。

10

【 0 2 3 1 】

一部の態様では、抗 E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体、または抗 E P O 抗体は、約 1 p M ~ 約 1 0 0 n M、約 2 . 0 ~ 約 5 . 1 n M、約 4 5 n M ~ 約 3 0 0 n M、または約 2 . 0 ~ 約 3 0 0 n M の親和性で、ヘテロ - E P O R またはホモ - E P O R または E P O (それぞれ) に結合し得る。一部の実施形態では、抗 E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体、または抗 E P O 抗体は、少なくとも約 3 0 0 n M、少なくとも約 1 4 0 n M、少なくとも約 1 0 0 n M、少なくとも約 5 . 1 n m、少なくとも約 3 . 8 n M、または少なくとも約 2 . 4 n M の親和性で結合し得る。一部の態様では、結合親和性は、当技術分野において公知の任意の方法を使用して測定することができる。例えば、結合親和性は、表面プラズモン共鳴 (S P R ; B i a c o r e)、K i n e x a バイオセンサー、シンチレーション近接アッセイ、酵素結合免疫吸着検定法 (E L I S A)、O R I G E N イムノアッセイ (I G E N)、蛍光消光、蛍光移動、酵母ディスプレイ、またはその任意の組合せを使用して決定することができる。一部の実施形態では、結合親和性は、好適なバイオアッセイを使用してスクリーニングすることができる。

20

【 0 2 3 2 】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体は、約 6 0 0 n M 未満、約 5 9 0 n M 未満、約 5 8 0 n M 未満、約 5 7 0 n M 未満、約 5 6 0 n M 未満、約 5 5 0 n M 未満、約 5 4 0 n M 未満、約 5 3 0 n M 未満、約 5 2 0 n M 未満、約 5 1 0 n M 未満、約 5 0 0 n M 未満、約 4 9 0 n M 未満、約 4 8 0 n M 未満、約 4 7 0 n M 未満、約 4 6 0 n M 未満、約 4 5 0 n M 未満、約 4 4 0 n M 未満、約 4 3 0 n M 未満、約 4 2 0 n M 未満、約 4 1 0 n M 未満、約 4 0 0 n M 未満、約 3 9 0 n M 未満、約 3 8 0 n M 未満、約 3 7 0 n M 未満、約 3 6 0 n M 未満、約 3 5 0 n M 未満、約 3 4 0 n M 未満、約 3 3 0 n M 未満、約 3 2 0 n M 未満、約 3 1 0 n M 未満、約 3 0 0 n M 未満、約 2 9 0 n M 未満、約 2 8 0 n M 未満、約 2 7 0 n M 未満、約 2 6 0 n M 未満、約 2 5 0 n M 未満、約 2 4 0 n M 未満、約 2 3 0 n M 未満、約 2 2 0 n M 未満、約 2 1 0 n M 未満、約 2 0 0 n M 未満、約 1 9 0 n M 未満、約 1 8 0 n M 未満、約 1 7 0 n M 未満、約 1 6 0 n M 未満、約 1 5 0 n M 未満、約 1 4 0 n M 未満、約 1 3 0 n M 未満、約 1 2 0 n M 未満、約 1 1 0 n M 未満、約 1 0 0 n M 未満、約 9 0 n M 未満、約 8 0 n M 未満、約 7 0 n M 未満、約 5 0 n M 未満、約 5 0 n M 未満、約 4 9 n M 未満、約 4 8 n M 未満、約 4 7 n M 未満、約 4 6 n M 未満、約 4 5 n M 未満、約 4 4 n M 未満、約 4 3 n M 未満、約 4 2 n M 未満、約 4 1 n M 未満、約 4 0 n M 未満、約 3 9 n M 未満、約 3 8 n M 未満、約 3 7 n M 未満、約 3 6 n M 未満、約 3 5 n M 未満、約 3 4 n M 未満、約 3 3 n M 未満、約 3 2 n M 未満、約 3 1 n M 未満、約 3 0 n M 未満、約 2 9 n M 未満、約 2 8 n M 未満、約 2 7 n M 未満、約 2 6 n M 未満、約 2 5 n M 未満、約 2 4 n M 未満、約 2 3 n M 未満、約 2 2 n M 未満、約 2 1 n M 未満、約 2 0 n M 未満、約 1 9 n M 未満、約 1 8 n M 未満、約 1 7 n M 未満、約 1 6 n M 未満、約 1 5 n M 未満、約 1 4 n M 未満、約 1 3 n M 未満

30

40

50

、約12 nM未満、約11 nM未満、約10 nM未満、約9 nM未満、約8 nM未満、約7 nM未満、約6 nM未満、約5 nM未満、約4 nM未満、約3 nM未満、約2 nM未満、約1 nM未満、約990 pM未満、約980 pM未満、約970 pM未満、約960 pM未満、約950 pM未満、約940 pM未満、約930 pM未満、約920 pM未満、約910 pM未満、約900 pM未満、約890 pM未満、約880 pM未満、約870 pM未満、約860 pM未満、約850 pM未満、約840 pM未満、約830 pM未満、約820 pM未満、約810 pM未満、約800 pM未満、約790 pM未満、約780 pM未満、約770 pM未満、約760 pM未満、約750 pM未満、約740 pM未満、約730 pM未満、約720 pM未満、約710 pM未満、約700 pM未満、約690 pM未満、約680 pM未満、約670 pM未満、約660 pM未満、約650 pM未満、約640 pM未満、約630 pM未満、約620 pM未満、約610 pM未満、約600 pM未満、約590 pM未満、約580 pM未満、約570 pM未満、約560 pM未満、約550 pM未満、約540 pM未満、約530 pM未満、約520 pM未満、約510 pM未満、約500 pM未満、約490 pM未満、約480 pM未満、約470 pM未満、約460 pM未満、約450 pM未満、約440 pM未満、約430 pM未満、約420 pM未満、約410 pM未満、約400 pM未満、約390 pM未満、約380 pM未満、約370 pM未満、約360 pM未満、約350 pM未満、約340 pM未満、約330 pM未満、約320 pM未満、約310 pM未満、約300 pM未満、約290 pM未満、約280 pM未満、約270 pM未満、約260 pM未満、約250 pM未満、約240 pM未満、約230 pM未満、約220 pM未満、約210 pM未満、約200 pM未満、約190 pM未満、約180 pM未満、約170 pM未満、約160 pM未満、またはそれらの間の任意の整数の結合親和性を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、150 pM未満、約140 pM未満、約130 pM未満、約120 pM未満、約110 pM未満、約100 pM未満、約95 pM未満、約90 pM未満、約85 pM未満、約80 pM未満、約75 pM未満、約70 pM未満、約65 pM未満、約60 pM未満、約55 pM未満、約50 pM未満、約45 pM未満、約40 pM未満、約35 pM未満、約30 pM未満、約25 pM未満、約20 pM未満、約15 pM未満、約10 pM未満、約9 pM未満、約8 pM未満、約7 pM未満、約6 pM未満、約5 pM未満、約4 pM未満、約3 pM未満、約2 pM未満、約1 pM未満、約0.9 pM未満、約0.8 pM未満、約0.7 pM未満、約0.6 pM未満、約0.5 pM未満、約0.4 pM未満、約0.3 pM未満、約0.2 pM未満、約0.1 pM未満、約0.09 pM未満、約0.08 pM未満、約0.07 pM未満、約0.06 pM未満、約0.05 pM未満、約0.04 pM未満、約0.03 pM未満、約0.02 pM未満、約0.01 pM未満、またはそれらの間の任意の整数の結合親和性を有し得る。

10

20

30

40

50

【0233】

一部の事例では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、または抗CD131抗体は、アンタゴニスト性効果を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体は、EPOと結合し、EPO/EPOR相互作用を阻害または遮断することができる。例えば、抗EPO抗体は、EPOと結合し、EPOをホモEPORまたはヘテロEPORへの結合から阻害することができる。一部の実施形態では、阻害のレベルは、少なくとも約1%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約71%、少なくとも約72%、少なくとも約73%、少なくとも約74%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95

%、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 %、または少なくとも約 100 %である。

【0234】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O R 抗体は、ホモ E P O R またはヘテロ E P O R の E P O R サブユニットと結合し、ホモ E P O R 複合体形成、ヘテロ E P O R 複合体形成、E P O / ホモ E P O R 相互作用、または E P O / ヘテロ E P O R 相互作用を阻害または遮断することができる。例えば、抗 E P O R 抗体は、E P O R サブユニットと結合し、ホモ E P O R またはヘテロ E P O R の形成を阻害することができる。例えば、抗 E P O R 抗体は、ホモ E P O R またはヘテロ E P O R の E P O R サブユニットと結合し、ホモ E P O R またはヘテロ E P O R を E P O への結合から阻害することができる。一部の実施形態では、阻害のレベルは、少なくとも約 1 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 71 %、少なくとも約 72 %、少なくとも約 73 %、少なくとも約 74 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 81 %、少なくとも約 82 %、少なくとも約 83 %、少なくとも約 84 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 86 %、少なくとも約 87 %、少なくとも約 88 %、少なくとも約 89 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 91 %、少なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約 94 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 %、または少なくとも約 100 %である。

10

20

【0235】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 C D 1 3 1 抗体は、C D 1 3 1 と結合し、ヘテロ E P O R 複合体形成または E P O / ヘテロ E P O R 相互作用を阻害または遮断することができる。例えば、抗 C D 1 3 1 抗体は、C D 1 3 1 と結合し、ヘテロ E P O R の形成を阻害することができる。例えば、抗 C D 1 3 1 抗体は、ヘテロ E P O R の C D 1 3 1 サブユニットと結合し、ヘテロ E P O R を E P O への結合から阻害することができる。一部の実施形態では、阻害のレベルは、少なくとも約 1 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 71 %、少なくとも約 72 %、少なくとも約 73 %、少なくとも約 74 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 81 %、少なくとも約 82 %、少なくとも約 83 %、少なくとも約 84 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 86 %、少なくとも約 87 %、少なくとも約 88 %、少なくとも約 89 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 91 %、少なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約 94 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 %、または少なくとも約 100 %である。

30

【0236】

一部の事例では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、または抗 C D 1 3 1 抗体は、アゴニスト性効果を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O 抗体は、E P O と結合し、E P O / E P O R 相互作用を増強または促進することができる。一部の実施形態では、E P O / E P O R 相互作用は、抗 E P O 抗体により、少なくとも約 1 %、少なくとも約 5 %、少なくとも約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 71 %、少なくとも約 72 %、少なくとも約 73 %、少なくとも約 74 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 81 %、少なくとも約 82 %、少なくとも約 83 %、少なく

40

50

とも約 84%、少なくとも約 85%、少なくとも約 86%、少なくとも約 87%、少なくとも約 88%、少なくとも約 89%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または少なくとも約 100% 増強される。

【0237】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 E P O R 抗体は、ホモ－E P O R またはヘテロ－E P O R の E P O R サブユニットと結合し、ホモ－E P O R 複合体形成、ヘテロ－E P O R 複合体形成、E P O / ホモ－E P O R 相互作用、または E P O / ヘテロ－E P O R 相互作用を増強または促進することができる。一部の実施形態では、ホモ－E P O R 複合体形成、ヘテロ－E P O R 複合体形成、E P O / ホモ－E P O R 相互作用、または E P O / ヘテロ－E P O R 相互作用は、抗 E P O R 抗体により、少なくとも約 1%、少なくとも約 5%、少なくとも約 10%、少なくとも約 15%、少なくとも約 20%、少なくとも約 25%、少なくとも約 30%、少なくとも約 35%、少なくとも約 40%、少なくとも約 45%、少なくとも約 50%、少なくとも約 55%、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 71%、少なくとも約 72%、少なくとも約 73%、少なくとも約 74%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 81%、少なくとも約 82%、少なくとも約 83%、少なくとも約 84%、少なくとも約 85%、少なくとも約 86%、少なくとも約 87%、少なくとも約 88%、少なくとも約 89%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または少なくとも約 100% 増強される。

10

20

【0238】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗 C D 1 3 1 抗体は、C D 1 3 1 と結合し、ヘテロ－E P O R 複合体形成または E P O / ヘテロ－E P O R 相互作用を増強または促進することができる。一部の実施形態では、ヘテロ－E P O R 複合体形成または E P O / ヘテロ－E P O R 相互作用は、抗 C D 1 3 1 抗体により、少なくとも約 1%、少なくとも約 5%、少なくとも約 10%、少なくとも約 15%、少なくとも約 20%、少なくとも約 25%、少なくとも約 30%、少なくとも約 35%、少なくとも約 40%、少なくとも約 45%、少なくとも約 50%、少なくとも約 55%、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 71%、少なくとも約 72%、少なくとも約 73%、少なくとも約 74%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 81%、少なくとも約 82%、少なくとも約 83%、少なくとも約 84%、少なくとも約 85%、少なくとも約 86%、少なくとも約 87%、少なくとも約 88%、少なくとも約 89%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または少なくとも約 100% 増強される。

30

【0239】

一部の実施形態では、親和性成熟を、本明細書に開示される抗体とともに使用して、所望の親和性の抗 E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1、または抗 E P O 抗体を得ることができる。抗 E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1、または抗 E P O 抗体が、動物（例えば、ヒト抗体レパートリーを持つトランスジェニック動物）から得られる場合、トランスジェニック動物において作製された抗体は、親和性成熟を受け得る。あるいは、トランスジェニック動物、または他の技術（例えば、ディスプレイ技術）由来の抗体は、鎖シャッフリングアプローチならびに／または V H および V L をコードする核酸の変異を使用して、親和性成熟され、続いて、より高い親和性を有する抗体についてのスクリーニングおよび／または選択が行われ得る。

40

【0240】

50

特異性および親和性を維持しながら、非ヒト抗体の免疫原性を最小化するための最も広く使用されている方法は、典型的には、非ヒトフレームワークに対するそれらの構造相同性のために選択されたヒトフレームワークへの非ヒト抗体のCDRのグラフト化を含み得る（Jones et al., 1986, Nature 321:522-5；米国特許第5, 225, 539号、これらはどちらも、それらの全体が参考として本明細書に組み込まれる）。フレームワーク中の重要な位置の一部の非ヒト残基の包含は、CDRグラフト化抗体の親和性を改善し得る（Bajorath et al., 1995, J Biol Chem 270:22081-4；Martin et al., 1991, Methods Enzymol. 203:121-53；Al-Lazikani, 1997, J Mol Biol 273:927-48、これらはすべて、それらの全体が参考として本明細書に組み込まれる）。CDRグラフト化による抗体のヒト化のための例示的な方法は、例えば、米国特許第6, 180, 370号に開示されており、これは、その全体が参考として本明細書に組み込まれる。

10

【0241】

伝統的なCDRグラフト化アプローチに対する改善は、さまざまなハイブリッド選択アプローチを使用することができ、ここで、非ヒト抗体の部分は、抗原結合のための次に続く選択のラウンドにおいて、相補的ヒト抗体配列のライブラリーと組み合わせられ、その過程で、非ヒト配列のほとんどは、徐々にヒト配列で置き換えられる。例えば、鎖シャッフリング技法（Marks, et al., 1992, Biotechnology 10:779-83、これは、すべての目的のために、その全体が参考として本明細書に組み込まれる）では、非ヒト抗体の1つの鎖は、非ヒト鎖の親和性が、抗原上の同じエピトープに対するヒトパートナーの選択を束縛するのに十分であるという論理的根拠において、他の鎖のナイーブヒトレパートリーと組み合わせることができる。次いで、選択されたヒトパートナーを使用して、残りの非ヒト鎖のためのヒトカウンターパートの選択をガイドすることができる。

20

【0242】

他の方法論としては、非ヒトCDR3が保持され、フレームワークならびにCDR1および2を含むV領域の残りのみが、逐次的に行われるステップにおいて個々に置き換えられた、鎖置き換え技法が挙げられ得る（例えば、米国特許出願第20030166871号；Rader, et al., Proc Natl Acad Sci USA 95:8910-15, 1998；Steinberger, et al., J. Biol. Chem. 275:36073-36078, 2000；Rader, et al., J. Biol. Chem. 275:13668-13676, 2000、これらのすべては、すべての目的のために、それらの全体が参考として本明細書に組み込まれる）。

30

【0243】

これらの技術を使用して、ヒトにおける使用のための抗体を作製するために使用されるCDRグラフト化方法に対する類似のアプローチを使用する、CDRを対象種のフレームワーク領域に操作することによって、非ヒト対象における使用に好適な抗体を作製することができる。

【0244】

本開示は、医薬組成物における、それらの治療的および診断的使用における、ならびにそれらの生成における、正の正味電荷を有するもの、負の正味電荷を有するもの、および電荷を有さないものを含み、限定されないが、化合物として、その断片を含む抗EPO R抗体、抗CD131抗体、または抗EPO R抗体の塩を含む、抗EPO R抗体、抗CD131抗体、または抗EPO R抗体の薬学的に許容される塩を包含する。

40

【0245】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO R抗体、抗EPO R抗体、抗CD131抗体は、ヒト血漿における1分～1時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO R抗体、抗EPO R抗体、抗CD131抗体は、約1分～2分、約1分～約4分、約1分～約5分、約1分～約10分、約1分～約15分、約1分～約20分、約1分～約25分、約1分～約30分、約1分～約35分、約1分～約40分、約1分～約45分、約1分～約50分、約1分～約55分、または約1分～約1時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO R抗体、抗EPO

50

R抗体、抗CD131抗体は、約1分、約2分、約3分、約4分、約5分、約10分、約15分、約20分、約25分、約30分、約35分、約40分、約45分、約50分、約55分、または約1時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、ヒト血漿における1時間～5日の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、約1時間～約120時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、約1時間～約5時間、約1時間～約10時間、約1時間～約12時間、約1時間～約24時間、約1時間～約36時間、約1時間～約48時間、約1時間～約60時間、約1時間～約72時間、約1時間～約84時間、約1時間～約96時間、約1時間～約120時間、約5時間～約10時間、約5時間～約12時間、約5時間～約24時間、約5時間～約36時間、約5時間～約48時間、約5時間～約60時間、約5時間～約72時間、約5時間～約84時間、約5時間～約96時間、約5時間～約120時間、約10時間～約12時間、約10時間～約24時間、約10時間～約36時間、約10時間～約48時間、約10時間～約60時間、約10時間～約72時間、約10時間～約84時間、約10時間～約96時間、約10時間～約120時間、約12時間～約24時間、約12時間～約36時間、約12時間～約48時間、約12時間～約60時間、約12時間～約72時間、約12時間～約84時間、約12時間～約96時間、約12時間～約120時間、約24時間～約36時間、約24時間～約48時間、約24時間～約60時間、約24時間～約72時間、約24時間～約84時間、約24時間～約96時間、約24時間～約120時間、約36時間～約48時間、約36時間～約60時間、約36時間～約72時間、約36時間～約84時間、約36時間～約96時間、約36時間～約120時間、約48時間～約60時間、約48時間～約72時間、約48時間～約84時間、約48時間～約96時間、約48時間～約120時間、約60時間～約72時間、約60時間～約84時間、約60時間～約96時間、約60時間～約120時間、約72時間～約84時間、約72時間～約96時間、約72時間～約120時間、約84時間～約96時間、約84時間～約120時間、または約96時間～約120時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、約1時間、約5時間、約10時間、約12時間、約24時間、約36時間、約48時間、約60時間、約72時間、約84時間、約96時間、または約120時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、少なくとも約1時間、約5時間、約10時間、約12時間、約24時間、約36時間、約48時間、約60時間、約72時間、約84時間、または約96時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、最大で約5時間、約10時間、約12時間、約24時間、約36時間、約48時間、約60時間、約72時間、約84時間、約96時間、または約120時間の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、少なくとも約10日、約11日、約11日、12日、13日、14日、15日、16日、17日、18日、19日、または20日の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、約10日～約11日、約10～約12日、約10日～約13日、約10日～約14日、約10日～約15日、約10日～約16日、約10日～約17日、約10日～約18日、約10日～約19日、または約10日～約20日の半減期を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、約14日～約17日の半減期を有し得る。

【0246】

本開示は、少なくとも2つの抗原に対する特異性を有し得る二特異性または多特異性抗体も包含する。例えば、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体は、別の標的と結合することもできる二特異性抗体として作成され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体

10

20

30

40

50

は、免疫細胞と関連する細胞表面マーカー、免疫細胞と関連するシグナル伝達分子、または腫瘍と関連する抗原と結合することもできる二特異性抗体として作成され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される二特異性抗体は、本明細書に記載される抗EPO、抗EPOR、抗CD131抗体の特異性および／または選択性を増強することができる。例えば、免疫細胞の細胞表面マーカー、およびEPO、ホモEPOR、ヘテロEPORのいずれかと結合することができる二特異性抗体を使用して、免疫細胞においてEPO、ホモEPOR、またはヘテロEPORを標的化することができる。例えば、免疫細胞のシグナル伝達分子、およびEPO、ホモEPOR、ヘテロEPORのいずれかと結合することができる二特異性抗体を使用して、免疫細胞においてEPO、ホモEPOR、またはヘテロEPORを標的化することができる。例えば、腫瘍と関連する抗原、およびEPO、ホモEPOR、ヘテロEPORのいずれかと結合することができる二特異性抗体を使用して、腫瘍またはがん細胞においてEPO、ホモEPOR、またはヘテロEPORを標的化することができる。

10

【0247】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、(i) EPO、ホモEPORまたはヘテロEPORのEPO受容体サブユニット、ヘテロEPORのCD131サブユニット、ホモEPOR、ヘテロEPOR；および(ii) 免疫細胞と関連する細胞表面マーカーと結合することができる。免疫細胞と関連する細胞表面マーカーの例としては、限定されるものではないが、リンパ球抗原75 (DEC205)、X-Cモチーフケモカイン受容体1 (XCR1)、またはX-Cモチーフケモカインリガンド1 (XCL1) が挙げられ得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される二特異性抗体は、免疫細胞を標的化するために、本明細書に記載される抗EPO、抗EPOR、抗CD131抗体の特異性および／または選択性を増強することができる。例えば、免疫細胞と関連する細胞表面マーカー、およびEPO、ホモEPOR、ヘテロEPORのいずれかと結合することができる二特異性抗体を使用して、免疫細胞においてEPO、ホモEPOR、またはヘテロEPORを標的化することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される二特異性抗体は、免疫細胞において、EPO、ホモEPOR、またはヘテロEPORを特異的および／または選択的に標的化し、免疫細胞において、本明細書に記載されるホモEPOR活性またはヘテロEPOR活性を特異的および／または選択的に増加または減少させることができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される二特異性抗体を使用して、免疫細胞における本明細書に記載されるアゴニスト性抗EPO、抗EPOR、抗CD131結合の特異性および／または選択性を増強して、臓器移植（例えば、骨髄、腎臓、心臓、肺、肝臓など）前／後に免疫寛容を促進することができる。一部の実施形態では、免疫細胞は、マクロファージ、樹状細胞、T細胞、ナチュラルキラー細胞、またはB細胞を含み得る。

20

30

【0248】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、(i) EPO、ホモEPORまたはヘテロEPORのEPO受容体サブユニット、ヘテロEPORのCD131サブユニット、ホモEPOR、ヘテロEPOR；および(ii) 免疫細胞と関連するシグナル伝達分子と結合することができる。免疫細胞と関連するシグナル伝達分子の例としては、限定されるものではないが、プログラム細胞死リガンド1 (PD-L1)、T細胞免疫グロブリンおよびムチンドメイン含有3 (Tim3)、または骨髄性細胞において発現されるトリガー受容体2 (TREM2) が挙げられ得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される二特異性抗体は、免疫細胞を標的化するために、本明細書に記載される抗EPO、抗EPOR、抗CD131抗体の特異性および／または選択性を増強することができる。例えば、免疫細胞と関連するシグナル伝達分子、およびEPO、ホモEPOR、ヘテロEPORのいずれかと結合することができる二特異性抗体を使用して、免疫細胞において、EPO、ホモEPOR、またはヘテロEPORを標的化することができ、相乗的抗がん効果を有し得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される二特異性抗体は、免疫細胞において、EPO、ホモEPOR、またはヘテロEPORを特異的および／または選択

40

50

的に標的化し、免疫細胞において、本明細書に記載されるホモ-E P O R 活性またはヘテロ-E P O R 活性を特異的および／または選択的に増加または減少させることができる。例えば、本明細書に記載される二特異性抗体を使用して、免疫細胞において、E P O、ホモ-E P O R、またはヘテロ-E P O R を特異的および／または選択的に標的化し、ヘテロ-E P O R 活性を特異的および／または選択的に増加させて、がんにおける免疫応答を刺激することができる。一部の実施形態では、免疫細胞は、マクロファージ、樹状細胞、T細胞、ナチュラルキラー細胞、またはB細胞を含み得る。

【0249】

一部の実施形態では、二特異性抗体は、(i) E P O、ホモ-E P O R またはヘテロ-E P O R のE P O 受容体サブユニット、ヘテロ-E P O R のC D 1 3 1 サブユニット、ホモ-E P O R、ヘテロE P O R；および(ii) 腫瘍マーカーまたは腫瘍に関連する抗原と結合することができる。腫瘍マーカーまたは腫瘍に関連する抗原の例としては、限定されるものではないが、P D 1、H E R 2、C E A、C E A C A M 5、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、前立腺特異抗原(P S A)、C D 1 2 3、C L L-1、B細胞成熟抗原、C D 1 3 8、C D 1 3 3 (P R O M 1)、C D 4 4、A L D H 1 A 1、C D 3 4、C D 2 4、E p C A M (E S A)、C D 1 1 7 (K I T)、C D 9 0 (T H Y 1)、C D 1 6 6 (A L C A M)、P D X L-1、P T C H、C D 8 7 (P L A U R)、S S E A-1、E G F R、S P、A L D H、C D 4 9、C D 3 2 6、L G R 5、A L D H 1 A、L E T M 1、N A N O G、P O U 5 F 1、S A L L 4、S O X 2、L I N G O 2、A F P、N O T C H 1、N O T C H 2、N O T C H 3、C T N N B L 1、C D 2 9、C D 2 5、C D 6 1、P R O C R、T S P A N 8、B M I 1、F O X O 1、F O X O 3、F O X O 4、C D 1 5 (F U T 4)、C H L 1、K L F 4、N E S、T A C S T D 2、T G M 2、C D 3 6、I L 1 R A P、G L I 2、T E T 2、D N M T 3 A、K R A S、L D H B、L D H C、L D H D、N P M 1、C D 3 3、C D 4 9 f、C D 1 7 1、A B C G 2、F Z D、C X C R 4、O C T 4、A L D H、E-カドヘリン、C D 2 0 0、A B C B 5、ビメンチン、C D 1 4 6、C D 3 1、C D 1 4 4、またはC D 2 0 1 (P R O C R) が挙げられ得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される二特異性抗体は、腫瘍を標的化するために、本明細書に記載される抗E P O、抗E P O R、抗C D 1 3 1 抗体の特異性および／または選択性を増強することができる。例えば、腫瘍関連抗原、およびE P O、ホモ-E P O R、ヘテロ-E P O R のいずれかと結合することができる二特異性抗体を使用して、がんまたは腫瘍細胞において、E P O、ホモ-E P O R、またはヘテロ-E P O R を標的化することができる。一部の実施形態では、腫瘍関連抗原は、がんもしくは腫瘍細胞上(例えば、細胞膜上)にあり得るか、またはがんもしくは腫瘍細胞によって分泌され得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される二特異性抗体は、がんまたは腫瘍細胞において、E P O、ホモ-E P O R、またはヘテロ-E P O R を特異的および／または選択的に標的化し、がんまたは腫瘍細胞において、本明細書に記載されるホモ-E P O R 活性またはヘテロ-E P O R 活性を特異的および／または選択的に増加または減少させることができる。

【0250】

本開示は、本明細書に記載される抗体またはその機能的断片の組合せまたは集団を含む組成物も包含する。例えば、組成物は、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、またはそれよりも多くの異なる抗体またはその機能的断片を含み得る。一実施形態では、組成物は、本明細書に記載される1つの抗体またはその機能的断片を含み得る。別の実施形態では、組成物は、2つの異なる抗体またはその機能的断片を含む抗体または機能的断片の組合せまたは集団を含み得る。別の実施形態では、組成物は、3つの異なる抗体またはその機能的断片を含む抗体またはその機能的断片の組合せまたは集団を含み得る。さらに別の実施形態では、組成物は、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、または10よりも多くの異なる抗体またはその機能的断片を含む抗体またはその機能的断片の組合せまたは集団を含み得る。一部の実施形態では、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、またはそれよりも多くの異なる抗体またはその機能的断片のそれぞれは、同じ標的(例えば、E P O タンパク質、E P O 受容体サブユ

ニット、またはCD131サブユニットなど）に結合することができる。一部の実施形態では、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、またはそれよりも多くの異なる抗体またはその機能的断片のそれぞれは、同じ標的（例えば、EPOタンパク質、EPO受容体サブユニット、またはCD131サブユニットなど）の異なる部分に結合することができる。一部の実施形態では、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、またはそれよりも多くの異なる抗体またはその機能的断片のそれぞれは、異なる標的（例えば、EPOタンパク質、EPO受容体サブユニット、またはCD131サブユニット、またはその組合せ）に結合することができる。一部の実施形態では、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、またはそれよりも多くの異なる抗体またはその機能的断片の少なくとも2つは、同じ標的（例えば、EPOタンパク質、EPO受容体サブユニット、またはCD131サブユニットなど）に結合することができ、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、またはそれよりも多くの抗体またはその機能的断片の少なくとも2つは、異なる標的（例えば、EPOタンパク質、EPO受容体サブユニット、CD131サブユニット、またはその組合せ）に結合することができる。一部の実施形態では、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、またはそれよりも多くの異なる抗体またはその機能的断片の少なくとも2つは、同じ標的（例えば、EPOタンパク質、EPO受容体サブユニット、またはCD131サブユニットなど）に結合することができ、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、またはそれよりも多くの異なる抗体またはその機能的断片の少なくとも2つのそれぞれは、同じ標的の異なる部分に結合することができ、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10、またはそれよりも多くの異なる抗体またはその機能的断片の少なくとも2つは、異なる標的（例えば、EPOタンパク質、EPO受容体サブユニット、CD131サブユニット、またはその組合せ）に結合することができる。

10

20

30

40

50

【0251】

抗体およびアナログの改変

本明細書に記載される抗体およびアナログは、それらの活性、結合、特異性、選択性、または別の特徴を増強することができる1つまたは複数の改変を有し得る。一部の態様では、抗EPO抗体、および／または抗CD131抗体、および／または抗EPO抗体、および／またはEPOアナログ、および／または操作されたEPOは、抗体もしくはアナログの半減期（ $T_{1/2}$ ）または／および作用の期間を延長する部分を含み得る。一部の実施形態では、部分は、抗体またはアナログの循環 $T_{1/2}$ 、血中 $T_{1/2}$ 、血漿 $T_{1/2}$ 、血清 $T_{1/2}$ 、終末 $T_{1/2}$ 、生物学的 $T_{1/2}$ 、排出 $T_{1/2}$ もしくは機能的 $T_{1/2}$ 、またはその任意の組合せを延長することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはアナログのFc部分を改変して、抗体の半減期を延長することができる。

【0252】

一態様では、抗EPO抗体および／または抗CD131抗体および／または抗EPO抗体および／またはEPOアナログおよび／または操作されたEPOは、単一の部分によって改変され得る。別の態様では、抗EPO抗体および／または抗CD131抗体および／または抗EPO抗体および／またはEPOアナログおよび／または操作されたEPOは、2つもしくはそれよりも多くの実質的に類似もしくは同一の部分、または同じ種類の2つもしくはそれよりも多くの部分によって改変され得る。一部の実施形態では、抗EPO抗体および／または抗CD131抗体および／または抗EPO抗体および／またはEPOアナログおよび／または操作されたEPOは、異なる種類の2つもしくはそれよりも多くの部分、または2つもしくはそれよりも多くの異なる種類の部分を含み得る。一部の実施形態では、2つまたはそれよりも多くの抗EPO抗体および／または抗CD131抗体および／または抗EPO抗体および／またはEPOアナログおよび／または操作されたEPOは、1つの部分に付着することもできる。一部の実施形態では、抗EPO抗体および／または抗CD131抗体および／または抗EPO抗体および／またはEPOアナ

ログおよび／または操作された E P O と部分との間の付着は、共有結合性または非共有結合性であり得る。

【0253】

一部の態様では、ポリペプチド部分は、必要に応じて、リンカーを介して、抗 E P O R 抗体および／または抗 C D 1 3 1 抗体および／または抗 E P O 抗体および／または E P O アナログおよび／または操作された E P O の重鎖または軽鎖の N 末端または C 末端に組換え的に融合され得る。一部の実施形態では、リンカーは、約 4 ～ 3 0 アミノ酸残基を含み得る。例えば、リンカーは、約 6 または 8 アミノ酸残基～約 2 0 アミノ酸残基、または約 6 もしくは 8 アミノ酸残基～約 1 5 アミノ酸残基を含み得る。

【0254】

一部の態様では、長引かせる部分は、新生児 F c 受容体 (F c R n) と結合するヒト血清アルブミン (H S A) またはその一部分 (例えば、ドメイン I I I) であり得る。H S A またはその F c R n 結合部分は、必要に応じて、有益な性質または効果を付与する 1 つまたは複数の変異を有し得る。一部の実施形態では、H S A またはその F c R n 結合部分は、F c R n への p H 依存性 H S A 結合を増強することができるか、または／および H S A 半減期を増加させることができる 1 つまたは複数の変異、例えば、K 5 7 3 P または／および E 5 0 5 G / V 5 4 7 A を含み得る。一部の実施形態では、長引かせる部分は、非構造化ポリペプチドであり得る。

【0255】

一部の態様では、長引かせる部分は、ヒト絨毛性ゴナドトロピン (h C G) の β - サブユニットに由来するカルボキシ末端ペプチド (C T P) であり得る。ヒト体内で、h C G - β の 3 4 - a a C T P の 4 番目、5 番目、7 番目および 8 番目のセリン残基は、典型的には、シアル酸残基で終端する O - グリカンに付着する。

【0256】

一部の態様では、長引かせる部分は、合成ポリマーの 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、またはそれよりも多くの部分であり得る。一部の実施形態では、合成ポリマーは、生分解性または非生分解性であり得る。長引かせる部分として有用な生分解性ポリマーとしては、限定されるものではないが、ポリ (2 - メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン) (P M P C) およびポリ [オリゴ (エチレングリコール) メチルエーテルメタクリレート] (P O E G M A) が挙げられ得る。長引かせる部分として有用な非生分解性ポリマーとしては、限定されないが、ポリ (エチレングリコール) (P E G) 、ポリグリセロール、ポリ (N - (2 - ヒドロキシプロピル) メタクリルアミド) (P H P M A) 、ポリオキサゾリンおよびポリ (N - ビニルピロリドン) (P V P) が挙げられる。一部の実施形態では、合成ポリマーは、ポリエチレングリコール (P E G) であり得る。P E G 化は、化学的もしくは酵素的な部位特異的カップリングによって、またはランダムカップリングによって行うことができる。

【0257】

一部の実施形態では、1 つまたは複数の合成ポリマー部分の個々の質量 (例えば、平均分子量) または総質量は、約 1 0 ～ 5 0 k D a 、約 1 0 ～ 2 0 k D a 、約 2 0 ～ 3 0 k D a 、約 3 0 ～ 4 0 k D a 、または 4 0 ～ 5 0 k D a であり得る。一部の実施形態では、1 つまたは複数の合成ポリマー部分の個々の質量 (例えば、平均分子量) または総質量は、約 1 0 k D a 、約 2 0 k D a 、約 3 0 k D a 、約 4 0 k D a 、または 5 0 k D a であり得る。一部の実施形態では、1 つまたは複数の合成ポリマー部分の個々の質量 (例えば、平均 MW) または総質量は、約 5 0 k D a よりも高く、例えば、約 5 0 ～ 1 0 0 k D a 、約 5 0 ～ 6 0 k D a 、約 6 0 ～ 7 0 k D a 、約 7 0 ～ 8 0 k D a 、約 8 0 ～ 9 0 k D a 、または約 9 0 ～ 1 0 0 k D a であり得る。一部の実施形態では、1 つまたは複数の合成ポリマー部分の個々の質量 (例えば、平均分子量) または総質量は、約 6 0 k D a 、約 7 0 k D a 、約 8 0 k D a 、約 9 0 k D a 、または約 1 0 0 k D a であり得る。一部の実施形態では、個々の合成ポリマー部分の質量 (例えば、平均 MW) は、約 1 0 k D a 未満、例えば、約 1 ～ 5 k D a 、約 5 ～ 1 0 k D a 、または約 5 k D a であり得る。一部の実施形態

10

20

30

40

50

では、1つまたは複数の合成ポリマー（例えば、PEG）部分の個々の質量（例えば、平均MW）または総質量は、約20kDaまたは約40kDaであり得る。

【0258】

一部の態様では、改変抗体は、ヒト改変抗体を含み得る。一部の態様では、改変抗体のアミノ酸配列バリエーションも本明細書に提供され、これは、改変抗体のDNA配列に適切なヌクレオチド変化を導入することによって、または所望の改変抗体ポリペプチドの合成によって、調製することができる。一部の実施形態では、そのようなバリエーションとしては、例えば、抗体のアミノ酸配列内の1つまたは複数の残基の欠失、挿入、または置換が挙げられ得る。一部の実施形態では、欠失、挿入、および置換の任意の組合せを行って、所望の抗原結合特性を有し得る抗体を作成することができる。改変抗体のアミノ酸変化は、限定されるものではないが、グリコシル化部位の数または位置の変化を含む、改変抗体の翻訳後プロセスを変更することもできる。一部の実施形態では、アラニンスキャニング変異誘発を使用して、変異誘発のための好ましい場所であり得る改変抗体の1つまたは複数の残基または領域を特定することができる。一部の実施形態では、標的残基の残基または群が、特定され得（例えば、荷電残基、例えば、Arg、Asp、His、Lys、およびGlu）、中性または負に荷電したアミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）によって置き換えて、細胞内または外の周囲の水性環境とのアミノ酸の相互作用に影響を及ぼすことができる。一部の実施形態では、アミノ酸置換に対する機能的感受性を実証する1つまたは複数のドメインは、さらなるアミノ酸置換または他の置換を導入することによって精緻化することができる。一部の実施形態では、アミノ酸置換は、改変抗体の非機能的領域における1つまたは複数の保存的アミノ酸置き換えを含み得る。

10

20

【0259】

一部の態様では、本明細書に記載される抗体またはアナログの改変は、共有結合性改変であり得る。一部の実施形態では、共有結合性改変は、抗体またはその機能的断片の標的化された1つまたは複数のアミノ酸残基を、選択された側鎖またはNもしくはC末端残基と反応することが可能であり得る有機誘導体化剤と反応させることによって導入され得る。一部の実施形態では、共有結合性改変は、抗体またはアナログのネイティブグリコシル化パターンを変更することによって導入され得る。例えば、1つまたは複数の炭水化物部分を、抗体またはアナログから欠失させることができる。例えば、抗体またはアナログに存在しない1つまたは複数のグリコシル化部位を付加することができる。一部の実施形態では、抗体またはアナログへのグリコシル化部位の付加は、アミノ酸配列が1つまたは複数のN連結グリコシル化部位を含有するように、それを変更することによって達成され得る。一部の実施形態では、抗体またはアナログへのグリコシル化部位の付加は、抗体またはアナログの1つまたは複数のセリンまたはトレオニン残基を付加または置換することによって達成され得る（O連結グリコシル化部位について）。一部の実施形態では、抗体またはアナログ上の炭水化物部分の数は、抗体またはアナログへのグリコシドの化学的または酵素的カップリングによって増加し得る。一部の実施形態では、抗体またはアナログ上に存在する炭水化物部分は、化学的または酵素的に除去することができる。一部の実施形態では、非タンパク質性ポリマー（例えば、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、またはポリオキシアルキレン）の1つまたは複数は、抗体またはアナログに共有結合的に付加され得る。

30

40

【0260】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、それらのC末端で、任意の抗体アイソタイプ、例えば、IgG、IgA、IgE、IgD、もしくはIgM、またはアイソタイプサブタイプのいずれか、例えば、IgG1、IgG2b、IgG2a、IgG3、もしくはIgG4に由来する免疫グロブリン重鎖のすべてまたは部分に付着することができる。一部の実施形態では、抗体、アナログ、またはその機能的断片は、グリコシル化され得る。一部の実施形態では、可変ドメインフレームワーク残基でのグリコシル化は、抗体と抗原の結合相互作用を変更することができる。一部の実施形態では、抗体、アナログ、またはその機能的断片は、ポリエチレングリコール（PEG）を付加することによって

50

改変することができる。一部の実施形態では、PEGの付加は、改善された循環時間、改善された溶解度、タンパク質分解に対する改善された抵抗性、低減された抗原性および免疫原性、改善された生物学的利用率、低減された毒性、改善された安定性、ならびに／またはより容易な製剤化の1つまたは複数をもたらし得る。一部の実施形態では、抗体、アナログ、またはその機能的断片を親和性タグ（例えば、精製タグ）にコンジュゲートすることができ、またはそれで組換え的に操作することができる。

【0261】

RNAiおよび小分子

EPO、EPOR、および／またはCD131の発現または活性を低減するRNAiおよび小分子を使用して、ある特定の腫瘍における腫瘍抑制微小環境を克服することができる。RNAiとしては、例えば、siRNA、miRNA、アンチセンスRNA、lncRNAなどが挙げられる。

10

【0262】

RNA干渉は、多くの真核生物にわたって保存されている翻訳後遺伝子調節の方法である。RNAiは、細胞に存在する短い（すなわち、<30ヌクレオチド）二本鎖RNA（「dsRNA」）分子によって誘導され得る。「低分子干渉RNA」または「siRNA」と呼ばれるこれらの短いdsRNA分子は、siRNAと配列相同性を共有する標的RNAの破壊を引き起こす。siRNAおよび標的化されたRNAが、「RNA誘導サイレンシング複合体」または「RISC」に結合し、これが、標的化されたRNAを切断すると考えられる。siRNAは、およそ1000の標的RNA分子の開裂を誘導することができる単一のsiRNA分子を有する多重代謝回転酵素とほとんど同様に再利用され得る。

20

【0263】

ある態様では、本開示は、EPO（エリスロポエチン）、EPOR（エリスロポエチン受容体）および／またはCD131の発現を阻害するための調節性RNAに関する。

【0264】

本明細書に記載される調節性RNA（例えば、siRNA）は、EPO mRNAを標的化して、EPO mRNAの半減期および／または機能を低減することができる。調節性RNA（例えば、siRNA）は、EPO mRNAのエクソンおよびUTRを標的化することができる。ヒトEPOのcDNA配列（NCBI参照配列：NM_000799.4）は、

30

40

50

【化 1】

```

1  cctttcccag atagcacgct cgcgcagtcc caaggggtgcg caaccggctg cactcccctc
61  ccgcgaccca gggcccggga gcagcccca tgacccacac gcacgtctgc agcagccccg
121 ctcacgcccc ggcgagcctc aaccagggcg tcctgcccct gctctgacct cgggtggccc
181 ctacccttgg cgaccctca cgcacacagc ctctcccca ccccccaccg cgcacgcaca
241 catgcagata acagccccga cccccggcca gagccgcaga gtccctgggg caccceggcc
301 gctcgctgcg ctgcgcgcga ccgcgctgtc ctcccggagc cggaccgggg ccaccgcgcc
361 cgctctgctc cgacaccgcg ccccttgga agccgccctc tcctccaggc ccgtggggct
421 ggccctgcac cgccgagctt cccgggatga gggcccccgg tgtggtcacc cggcgcgccc
481 caggtcgctg agggaccccc gccaggcgcg gagatggggg tgcacgaatg tcctgcctgg
541 ctgtggcttc tcctgtccct gctgtcgctc cctctgggac tcccagtcct gggcgcccca
601 ccacgcctca tctgtgacag ccgagtcctg gagaggtacc tcttgagggc caaggaggcc
661 gagaatatca cgacgggctg tgtgaacac tgcagcttga atgagaatat cactgtccca
721 gacaccaaag ttaatttcta tgcctggaag aggatggagg tcgggcagca ggccgtagaa
781 gtctggcagg gcctggccct gctgtcgga gctgtcctgc ggggccaggc cctgttggtc
841 aactcttccc agccgtggga gcccctgcag ctgcatgtgg ataaagccgt cagtggcctt
901 cgcagcctca ccactctgct tcgggctctg ggagcccaga aggaagccat ctcccctcca
961 gatgcggcct cagctgctcc actccgaaca atcactgctg acactttccg caaactcttc
1021 cgagtctact ccaatttctt cccgggaaag ctgaagctgt acacagggga ggccctgcagg
1081 acaggggaca gatgaccagg tgtgtccacc tgggcatatc caccacctcc ctcaccaaca
1141 ttgcttgtgc cacaccctcc cccgccactc ctgaaccccg tcgaggggct ctgagctcag
1201 cgccagcctg tcccatggac actccagtgc cagcaatgac atctcagggg ccagaggaac
1261 tgtccagaga gcaactctga gatctaagga tgtcacaggg ccaacttgag ggcccagagc
1321 aggaagcatt cagagagcag ctttaaactc agggacagag ccatgctggg aagacgcctg
1381 agctcactcg gcaccctgca aaatttgatg ccaggacacg ctttgagggc gatttacctg
1441 ttttcgcacc taccatcagg gacaggatga cctggataac ttaggtggca agctgtgact
1501 tctccaggtc tcacgggcat gggcactccc ttggtggcaa gagccccctt gacaccgggg
1561 tgggtgggaac catgaagaca ggatgggggc tggcctctgg ctctcatggg gtccaagttt
1621 tgtgtattct tcaacctcat tgacaagaac tgaaaccacc aa (配列番号 3)

```

である。

【0265】

EPOをコードするmRNAを標的化するRNAiをコードする例示的な核酸としては、配列（これらの配列は、mRNAではTの代わりにUを有する）： 30

【化 2】

CTTGAATGAGAATATCACTGTCCCA (配列番号 4)
 GCAGCTTGAATGAGAATATCACTGT (配列番号 5)
 GCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGC (配列番号 6)
 CCGAACAATCACTGCTGACACTTTC (配列番号 7)
 CTTTCCGCAAACCTCTTCCGAGTCTA (配列番号 8)
 AAACCTCTTCCGAGTCTACTCCAATT (配列番号 9)
 GAGAGCAACTCTGAGATCTAAGGAT (配列番号 10)
 AGAGCAACTCTGAGATCTAAGGATG (配列番号 11)
 GAGCAACTCTGAGATCTAAGGATGT (配列番号 12)
 CAGGAAGCATTTCAGAGAGCAGCTTT (配列番号 13)
 AGGAAGCATTTCAGAGAGCAGCTTTA (配列番号 14)
 GAAGCATTTCAGAGAGCAGCTTTAAA (配列番号 15)
 GAGAGCAGCTTTAACTCAGGGACA (配列番号 16)
 CAGGACACGCTTTGGAGGCGATTTA (配列番号 17)
 CATCAGGGACAGGATGACCTGGATA (配列番号 18)
 GGGACAGGATGACCTGGATAACTTA (配列番号 19)

10

20

を標的化する s i R N A が挙げられる。

【0 2 6 6】

本明細書に記載される調節性 RNA (例えば、s i R N A) は、E P O R m R N A を
 標的化して、E P O R m R N A の半減期および／または機能を低減することができる。
 調節性 RNA (例えば、s i R N A) は、E P O R m R N A のエクソンおよび U T R を
 標的化することができる。ヒト E P O R の c D N A 配列 (N C B I 参照配列: N M _ 0 0
 0 1 2 1 . 4) は、

30

40

50

【化 3】

1	ggtcagctgc	gtccggcgga	ggcagctgct	gacccagctg	tggactgtgc	cgggggcggg	
61	ggacggaggg	gcaggagccc	tgggctcccc	gtggcggggg	ctgtatcatg	gaccacctcg	
121	gggcgtccct	ctggccccag	gtcggctccc	tttgtctcct	gctcgctggg	gccgcctggg	
181	cgcccccgcc	taacctcccg	gaccccaagt	tcgagagcaa	agcggccttg	ctggcgggcc	
241	gggggccccga	agagcttctg	tgcttcaccg	agcggttgga	ggacttggtg	tgtttctggg	
301	aggaagcggc	gagcgctggg	gtgggcccgg	gcaactacag	cttctcctac	cagctcgagg	
361	atgagccatg	gaagctgtgt	cgctgcacc	aggctcccac	ggctcgtggt	gcggtgcgct	
421	tctggtgttc	gctgcctaca	gccgacacgt	cgagcttcgt	gcccctagag	ttgcgcgtca	
481	cagcagcctc	cggcgctccg	cgatatcacc	gtgtcatcca	catcaatgaa	gtagtgtctc	
541	tagacgcccc	cgtggggctg	gtggcgcggt	tggctgacga	gagcggccac	gtagtgttgc	10
601	gctggctccc	gccgcctgag	acacccatga	cgtctcacat	ccgctacgag	gtggacgtct	
661	cggccggcaa	cggcgaggg	agcgtacaga	gggtggagat	cctggagggc	cgcaccgagt	
721	gtgtgctgag	caacctgcgg	ggccggacgc	gctacacctt	cgcgctccgc	gcgcgtatgg	
781	ctgagccgag	cttcggcggc	ttctggagcg	cctggctcga	gcctgtgtcg	ctgctgacgc	
841	ctagcgacct	ggacccccct	atcctgacgc	tctccctcat	cctcgtggtc	atcctggtgc	
901	tgctgaccgt	gctcgcgctg	ctctcccacc	gccgggctct	gaagcagaag	atctggcctg	
961	gcaccccgag	cccagagagc	gagtttgaag	gcctcttcac	caccacacaag	ggtaacttcc	
1021	agctgtggct	gtaccagaat	gatggctgcc	tgtggtggag	cccctgcacc	cccttcacgg	
1081	aggaccacc	tgcttccctg	gaagtcctct	cagagcgctg	ctgggggacg	atgcaggcag	
1141	tggagccggg	gacagatgat	gagggccccc	tgctggagcc	agtgggcagt	gagcatgccc	
1201	aggataccta	tctggtgctg	gacaaatggt	tgctgccccg	gaacccgccc	agtgaggacc	
1261	tcccagggcc	tggtggcagt	gtggacatag	tggccatgga	tgaaggctca	gaagcatcct	20

【化 4】

1321	cctgctcatc	tgttttggcc	tcgaagccca	gcccagaggg	agcctctgct	gccagctttg	
1381	agtacactat	cctggacccc	agctcccagc	tcttgctcc	atggacactg	tgccctgagc	
1441	tgccccctac	cccacccacc	ctaaagtacc	tgtaccttgt	ggtatctgac	tctggcatct	
1501	caactgacta	cagctcaggg	gactcccagg	gagcccaagg	gggcttatcc	gatggcccct	
1561	actccaaccc	ttatgagaac	agccttatcc	cagccgctga	gcctctgccc	cccagctatg	
1621	tggcttgctc	ttaggacacc	aggctgcaga	tgatcaggga	tccaatatga	ctcagagaac	
1681	cagtgcagac	tcaagactta	tggaaacagg	atggcgaggc	ctctctcagg	agcaggggca	
1741	ttgctgattt	tgtctgcccc	atccatcctg	ctcaggaaac	cacaaccttg	cagtattttt	
1801	aaatatgtat	agtttttttt	tgtatctata	tatatatata	cacatatgta	tgtaaagttt	30
1861	tctaccatga	tttctacaaa	caccttttaa	gtcccatctt	cccctgggca	taggcatag	
1921	ggatagaagt	taaagtctct	gagcttatcc	agaagctgga	tctgcaatct	gaatgctact	
1981	cataacataa	caaaatagta	tgttaaacag	ctcttaaata	ttactggctt	accacattaa	
2041	atgattttct	tctcctaact	cagctcaaat	gggcagccat	ccatgggatg	agtcagagg	
2101	tcagactctt	ccagtctgta	gctctacctt	ctcttaggg	acttagatgg	atccccgtt	
2161	ctacaaactg	ccagtcagca	agggaaagaa	aagggcagca	atgacctca	atggggccatt	
2221	tgagggatct	ggcctggaaa	tgggcttcct	ctcttcttct	cacacctcac	tggctggaaa	
2281	cagtcacatg	acccagtcac	catgaaaggc	caggaaactt	agtttagctg	tacaccagg	
2341	aagggcaaag	ctgtttaagg	gccactagct	agtctctgcc	actaataata	ataaaaagtaa	
2401	ttctgaatca	g	(配列番号 20)				

40

である。

【0267】

E P O R をコードする mRNA を標的化する RNA i をコードする例示的な核酸としては、以下の配列（これらの配列は、mRNA では、T の代わりに U であり得る）：

【化 5】

CACCGAGCGGTTGGAGGACTTGGTG (配列番号 21)
 CGAGGATGAGCCATGGAAGCTGTGT (配列番号 22)
 ATGGAAGCTGTGTCGCCTGCACCAG (配列番号 23)
 CACCAGGCTCCCACGGCTCGTGGTG (配列番号 24)
 ATATCACCGTGTGCATCCACATCAAT (配列番号 25)
 ACATCAATGAAGTAGTGCTCCTAGA (配列番号 26)
 ATCAATGAAGTAGTGCTCCTAGACG (配列番号 27)
 CGTGGGGGCTGGTGGCGCGGTTGGCT (配列番号 28)
 CTGGAGGGCCGCACCGAGTGTGTGC (配列番号 29)
 ACCACCCACAAGGGTAACTTCCAGC (配列番号 30)
 CAGAATGATGGCTGCCTGTGGTGGA (配列番号 31)
 AGCGCTGCTGGGGGACGATGCAGGC (配列番号 32)
 GAGGGAGCCTCTGCTGCCAGCTTTG (配列番号 33)
 CCTGTACCTTGTGGTATCTGACTCT (配列番号 34)
 ATCTGACTCTGGCATCTCAACTGAC (配列番号 35)
 TCTGGCATCTCAACTGACTACAGCT (配列番号 36)
 CAGGGGACTCCCAGGGAGCCCAAGG (配列番号 37)
 AGCCTCTGCCCCCAGCTATGTGGC (配列番号 38)
 CTCAAGACTTATGGAACAGGGATGG (配列番号 39)
 CTTACTGGCTTACCACATTAAATGA (配列番号 40)

10

20

30

で標的化される *s i R N A* が挙げられる。

【0268】

本明細書に記載される調節性RNA（例えば、*s i R N A*）は、*C D 1 3 1 m R N A* を標的化して、*C D 1 3 1 m R N A* の半減期および／または機能を低減することができる。調節性RNA（例えば、*s i R N A*）は、*C D 1 3 1 m R N A* のエクソンおよびUTRを標的化することができる。*C D 1 3 1* のcDNA配列（NCBI参照配列：NM_000395.3）は、

40

50

【化 6】

```

1  actctgccta gaggctccag aagaagactg gtctctccca ccacacagag gcctggagga
61  ggcagagggc aggagggaga ggtcccaaga gcctgtgaaa tgggtctggc ctggctccca
121 gctgggcagg aacacaggac ttcaggacac taaggaccct gtcattgcca tggccagcac
181 ccaccagtgc tgggtcctgc ctgtccagag ctgaccaggg agatgggtgt ggcccagggg
241 ctgctctcca tggccctgtc ggccctgtgc tgggagcgca gcctggcagg ggcagaagaa
301 accatcccgc tgcagaccct gcgctgtctc aacgactaca ccagccacat cacctgcagg
361 tgggcagaca ccaggatgc ccagcggtc gtcaacgtga ccctcattcg ccgggtgaat
421 gaggacctcc tggagccagt gtcctgtgac ctgagtgtg acatgccctg gtcagcctgc
481 ccccatcccc gctgcgtgcc caggagatgt gtcattccct gccagagttt tgtcgtcact
541 gacgttgact acttctcatt ccaaccagac aggcctctgg gcacccggct caccgtcact
601 ctgaccagc atgtccagcc tccctgagccc agggacctgc agatcagcac cgaccaggac
661 cacttcctgc tgacctggag tgtggccctt gggagtcccc agagccactg gttgtcccca
721 ggggatctgg agtttgagg ggtctacaag cggcttcagg actcttggga ggacgcagcc
781 atcctcctct ccaacacctc ccaggccacc ctggggccag agcacctcat gcccagcagc
841 acctacgtgg cccgagtacg gaccgcctg gcccaggtt ctgggtctc aggacgtccc
901 agcaagtgga gccagaggt ttgctgggac tcccagccag gggatgaggc ccagcccag
961 aacctggagt gcttctttga cggggccgccc gtgctcagct gtcctggga ggtgaggaa
1021 gagggtggcca gctcgggtctc ctttggccta ttctacaagc ccagcccaga tgcaggggag
1081 gaagagtgtc cccagtgctc gaggggaggg ctggcagcc tccacaccag gcaccactgc
1141 cagattcccg tgcccgacc cgcgaccac ggccaatata tegtctctgt tcagccaagg
1201 agggcagaga aacacataaa gagctcagtg aacatccaga tggccctcc atccctcaac
1261 gtgaccaagg atggagacag ctacagcctg cgctgggaaa caatgaaaat gcgatacgaa
1321 cacatagacc acacatttga gatccagtac aggaaagaca cggccacgtg gaaggacagc
1381 aagaccgaga cctccagaa cggccacagc atggccctgc cagccctgga gccctccacc
1441 aggtactggg ccagggtgag ggtcaggacc tccgcaccg gctacaacgg gatctggagc
1501 gagtggagtg aggcgcgtc ctgggacacc gagtgggtgc tgcctatgtg ggtgctggcc
1561 ctcatcgtga tcttctcac catcgctgtg ctctggccc tccgttctg tggcatctac
1621 gggtagagc tgcgcagaaa gtgggaggag aagatcccca accccagcaa gagccacctg
1681 ttccagaacg ggagcgcaga gcttggccc ccaggcagca tgtcggcctt cactagcggg
1741 agtccccac accaggggcc gtggggcagc cgcttccctg agctggaggg ggtgttccct
1801 gtaggattcg gggacagcga ggtgtcacct ctaccatag aggaccccaa gcatgtctgt
1861 gatccaccat ctgggcctga cagcactcca gctgcctcag atctaccac agagcagccc
1921 ccagccccc agccaggccc gcctgcccgc tcccacacac ctgagaaaca ggcttcagc
1981 tttgacttca atggggccta cctggggccg ccccacagcc gctccctacc tgacatcctg
2041 ggccagccgg agccccaca ggaggggtgg agccagaagt cccacctcc agggctccctg
2101 gagtacctgt gctgcctgc tggggggcag gtgcaactgg tccctctggc ccaggcgatg
2161 ggaccaggac aggcctgtga agtgagaga aggcagagcc agggggctgc agggagtccc
2221 tccctggagt ccgggggagg cctgcccct cctgctcttg ggccaaggtt gggaggacag
2281 gacaaaaagg acagccctgt ggtataccc atgagctctg gggacactga ggacctgga
2341 gtggcctctg gttatgtctc ctctgcagac ctggtattca cccaaactc aggggcctcg
2401 tctgtctccc tagttccctc tctgggctc cctcagacc agacccccag cttatgtcct
2461 gggctggcca gtggaccccc tggagcccca ggccctgtga agtcagggtt tgagggtat
2521 gtggagctcc ctccaattga gggccgggtc ccaggtcac caaggaacaa tctgtcccc
2581 cctgaggcca aaagccctgt cctgaacca ggggaacgcc cggcagatgt gtcccaaca
2641 tccccacagc ccgagggcct ccttgtctc cagcaagtgg gcgactattg cttctcccc
2701 ggccctgggg ccggccctct ctgctccgg agtaaacctt cttccccggg acccgtcct
2761 gagatcaaga acctagacca ggcttttcaa gtcaagaagc cccaggcca ggctgtgccc
2821 cagggtgccc tcattcagct cttcaaagcc ctgaagcagc aggactacct gtctctgccc
2881 ccttgggagg tcaacaagcc tggggaggtg tgttgagacc ccaggccta gacaggcaag
2941 gggatggaga gggcttgct tccctccgc ctgaccttc tcagtcattt ctgcaaagcc
3001 aaggggcagc ctctgtcaa ggtagctaga ggctgggaa aggagatagc cttgctccgg
3061 ccccttgac cttcagcaaa tcaattctct cctgcgctc acacagacac acacacacac

```

10

20

30

40

【化 7】

```

3121 acgtacatgc acacattttt cctgtcaggt taacttattt gtaggttctg cattattaga
3181 acttttctaga tatactcatt ccatctcccc ctcatTTTTT taatcagggt tccttgcttt
3241 tgccattttt cttccttctt ttttactga tttattatga gagtggggct gaggtctgag
3301 ctgagcctta tcagactgag atgcggctgg ttgtgttgag gacttggtgt ggctgcctgt
3361 ccccggcagt cgctgatgca catgacatga ttctcatctg ggtgcagagg tgggaggcac
3421 caggtgggca cccgtggggg ttagggcttg gaagagtggc acaggactgg gcacgctcag
3481 tgaggctcag ggaattcaga ctagcctcga ttgtcactcc gagaaatggg catggtattg
3541 ggggtcgggg gggcgggtgca agggacgcac atgagagact gtttggggag ttctggggag
3601 ccctgctagt tgtctcagtg atgtctgtgg gacctccagt cccttgagac cccacgtcat
3661 gtagagaagt taacggccca agtgggtggc aggtcggcg gacctgggga acatcaggag
3721 aggagtccag agcccacgtc tactgcggaa aagtcagggg aaactgccaa acaaaggaaa
3781 atgccccaaa ggcatatatg ctttagggcc tttgggccaa atggcccggg tggccactct
3841 tccagataga ccaggcaact ctccctccca ccggccacag atgaggggct gctgatctat
3901 gcctgggcct gcaccaggga ttatgggttct tttaaatctt tgcctttcag atacaggaaa
3961 aataatggca ttaaattgct ttaatttgca ttattttagt tatccagttt gcacatattt
4021 ttataggtat cttaggtatc gattgggtatt ttttaactgg gccaaagcca ttaaggtctt
4081 tcttctgttg ggtgctatca ttttctgatt aagtcttttt gactattgac atacagtctt
4141 tcacagatgg tggagtgttt ttccccaaa tctgttggtt gtcttataat gttgtatatg
4201 aggttttatg gtgtatgaat atgaatgctt ctgtaatgtc aaacagatcc ctagtaaact
4261 ccttcttcac ttttactgtc agatttacaa aggtcctccc attgcaaagc agtgtttgtc
4321 ctaatttata tattgttttt ctagttcatt ttgtgtttcc aacttttcat gtaaaatttt
4381 aattattttt gaatgtgtgg atgtgagact gaggtgcctt ttggtactga aattcttttt
4441 ccatgtacct gaagtgttac ttttgtgata taggaaatcc ttgtatatat actttattgg
4501 tccctaggct tcctattttg ttaccttgct ttctctatgg catccaccat tttgattggt
4561 ctacttttat gatatgtttt cataagtggg taagcaagta ttctcgttac ttttgctctt
4621 aaatccctat tcattacagc aatgttggtg gtcaaagaaa atgataaaca acttgaatgt
4681 tcaatggtcc tgaaatacat aacaacattt tagtacattg taaagtagaa tcctctgttc
4741 ataatgaaca agatgaacca atgtggatta gaaagaagtc cgagatatta attccaaaat
4801 atccagacat tgtaaaggg aaaaaattgc aataaaatat ttgtaacata aaa (配列

```

番号 41)

である。

【0269】

C D 1 3 1 をコードする mRNA を標的化する RNA i をコードする例示的な核酸としては、以下の配列（これらの配列は、mRNA では T の代わりに U を有する）：

10

20

30

40

50

【化 8】

GGCTCGTCAACGTGACCCTCATTCG (配列番号42)
CCTGGAGCCAGTGTCTGTGACCTC (配列番号43)
GCCCAGGAGATGTGTCATTCCCTGC (配列番号44)
GTCGTCACCTGACGTTGACTACTTCT (配列番号45)
GACGTTGACTACTTCTCATTC AAC (配列番号46)
CTCCACACCAGGCACCACTGCCAGA (配列番号47)
ACCCACGGCCAATACATCGTCTCTG (配列番号48)
ATGGCCCCTCCATCCCTCAACGTGA (配列番号49)
ACGTGACCAAGGATGGAGACAGCTA (配列番号50)
GTGACCAAGGATGGAGACAGCTACA (配列番号51)
AAGGATGGAGACAGCTACAGCCTGC (配列番号52)
ATGCGATACGAACACATAGACCACA (配列番号53)
CGATACGAACACATAGACCACACAT (配列番号54)
GTGGGTGCTGGCCCTCATCGTGATC (配列番号55)

10

20

【化 9】

AGATCCCCAACCCCAGCAAGAGCCA (配列番号56)
CGGGGACAGCGAGGTGTCACCTCTC (配列番号57)
CTACCCACAGAGCAGCCCCCAGCC (配列番号58)
AAAGGACAGCCCTGTGGCTATACCC (配列番号59)
CCTGAGATCAAGAACCTAGACCAGG (配列番号60)
TCAAAGCCCTGAAGCAGCAGGACTA (配列番号61)
GTCAAAGAAAATGATAAACA ACTTG (配列番号62)

30

40

50

を標的化する s i R N A が挙げられる。

【0270】

調節性 R N A は、上記のエクソン中の配列に相補的であり得、標的中の約 15 ヌクレオチド～約 30 の近接ヌクレオチドに相補的であり得る。調節性 R N A は、標的配列に対する相補体と、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、または99%の配列同一性を有し得る。調節性 R N A はまた、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、標的配列とハイブリダイズするものであり得る。例示的な調節性 R N A としては、例えば、配列番号3、配列番号20、または配列番号41の任意の15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30の近接ヌクレオチドに対して相補的である調節性 R N A が挙げられる。例示的な調節性 R N A としては、例えば、配列番号3、配列番号20、または配列番号41の任意の21の近接ヌクレオチドに対して相補的である調節性 R N A が挙げられる。

【0271】

ある態様では、本開示は、約 15 ヌクレオチド～約 30 ヌクレオチドの長さ、または 18～25、または18、19、20、21、22、23、24、もしくは25ヌクレオチドの長さの短い二本鎖 R N A を含む単離された s i R N A を記載し、標的 m R N A に標的

化される。s i R N A は、標準的なワトソン・クリック塩基対合相互作用（本明細書の以下で「塩基対合」）によって一緒にアニーリングされたセンスRNA鎖および相補アンチセンスRNA鎖を含む。二重鎖のそれぞれの鎖は、同じ長さまたは異なる長さのものであり得る。下記により詳細に記載されるように、センス鎖は、標的mRNA内に含有される標的配列と同一である核酸配列を含む。一部の場合では、s i R N A 分子は、一本鎖RNAを含む。一部の態様では、本開示は、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）を記載する。ASOは、多様な化学の小さい（-18〜30ヌクレオチド）、合成の一本鎖核酸ポリマーである阻害性ポリヌクレオチドであり、これは、さまざまなメカニズムを介して、遺伝子発現をモジュレートするために用いられ得る。ASOは、2つの主要なカテゴリー：RNAse Hコンピテントおよび立体ブロックに細分化され得る。内因性RNAse H酵素であるRNAse H1は、DNA系オリゴヌクレオチドが、それらの同族mRNA転写物に結合し、RNAの分解を触媒する場合に形成される、RNA-DNAヘテロ二重鎖基質を認識する。ASO結合の部位での切断は、標的RNAの破壊をもたらし、それによって、標的遺伝子発現をサイレンシングする。このアプローチは、疾患を引き起こすか、または疾患を修飾する遺伝子を下方調節する手段として広く使用されている。

10

20

30

40

50

【0272】

s i R N A のセンスおよびアンチセンス鎖は、2つの相補的な一本鎖RNA分子を含み得るか、または2つの相補的部分が、塩基対合し、例えば、一本鎖ヘアピンループによって、共有結合的に連結された、単一分子を含み得る。いかなる理論にも拘束されることを望まないが、後者の種類のs i R N A 分子のヘアピンループが、ダイサータンパク質（またはその等価物）によって細胞内で切断されて、2つの個々の塩基対合したRNA分子のs i R N A を形成すると考えられる。

【0273】

s i R N A は、部分的に精製されたRNA、実質的に純粋なRNA、合成RNA、組換え的に生成されたRNA、ならびに1つもしくは複数のヌクレオチドの付加、欠失、置換および／もしくは変更、または前述の1つもしくは複数の組合せによって、天然に存在するRNAと異なる、変更されたRNAを含み得る。変更としては、s i R N A をヌクレアーゼ消化に耐性にする改変を含む、例えば、s i R N A の末端へのまたはs i R N A の1つもしくは複数の内部ヌクレオチドへの、非ヌクレオチド材料の付加が挙げられ得る。s i R N A の一方または両方の鎖は、3'オーバーハングも含み得る。本明細書で使用される場合、3'オーバーハングは、二重RNA鎖の3'末端から伸長している、少なくとも1つの対合していないヌクレオチドを指す。3'オーバーハングは、1〜約6ヌクレオチド（リボヌクレオチドまたはデオキシヌクレオチドを含む）の長さ、または1〜約5ヌクレオチドの長さ、または1〜約4ヌクレオチドの長さ、または約2〜約4ヌクレオチドの長さを有し得る。3'オーバーハングは、s i R N A の両方の鎖に存在することができ、2ヌクレオチドの長さであり得る。例えば、s i R N A のそれぞれの鎖は、ジチミジル酸（TT）またはジウリジル酸（UU）の3'オーバーハングを有し得る。

【0274】

s i R N A の安定性を増強するために、3'オーバーハングを、分解に対して安定化することができる。例えば、オーバーハングは、プリンヌクレオチド、例えば、アデノシンまたはグアノシンヌクレオチドを含めることによって、安定化することができる。オーバーハングはまた、改変アナログによるピリミジンヌクレオチドの置換、例えば、2'-デオキシチミジンによる3'オーバーハング中のウリジンヌクレオチドの置換によって安定化することができ、これは、RNA分解に耐え、その効率に影響を及ぼさない。特に、2'-デオキシチミジン中の2'ヒドロキシルの非存在は、組織培養培地中で、3'オーバーハングのヌクレアーゼ耐性を有意に増強する。

【0275】

s i R N A は、配列AA（N19）TTまたはNA（N21）を有し得、ここで、Nは、任意のヌクレオチドである。これらのs i R N A は、およそ30〜70%のG/C含有量を有し得、およそ50%のG/C含有量を含み得る。センスs i R N A 鎖の配列は、そ

れぞれ、(N19) TTまたはN21 (すなわち、3～23位) に対応し得る。後者の場合では、センスs iRNAの3'末端は、TTに変換され得る。この配列変換の論理的根拠は、センスおよびアンチセンス鎖3'オーバーハングの配列組成に関して、対称二重鎖を作成することである。アンチセンスRNA鎖は、次いで、センス鎖の1～21位に対する相補体として合成することができる。

【0276】

23-ntのセンス鎖の1位が、アンチセンス鎖によって配列特異的な様式で認識されない場合、アンチセンス鎖の最も3'側のヌクレオチド残基は、計画的に選択され得る。しかしながら、この場合では、アンチセンス鎖の最後から2番目のヌクレオチド (いずれかの実施形態における23-ntのセンス鎖の2位に相補的) は、一般に、標的化された配列に相補的である。

【0277】

s iRNAはまた、配列NAR (N17) YNNを有し得、ここで、Rは、プリン (例えば、AまたはG) であり、Yは、ピリミジン (例えば、CまたはU/T) である。したがって、個々の21-ntのセンスおよびアンチセンスRNA鎖は、一般に、プリンヌクレオチドで開始する。pol IIIプロモーターからのRNAの発現が、最初の転写されたヌクレオチドがプリンである場合に限り効率的であると考えられるので、そのようなs iRNAは、標的化部位の変化なしで、pol III発現ベクターから発現され得る。

【0278】

s iRNAは、通常、5つ以下の連続するプリンまたはピリミジンを有する配列を有する。s iRNAはまた、通常、同じ核酸塩基 (すなわち、A、C、G、またはU/T) を有する5つ以下の連続するヌクレオチドを有する配列を含む。

【0279】

s iRNAは、標的mRNA配列 (「標的配列」) のいずれかにおけるおよそ19～25の近接ヌクレオチドの任意のストレッチに標的化され得る。s iRNAのための標的配列を選択するための技法は、例えば、Fakhr et al., Precise and efficient siRNA design: a key point in competent gene silencing, Cancer Gene Therapy 23:73-82 (2016)に与えられ、これは、すべての目的のために、その全体が参考として本明細書に組み込まれる。そのため、本s iRNAのセンス鎖は、標的mRNAにおける約19～約25ヌクレオチドの任意の近接ストレッチと同一のヌクレオチド配列を含む。

【0280】

s iRNAは、当業者に公知のいくつかの技法を使用して得ることができる。例えば、s iRNAは、化学的に合成することができ、または当技術分野において公知の方法、例えば、すべての目的のために、その全体が参考として本明細書に組み込まれる、米国公開出願2002/0086356に記載されるショウジョウバエin vitro系を使用して、組換え的に生成することができる。s iRNAは、適切な保護されたリボヌクレオシドホスホルアミダイトおよび従来のDNA RNA合成機を使用して、化学的に合成することができる。s iRNAは、2つの別々の相補的なRNA分子として、または2つの相補領域を有する単一のRNA分子として合成することができる。合成RNA分子または合成試薬の商業的供給業者は、当技術分野において周知である。

【0281】

s iRNAはまた、任意の好適なプロモーターを使用して、組換え環状または線状DNAプラスミドから発現され得る。プラスミドからs iRNAを発現するための好適なプロモーターとしては、例えば、U6またはH1 RNA pol IIIプロモーター配列、およびサイトメガロウイルスプロモーターが挙げられる。他の好適なプロモーターの選択は、当技術分野における技量の範囲内である。組換えプラスミドは、特定の組織または特定の細胞内環境におけるs iRNAの発現のための誘導性プロモーターまたは調節可能プロモーターも含み得る。

【0282】

10

20

30

40

50

組換えプラスミドから発現された *siRNA* は、標準的な技法によって、培養細胞発現系から単離され得るか、あるいは *in vivo* で、標的組織もしくは細胞で細胞内で、またはその近くで発現され得る。*siRNA* は、2つの別々の相補的な RNA 分子として、または2つの相補領域を有する単一の RNA 分子として、組換えプラスミドから発現され得る。*siRNA* を発現するために好適なプラスミドの選択、*siRNA* を発現するための核酸配列をプラスミドに挿入するための方法、および組換えプラスミドを目的の細胞に送達する方法は、当技術分野における技量の範囲内である。例えば、Tuschl, T. (2002), Nat. Biotechnol, 20: 446-448; Brummelkamp T R et al. (2002), Science 296: 550-553; Miyagishi M et al. (2002), Nat. Biotechnol. 20: 497-500; Paddison P J et al. (2002), Genes Dev. 16: 948-958; Lee N S et al. (2002), Nat. Biotechnol. 20: 500-505; および Paul C P et al. (2002), Nat. Biotechnol. 20: 505-508 を参照されたく、これらのすべては、すべての目的のために、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【0283】

siRNA はまた、*in vivo* で、標的組織もしくは細胞で細胞内で、またはその近くで組換えウイルスベクターから発現され得る。組換えウイルスベクターは、*siRNA* をコードする配列、および *siRNA* 配列を発現するための任意の好適なプロモーターを含み得る。好適なプロモーターとしては、例えば、U6 または H1 RNA pol III プロモーター配列、およびサイトメガロウイルスプロモーターが挙げられる。他の好適なプロモーターの選択は、当技術分野における技量の範囲内である。組換えウイルスベクターは、特定の組織または特定の細胞内環境における *siRNA* の発現のための誘導性プロモーターまたは調節可能プロモーターも含み得る。*siRNA* は、2つの別々の相補的な RNA 分子として、または2つの相補領域を有する単一の RNA 分子として、組換えウイルスベクターから発現され得る。

【0284】

発現される *siRNA* 分子のためのコード配列を受け入れることができる任意のウイルスベクターは、例えば、アデノウイルス (AV) ; アデノ随伴ウイルス (AAV) ; レトロウイルス (例えば、レンチウイルス (LV) 、ラブドウイルス、マウス白血病ウイルス) ; ヘルペスウイルスなどに由来するベクターを使用することができる。ウイルスベクターの向性は、他のウイルス由来のエンベロープタンパク質または他の表面抗原でベクターをシュードタイプ化することによって改変することもできる。例えば、本発明の AAV ベクターを、水疱性口内炎ウイルス (VSV) 、狂犬病、エボラ、モコラなど由来の表面タンパク質でシュードタイプ化することができる。

【0285】

siRNA は、安定性を増強するために、化学的に改変することができる。*siRNA* は、当技術分野において十分に確立された方法、例えば、参考として本明細書に組み込まれる "Current protocols in nucleic acid chemistry," Beaucage, S. L. et al. (Eds.), John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y., USA に記載されているものによって、合成および／または改変されてもよい。*siRNA* 化合物の具体例としては、改変された主鎖を含有するか、または天然のヌクレオシド間連結を含有しない、*siRNA* が挙げられる。改変された主鎖を有する *siRNA* としては、主鎖にリン原子を保持するもの、および主鎖にリン原子を有さないものが挙げられる。それらのヌクレオシド間主鎖にリン原子を有さない改変された *siRNA* は、オリゴヌクレオシドであるとも考えられ得る。

【0286】

改変された *siRNA* 主鎖としては、例えば、ホスホロチオエート、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、3'-アルキレンホスホネートおよびキラルホスホネートを含みメチルおよび他のアルキルホスホネート、ホスフィネート、3'-アミノホスホルアミデートおよびアミノ

アルキルホスホルアミデートを含むホスホルアミデート、チオノホスホルアミデート、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、ならびに通常の3' - 5' 連結、これらの2' - 5' 連結されたアナログおよび反対の極性を有するものを有するボラノホスフェートであって、ここで、ヌクレオシド単位の隣接する対が3' - 5' と5' - 3' または2' - 5' と5' - 2' で連結されているものが挙げられる。さまざまな塩、混合塩、および遊離酸の形態も含まれる。

【0287】

上記のリン含有連結の調製を教示する代表的な米国特許としては、限定されるものではないが、米国特許第3,687,808号；同第4,469,863号；同第4,476,301号；同第5,023,243号；同第5,177,195号；同第5,188,897号；同第5,264,423号；同第5,276,019号；同第5,278,302号；同第5,286,717号；同第5,321,131号；同第5,399,676号；同第5,405,939号；同第5,453,496号；同第5,455,233号；同第5,466,677号；同第5,476,925号；同第5,519,126号；同第5,536,821号；同第5,541,316号；同第5,550,111号；同第5,563,253号；同第5,571,799号；同第5,587,361号；および同第5,625,050号が挙げられ、これらのそれぞれは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0288】

リン原子を含まない改変されたsiRNA主鎖は、短鎖アルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間連結、混合ヘテロ原子およびアルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間連結、または1つもしくは複数の短鎖ヘテロ原子もしくはヘテロ環ヌクレオシド間連結によって形成された主鎖を有する。これらとしては、モルホリノ連結を有するもの（一部では、ヌクレオシドの糖部分から形成される）；シロキサン主鎖；スルフィド、スルホキシドおよびスルホン主鎖；ホルムアセチルおよびチオホルムアセチル主鎖；メチレンホルムアセチルおよびチオホルムアセチル主鎖；アルケン含有主鎖；スルファメート主鎖；メチレンイミノおよびメチレンヒドラジノ主鎖；スルホネートおよびスルホンアミド主鎖；アミド主鎖；ならびにN、O、SおよびCH₂構成要素部分の混合を有する他のものが挙げられる。

【0289】

上記のオリゴヌクレオシドの調製を教示する代表的な米国特許としては、限定されるものではないが、米国特許第5,034,506号；同第5,166,315号；同第5,185,444号；同第5,214,134号；同第5,216,141号；同第5,235,033号；同第5,64,562号；同第5,264,564号；同第5,405,938号；同第5,434,257号；同第5,466,677号；同第5,470,967号；同第5,489,677号；同第5,541,307号；同第5,561,225号；同第5,596,086号；同第5,602,240号；同第5,608,046号；同第5,610,289号；同第5,618,704号；同第5,623,070号；同第5,663,312号；同第5,633,360号；同第5,677,437号；および同第5,677,439号が挙げられ、これらのそれぞれは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0290】

他の好適なsiRNAミメティックでは、ヌクレオチド単位の糖およびヌクレオシド間連結、すなわち、主鎖が、新規の基と置き換えられる。塩基単位は、適切な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持される。優れたハイブリダイゼーションの性質を有することが示されている、1つのそのようなオリゴマー化合物であるdsRNAミメティックは、ペプチド核酸（PNA）と称される。PNA化合物では、siRNAの糖主鎖は、アミド含有主鎖、特に、アミノエチルグリシン主鎖で置き換えられる。核酸塩基は、保持され、主鎖のアミド部分のアザ窒素原子に直接的または間接的に結合される。PNA化合物の調製を教示する代表的な米国特許としては、限定されるものではないが、米

国特許第 5, 539, 082 号；同第 5, 714, 331 号；および同第 5, 719, 262 号が挙げられ、これらのそれぞれは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。PNA 化合物のさらなる教示は、Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500に見出すことができ、これは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0291】

別の態様では、siRNA は、ホスホロチオエート主鎖およびヘテロ原子主鎖を有するオリゴヌクレオシド、特に、上記で言及された米国特許第 5, 489, 677 号の $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$ [メチレン (メチルイミノ) または MMI 主鎖として公知]、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ および $-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ [ここで、ネイティブホスホジエステル主鎖は、 $-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-$ として表される]、ならびに上記で言及された米国特許第 5, 602, 240 号のアミド主鎖を有し得る。上記で言及された米国特許第 5, 034, 506 号のモルホリノ主鎖構造を有する dsRNA も好ましい。

【0292】

改変 siRNA は、1 つまたは複数の置換糖部分も含有し得る。siRNA は、2' 位に以下の 1 つを含み得る：OH；F；O-、S-、または N-アルキル；O-、S-、または N-アルケニル；O-、S-または N-アルキニル；または O-アルキル-O-アルキル (ここで、アルキル、アルケニルおよびアルキニルは、置換または無置換の $\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$ アルキルまたは $\text{C}_2 \sim \text{C}_{10}$ アルケニルおよびアルキニルであり得る)。O[(CH₂)_nO]_mCH₃、O(CH₂)_nOCH₃、O(CH₂)_nNH₂、O(CH₂)_nCH₃、O(CH₂)_nONH₂、および O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂ (ここで、n および m は、1 ~ 約 10 である) が特に好ましい。他の好ましい dsRNA は、2' 位に以下の 1 つを含む： $\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$ 低級アルキル、置換低級アルキル、アルカリル、アラルキル、O-アルカリルまたは O-アラルキル、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリル、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、RNA 切断基、レポーター基、インターカレーター、dsRNA の薬物動態学的性質を改善するための基、または dsRNA の薬学的性質を改善するための基、および類似の性質を有する他の置換基。好ましい改変としては、2'-メトキシエトキシ (2'-O-CH₂CH₂OCH₃、2'-O-(2'-メトキシエチル) または 2'-MOE としても公知) (Martin et al., Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504)、すなわち、アルコキシ-アルコキシ基が挙げられる。さらなる好ましい改変としては、2'-ジメチルアミノオキシエトキシ、すなわち、下記の本明細書の実施例に記載される、2'-DMAOE としても公知の O(CH₂)₂ON(CH₃)₂ 基、および 2'-ジメチルアミノエトキシエトキシ (2'-O-ジメチルアミノエトキシエチルまたは 2'-DMAEOE としても当技術分野で公知)、すなわち、下記の本明細書の実施例にも記載されている 2'-O-CH₂-O-CH₂-N(CH₂)₂ が挙げられる。

【0293】

他の改変としては、2'-メトキシ (2'-OCH₃)、2'-アミノプロポキシ (2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂) および 2'-フルオロ (2'-F) が挙げられ得る。類似の改変はまた、siRNA における他の位置、特に、3' 末端ヌクレオチドにおける糖の 3' 位、または 2'-5' 連結された siRNA 中および 5' 末端ヌクレオチドの 5' 位で行われ得る。siRNA はまた、ペントフラノシル糖の代わりにシクロブチル部分などの糖ミメティックも有し得る。そのような改変糖構造の調製を教示する代表的な米国特許としては、限定されるものではないが、米国特許第 4, 981, 957 号；同第 5, 118, 800 号；同第 5, 319, 080 号；同第 5, 359, 044 号；同第 5, 393, 878 号；同第 5, 446, 137 号；同第 5, 466, 786 号；同第 5, 514, 785 号

10

20

30

40

50

；同第5，519，134号；同第5，567，811号；同第5，576，427号；同第5，591，722号；同第5，597，909号；同第5，610，300号；同第5，627，053号；同第5，639，873号；同第5，646，265号；同第5，658，873号；同第5，670，633号；および同第5，700，920号が挙げられ、これらのそれぞれは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0294】

s i R N A はまた、核酸塩基（当技術分野において単に「塩基」と称される場合が多い）の改変または置換を含み得る。本明細書で使用される場合、「未改変」または「天然」核酸塩基としては、プリン塩基のアデニン（A）およびグアニン（G）、ならびにピリミジン塩基のチミン（T）、シトシン（C）およびウラシル（U）が挙げられる。改変核酸塩基としては、他の合成および天然核酸塩基、例えば、5-メチルシトシン（5-me-C）、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの6-メチルおよび他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの2-プロピルおよび他のアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミンおよび2-チオシトシン、5-ハロウラシルおよびシトシン、5-プロピニルウラシルおよびシトシン、6-アゾウラシル、シトシンおよびチミン、5-ウラシル（シュドウラシル）、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシルおよび他の8-置換アデニンおよびグアニン、5-ハロ、特に、5-ブロモ、5-トリフルオロメチルおよび他の5-置換ウラシルおよびシトシン、7-メチルグアニンおよび7-メチルアデニン、8-アザグアニンおよび8-アザアデニン、7-デアザグアニンおよび7-デアザアデニン（daazaadenine）、ならびに3-デアザグアニンおよび3-デアザアデニンが挙げられる。さらなる核酸塩基としては、米国特許第3，687，808号に開示されるもの、The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990に開示されるもの、Englis ch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613に開示されるもの、およびS anghvi, Y S., Chapter 15, DsRNA Research and Applications, page s 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993に開示されるものが挙げられ、これらのそれぞれは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。ある特定のこれらの核酸塩基は、本発明における特徴であるオリゴマー化合物の結合親和性を増加させるために特に有用である。これらとしては、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン、ならびにN-2、N-6およびO-6置換プリン、例えば、2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシルおよび5-プロピニルシトシンが挙げられる。5-メチルシトシン置換は、核酸二重鎖の安定性を0.6〜1.2℃増加させることが示されており（Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., DsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278、これは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）、さらに具体的には、2'-O-メトキシエチル糖改変と組み合わせた場合、例示的な塩基置換である。

【0295】

ある特定の上記で述べた改変核酸塩基および他の改変核酸塩基の調製を教示する代表的な米国特許としては、限定されるものではないが、上記で述べた米国特許第3，687，808号、ならびに米国特許第4，845，205号；同第5，130，30号；同第5，134，066号；同第5，175，273号；同第5，367，066号；同第5，432，272号；同第5，457，187号；同第5，459，255号；同第5，484，908号；同第5，502，177号；同第5，525，711号；同第5，552，540号；同第5，587，469号；同第5，594，121号、同第5，596，091号；同第5，614，617号；同第5，681，941号、および米国特許第5，750，692号が挙げられ、これらのそれぞれは、すべての目的のために、その全

体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0296】

s i R N A の別の改変は、s i R N A に、s i R N A の活性、細胞分布または細胞取り込みを増強する1つもしくは複数の部分またはコンジュゲートを化学的に連結することを含み得る。そのような部分としては、限定されるものではないが、脂質部分、例えば、コレステロール部分 (Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86: 6553-6556)、コール酸 (Manoharan et al., Biorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4:1053-1060)、チオエーテル、例えば、ベリルー S トリチルチオール (Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660:306-309; Manoharan et al., Biorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3:2765-2770)、チオコレステロール (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20:533-538)、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールもしくはウンデシル残基 (Saison-Behm oaras et al., EMBO J, 1991, 10:1111-1118; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259:327-330; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75: 49-54)、リン脂質、例えば、ジーヘキサデシルー r a c -グリセロールもしくはトリエチルーアンモニウム 1, 2 -ジー O -ヘキサデシルー r a c -グリセロ-3 -H ホスホネート (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18:3777-3783)、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14:969-973)、またはアダマンタン酢酸 (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654)、パルミチル部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264:229-237)、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノカルボニルオキシコレステロール部分 (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923-937) が挙げられ、前述の参考文献のそれぞれは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0297】

そのような s i R N A コンジュゲートの調製を教示する代表的な米国特許としては、限定されるものではないが、米国特許第 4, 8 2 8, 9 7 9 号; 同第 4, 9 4 8, 8 8 2 号; 同第 5, 2 1 8, 1 0 5 号; 同第 5, 5 2 5, 4 6 5 号; 同第 5, 5 4 1, 3 1 3 号; 同第 5, 5 4 5, 7 3 0 号; 同第 5, 5 5 2, 5 3 8 号; 同第 5, 5 7 8, 7 1 7、同第 5, 5 8 0, 7 3 1 号; 同第 5, 5 9 1, 5 8 4 号; 同第 5, 1 0 9, 1 2 4 号; 同第 5, 1 1 8, 8 0 2 号; 同第 5, 1 3 8, 0 4 5 号; 同第 5, 4 1 4, 0 7 7 号; 同第 5, 4 8 6, 6 0 3 号; 同第 5, 5 1 2, 4 3 9 号; 同第 5, 5 7 8, 7 1 8 号; 同第 5, 6 0 8, 0 4 6 号; 同第 4, 5 8 7, 0 4 4 号; 同第 4, 6 0 5, 7 3 5 号; 同第 4, 6 6 7, 0 2 5 号; 同第 4, 7 6 2, 7 7 9 号; 同第 4, 7 8 9, 7 3 7 号; 同第 4, 8 2 4, 9 4 1 号; 同第 4, 8 3 5, 2 6 3 号; 同第 4, 8 7 6, 3 3 5 号; 同第 4, 9 0 4, 5 8 2 号; 同第 4, 9 5 8, 0 1 3 号; 同第 5, 0 8 2, 8 3 0 号; 同第 5, 1 1 2, 9 6 3 号; 同第 5, 2 1 4, 1 3 6 号; 同第 5, 0 8 2, 8 3 0 号; 同第 5, 1 1 2, 9 6 3 号; 同第 5, 2 1 4, 1 3 6 号; 同第 5, 2 4 5, 0 2 2 号; 同第 5, 2 5 4, 4 6 9 号; 同第 5, 2 5 8, 5 0 6 号; 同第 5, 2 6 2, 5 3 6 号; 同第 5, 2 7 2, 2 5 0 号; 同第 5, 2 9 2, 8 7 3 号; 同第 5, 3 1 7, 0 9 8 号; 同第 5, 3 7 1, 2 4 1 号、同第 5, 3 9 1, 7 2 3 号; 同第 5, 4 1 6, 2 0 3 号、同第 5, 4 5 1, 4 6 3 号; 同第 5, 5 1 0, 4 7 5 号; 同第 5, 5 1 2, 6 6 7 号; 同第 5, 5 1 4, 7 8 5 号; 同第 5, 5 6 5, 5 5 2 号; 同第 5, 5 6 7, 8 1 0 号; 同第 5, 5 7 4, 1 4 2 号; 同第 5, 5 8 5, 4 8 1 号; 同第 5, 5 8 7, 3 7 1 号; 同第 5, 5 9 5, 7 2 6 号; 同第 5, 5 9 7, 6 9 6 号; 同第 5, 5 9 9, 9 2 3 号; 同第 5, 5 9 9, 9 2 8 号および同第 5, 6 8 8, 9 4 1 号が挙げられ、これらのそれぞれは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0298】

所与の化合物におけるすべての位置について均一に改変される必要はなく、実際に、前述の改変の2つ以上が、単一の化合物において、またはs i R N A内の単一のヌクレオシドでさえ、組み込まれ得る。本発明は、キメラ化合物であるd s R N A化合物も含む。「キメラ」s i R N A化合物または「キメラ」は、本発明の文脈では、s i R N A化合物、特に、2つまたはそれよりも多くの化学的に別個の領域を含有するs i R N Aであり、s i R N A化合物の場合では、少なくとも1つのモノマー単位、すなわち、ヌクレオチドからそれぞれ構成される。これらのs i R N Aは、典型的には、少なくとも1つの領域を含有し、ここで、s i R N Aに対して、ヌクレアーゼ分解に対する増加した耐性、増加した細胞取り込み、および／または標的核酸に対する増加した結合親和性を付与するために、s i R N Aは、改変される。s i R N Aの追加の領域は、R N A : D N AまたはR N A : R N Aハイブリッドを切断することができる酵素のための基質としての役割を果たし得る。例として、R N a s e Hは、R N A : D N A二重鎖のR N A鎖を切断する細胞エンドヌクレアーゼである。したがって、R N a s e Hの活性化は、R N A標的の切断をもたらし、それによって、遺伝子発現のs i R N A阻害の効率を大いに増強する。その結果、同等の結果は、多くの場合に、同じ標的領域にハイブリダイズするホスホロチオエートデオキシs i R N Aと比較して、キメラs i R N Aが使用される場合、より短いs i R N Aを用いて得ることができる。

10

【0299】

ある特定の実例では、s i R N Aは、非リガンド基によって改変され得る。いくつかの非リガンド分子は、s i R N Aの活性、細胞分布または細胞取り込みを増強するために、s i R N Aにコンジュゲートされ、そのようなコンジュゲーションを行うための手順は、科学文献において利用可能である。そのような非リガンド部分は、脂質部分、例えば、コレステロール (Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86:6553)、コール酸 (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4:1053)、チオエーテル、例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール (Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660:306; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3:2765)、チオコレステロール (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20:533)、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールもしくはウンデシル残基 (Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10:111; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259:327; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75:49)、リン脂質、例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールもしくはトリエチルアンモニウム1,2-ジ-オ-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18:3777)、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14:969)、またはアダマンタン酢酸 (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651)、パルミチル部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264:229)、またはオクタデシルアミンまたはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分 (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923)を含んでおり、前述の参考文献のそれぞれは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。そのようなs i R N Aコンジュゲートの調製を教示する代表的な米国特許は、上記に列挙されている。典型的なコンジュゲーションプロトコルは、配列の1つまたは複数の位置にアミノリンカーを保持するs i R N Aの合成を含む。次いで、アミノ基は、適切なカップリング試薬または活性化試薬を使用して、コンジュゲートされる分子と反応する。コンジュゲーション反応は、固体支持体に依然として結合したs i R N A、または液相中でのs i R N Aのその後の切断のいずれかを用いて行われ得る。HPLCによるs i R N Aコンジュゲートの精製は、典型的には、純粋なコンジュゲートを提供する。

20

30

40

【0300】

一部の実施形態では、開示されるs i R N A分子は、E P Oおよび／またはE p o R活

50

性を低減して、腫瘍量を低減し、がんを有するか、またはがんを有すると疑われる対象の生存を増加させるために使用される。

【0301】

ある特定の実施形態では、開示される *siRNA* は、*RNA* 干渉 (*RNAi*) 分子を含む組成物である。一部の実施形態では、前記 *RNAi* は、エリスロポエチン (*EPO*) タンパク質をコードする *mRNA* 分子、*EPO* 受容体サブユニットをコードする *mRNA* 分子、*CD131* サブユニットをコードする *mRNA* 分子、およびその任意の組合せからなる群より選択される *RNA* 分子に結合する。一部の実施形態では、そのような組成物は、がんを処置するために、対象に投与される。一部の実施形態では、前記 *RNAi* を対象に投与する際に、腫瘍量が、低減される。一部の実施形態では、前記 *RNAi* を対象に投与する際に、免疫応答が、増加する。一部の実施形態では、免疫応答は、エフェクター *T* (*T_{eff}*) 細胞の産生により増加する。

10

【0302】

一部の実施形態では、*RNAi* は、がんを有する対象に投与される組成物であり、ここで、前記 *RNAi* は、エリスロポエチン (*EPO*) タンパク質をコードする *mRNA* 分子、*EPO* 受容体サブユニットをコードする *mRNA* 分子、*CD131* サブユニットをコードする *mRNA* 分子、およびその任意の組合せからなる群より選択される *RNA* 分子に結合し、ここで、前記 *RNAi* を前記対象に投与する際に、対象の腫瘍量が、低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、少なくとも 10% 低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、少なくとも 20% 低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、少なくとも 30% 低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、少なくとも 40% 低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、少なくとも 50% 低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、少なくとも 60% 低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、少なくとも 70% 低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、少なくとも 80% 低減される。

20

【0303】

一部の実施形態では、腫瘍量は、0.8 cm³ 未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.7 cm³ 未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.6 cm³ 未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.5 cm³ 未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.4 cm³ 未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.3 cm³ 未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.2 cm³ 未満に低減される。

30

【0304】

一部の実施形態では、腫瘍量は、約 0.8 cm³ に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、約 0.7 cm³ に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、約 0.6 cm³ に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.5 cm³ 未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.4 cm³ 未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.3 cm³ 未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.2 cm³ 未満に低減される。

【0305】

一部の実施形態では、*RNAi* は、がんを有する対象に投与される組成物であり、ここで、前記 *RNAi* は、エリスロポエチン (*EPO*) タンパク質をコードする *mRNA* 分子、*EPO* 受容体サブユニットをコードする *mRNA* 分子、*CD131* サブユニットをコードする *mRNA* 分子、およびその任意の組合せからなる群より選択される *RNA* 分子に結合し、ここで、前記 *RNAi* を前記対象に投与する際に、対象の免疫応答が、より多くのエフェクター *T* (*T_{eff}*) 細胞の産生により増加する。

40

【0306】

一部の実施形態では、標的化されるがんは、肝細胞癌、結腸がん、乳がん、肺がん、脳がん、または黒色腫から選択される。

【0307】

一部の実施形態では、*RNAi* 分子は、対象における *EPO* 半減期を低減する。一部の

50

実施形態では、RNA i 分子は、対象におけるEPOレベルを低減する。一部の実施形態では、EPOレベルの低減は、生存を増加させる。一部の実施形態では、生存率は、2倍に増加する。一部の実施形態では、生存率は、3倍に増加する。一部の実施形態では、生存率は、5倍に増加する。一部の実施形態では、生存率は、約半年～約5年増加する。一部の実施形態では、生存率は、約半年～約3年増加する。一部の実施形態では、生存率は、約半年～約1年増加する。

【0308】

一部の実施形態では、RNA i は、ナノ粒子中にある。本明細書に記載される任意の好適なナノ粒子は、有用なナノ粒子担体である。一部の実施形態では、ナノ粒子は、脂質ナノ粒子である。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、約20～70%のカチオン性脂質：約5～45%の中性脂質：約20～55%のコレステロール：および／または約0.5～15%のPEG改変脂質を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、約20～60%のカチオン性脂質：約5～25%の中性脂質：約25～55%のコレステロール：および／または約0.5～15%のPEG改変脂質を含む。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、約35～45%のカチオン性脂質、約40%～50%のカチオン性脂質、約50%～60%のカチオン性脂質、および／または約55%～65%のカチオン性脂質を含む。

10

【0309】

一部の実施形態では、RNA i の脂質ナノ粒子に対する比は、約5：1～約20：1である。一部の実施形態では、RNA i の脂質ナノ粒子に対する比は、約10：1～約25：1である。一部の実施形態では、RNA i の脂質ナノ粒子に対する比は、約15：1～約30：1である。一部の実施形態では、RNA i の脂質ナノ粒子に対する比は、少なくとも約30：1である。

20

【0310】

一部の実施形態では、RNA i は、siRNA、またはmiRNA、またはアンチセンスRNA、またはlncRNAである。一部の実施形態では、RNA i は、siRNAである。一部の実施形態では、RNA i は、miRNAである。一部の実施形態では、RNA i は、アンチセンスRNAである。一部の実施形態では、RNA i は、lncRNAである。

【0311】

一部の実施形態では、siRNAは、約3～約90ヌクレオチドの配列の長さを有する。一部の実施形態では、siRNAは、約3～約60ヌクレオチドの配列の長さを有する。一部の実施形態では、siRNAは、約3～約45ヌクレオチドの配列の長さを有する。一部の実施形態では、siRNAは、約9～約42ヌクレオチドの配列の長さを有する。一部の実施形態では、siRNAは、約15～約30ヌクレオチドの配列の長さを有する。一部の実施形態では、siRNAは、約21～約30ヌクレオチドの配列の長さを有する。

30

【0312】

一部の実施形態では、siRNA分子は、以下の配列：配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39、配列番号40、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号50、配列番号51、配列番号52、配列番号53、配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、配列番号60、配列番号61、または配列番号62のいずれかと少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%、100%同一である核酸を含む。

40

【0313】

50

一部の実施形態では、s i R N A は、以下の配列：配列番号 4、配列番号 5、配列番号 6、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 10、配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、配列番号 16、配列番号 17、配列番号 18、または配列番号 19 を標的化する。

【0314】

一部の実施形態では、s i R N A は、以下の配列：配列番号 21、配列番号 22、配列番号 23、配列番号 24、配列番号 25、配列番号 26、配列番号 27、配列番号 28、配列番号 29、配列番号 30、配列番号 31、配列番号 32、配列番号 33、配列番号 34、配列番号 35、配列番号 36、配列番号 37、配列番号 38、配列番号 39、または配列番号 40 のいずれかと少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、97 %、99 %、100 % 同一である核酸を含む。

10

【0315】

一部の実施形態では、s i R N A は、以下の配列：配列番号 42、配列番号 43、配列番号 44、配列番号 45、配列番号 46、配列番号 47、配列番号 48、配列番号 49、配列番号 50、配列番号 51、配列番号 52、配列番号 53、配列番号 54、配列番号 55、配列番号 56、配列番号 57、配列番号 58、配列番号 59、配列番号 60、配列番号 61、または配列番号 62 のいずれかと少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、97 %、99 %、100 % 同一である核酸を含む。

【0316】

免疫寛容もしくは免疫抑制（まとめて、負の免疫モジュレーション）を誘導するか、または免疫活性を増加させるために、小分子を使用して、E P O および／または E P O R を上方調節または下方調節することもできる。例えば、低酸素誘導因子（H I F）の阻害剤は、E P O／E P O R が媒介する免疫抑制を低減することができ、H I F－プロリルヒドロキシラーゼ（P H D）の阻害剤は、免疫寛容または免疫抑制を刺激することができる。

20

【0317】

低酸素誘導因子（H I F）は、低酸素活性化遺伝子発現のマスター調節因子として作用するヘリックス－ループ－ヘリックス転写因子であり、低酸素への適応を可能にする。H I F は、 α －サブユニット（酸素感受性）および β －サブユニット（構成的に発現され、アリール炭化水素受容体核輸送体（A R N T）とも呼ばれる）の 2 つのサブユニットによって構成されるヘテロ二量体複合体である。H I F－プロリルヒドロキシラーゼ（P H D）は、H I F の分解をもたらす、H I F の O₂ 感受性の負の調節因子である。そのため、P H D 阻害剤は、H I F シグナル伝達の活性化をもたらす。P H D 阻害剤は、H I F 活性を増加させることができ、これは、赤血球生成を刺激することができる。

30

【0318】

H I F－プロリルヒドロキシラーゼドメイン（P H D）と一緒に H I F 経路は、主に遺伝子発現の転写調節による低酸素環境への組織適応を媒介するための重要な酸素検知経路である転写因子である。H I F の阻害剤は、E P O／E P O R が媒介する免疫抑制を低減することができ、P H D の阻害剤は、免疫寛容または免疫抑制を刺激することができる。E P O は、典型的には、恒常性条件下で、循環中に低量で存在する。赤血球生成ストレスが、低酸素または貧血により生じると、これは、E P O 産生の劇的な増加をもたらす。低酸素は、多くのがんおよび一部の慢性状態の顕著な特徴であるので、H I F 転写因子の阻害は、腫瘍成長の低減、または慢性状態の緩和およびもしくは処置を促進することができる。

40

【0319】

H I F 転写因子は、酸素感受性 α －サブユニットおよび常に発現される β －サブユニットを有する。3 種の H I F－ α サブユニットが、現在公知である：H I F－1 α 、H I F－2 α 、および H I F－3 α 。低酸素条件下で、 α －サブユニットは、もはや分解せず、 β －サブユニットとヘテロ二量体を形成し、これは、遺伝子転写を活性化する。ヘテロ二量体形成を阻害することによって、遺伝子転写は活性化されず、これは、E P O 産生の阻害を含む低酸素に対する細胞応答の阻害をもたらす得る。

50

【0320】

HIFの阻害剤は、各種のメカニズムによりHIF経路活性を間接的に阻害することによってHIF活性を阻害する。HIFの阻害剤は、HIF-1 α タンパク質合成、HIF-1 α タンパク質安定化、HIF-1 α -HIF-1 β 二量体化、およびHIF-1二量体DNA結合、および他のタンパク質との相互作用を阻害することができる。一部の実施形態では、HIFの阻害剤は、HIF-1阻害剤である。

【0321】

HIFおよびPHD経路は、細胞および組織に対する低酸素応答と協調する。PHDは、HIF調節および低酸素応答を含むさまざまな細胞プロセスのために酸素分子を利用する、2-オキシグルタル酸(2OG)依存性オキシゲナーゼである。

10

【0322】

PHDの阻害剤は、HIF- α 分解を損なうことによってHIF経路を活性化するのに有用であり、これは、HIFシグナル伝達をもたらす。HIFシグナル伝達は、赤血球生成タンパク質(EPO)を刺激することができ、これは、アポトーシス細胞のクリアランスおよび免疫寛容を増強することができる。

【0323】

EPOを調節することができる他の経路としては、インターロイキン経路(例えば、IL-1 α 、IL-1 β 、およびIL-6)、腫瘍壊死因子(TNF- α)、エストロゲン受容体、ホスホリパーゼC、ガンマ1(ホスホリパーゼC- γ 1)、およびCbl/p85/Episin-1経路が挙げられる。

20

【0324】

インターロイキンは、免疫応答、炎症応答、および造血を調節する白血球細胞によって発現および分泌されるサイトカインである。ある特定のインターロイキンの阻害は、免疫系のためのインターロイキンの作用を抑制することができ、これは、EPO産生のアンタゴニスト性効果、およびヘテロ-EPOR活性の阻害をもたらす。

【0325】

TNF- α は、免疫細胞を調節するアディポカインおよびサイトカインである。TNF- α の阻害剤は、EPO誘導細胞の増殖のレベルを低減し、ヘテロEPOR活性を阻害することができる。

【0326】

エストロゲン受容体は、細胞内部で見出され、エストロゲンホルモンによって活性化される、タンパク質である。エストロゲン活性化後、エストロゲン受容体は、核にトランスロケーションし、DNAと結合して、異なる遺伝子の活性を調節することができる。エストロゲン受容体の活性化は、細胞増殖を促進することも見出されており、エストロゲン受容体を有する乳がん細胞では、同様に、機能的EPO受容体が見出されている。エストロゲン受容体の阻害剤およびアンタゴニストは、細胞増殖を阻害し、細胞成長のEPOR促進を阻害することができる。

30

【0327】

ホスホリパーゼC- γ 1は、細胞成長、遊走、増殖、およびアポトーシスに關与する細胞増殖因子タンパク質である。この細胞増殖因子の変異は、がん細胞増殖を介して、腫瘍成長をもたらす。加えて、EPOは、ホスホリパーゼC- γ 1の活性化を誘導することができる。ホスホリパーゼC- γ 1の阻害剤は、ホスホリパーゼC- γ 1の活性化を阻害することができ、それによって、ヘテロ-EPOR活性を阻害して、腫瘍成長を低減する。

40

【0328】

Cbl/p85/Episin-1経路は、EPO誘導EPOR内部移行を媒介し、それによって、EPOシグナル伝達を低減することができる。EPOは、p85調節性サブユニットのCbl依存性ユビキチン化を誘導することができ、これは、EPORにおけるホスホチロシナーゼの結合をもたらす。これは、EPORのエンドサイトーシスをもたらす。Cblは、受容体チロシンキナーゼのエンドサイトーシス下方調節において役割を果

50

たす E3 リガーゼである。Cbl/p85 活性化の促進は、EPO R のエンドサイトーシスをもたらし得、これは、EPO R 活性を低減する。

【0329】

一部の実施形態では、免疫抑制（まとめて、負の免疫モジュレーション）を誘導するか、または免疫活性を増加させるために、小分子を使用して、EPO を下方調節する。

【0330】

一部の実施形態では、組成物は、がんまたは慢性疾患を有する対象に投与され、化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含み、前記化合物は、前記対象の骨髄性細胞におけるヘテロ-エリスロポエチン（EPO）受容体活性を阻害する。

【0331】

一部の実施形態では、組成物は、がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与され、化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含み、前記化合物は、前記対象の骨髄性細胞におけるヘテロ-エリスロポエチン（EPO）受容体活性を阻害する。

【0332】

慢性疾患は、対象に対する長く続く効果が持続する疾患である。慢性疾患は、寛解期間を有することがあり、ここで、疾患は、一時的に、なくなるか、または再発する。慢性疾患は、対象の食事、ライフスタイルおよび代謝リスク因子を変更することによって、緩和され得る。これらは、対象によって行われ得る行動変化である。慢性疾患は、本明細書に記載される化合物を使用して処置することもできる。慢性疾患は、慢性感染性疾患または状態、および慢性非伝染性疾患の2つのカテゴリーに広く分類され得る。

【0333】

慢性感染性疾患は、伝染性感染によって引き起こされる慢性状態である。慢性感染性疾患の例としては、限定されるものではないが、ヒト免疫不全ウイルス感染および後天性免疫不全症候群（HIV/AIDS）、結核（TB）、ライム病、および移植片対宿主病が挙げられる。

【0334】

慢性非伝染性疾患としては、限定されるものではないが、がん、心血管疾患、慢性呼吸器疾患、および真性糖尿病が挙げられる。他の疾患としては、限定されるものではないが、アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病、自己免疫疾患、慢性肝炎、および慢性腎臓疾患が挙げられる。

【0335】

一部の実施形態では、組成物は、がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与され、化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含み、前記化合物は、免疫チェックポイント遮断に対する抵抗性が前記対象において逆転されるようにヘテロ-エリスロポエチン（EPO）受容体活性を阻害する。

【0336】

一部の実施形態では、ヘテロ-EPO受容体は、EPOサブユニットおよびCD131サブユニットを含む。一部の実施形態では、ヘテロ-EPO受容体は、マクロファージ、単球、樹状細胞、好塩基球、好中球、または好酸球上にある。

【0337】

一部の実施形態では、組成物は、化合物、または薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体から構成され、ヘテロ-エリスロポエチン（EPO）受容体の活性を阻害する。一部の実施形態では、そのような組成物は、対象におけるがんまたは慢性感染症状態を処置することができる。一部の実施形態では、がんは、肝細胞癌、結腸がん、乳がん、肺がん、脳がん、または黒色腫から選択される。別の実施形態では、慢性感染症状態は、臓器移植または皮膚移植を有する患者において発生する。

【0338】

一部の実施形態では、阻害活性は、骨髄性細胞において生じる。別の実施形態では、阻害活性は、免疫チェックポイント遮断に対する抵抗性の逆転をもたらす。一部の実施形態

10

20

30

40

50

では、阻害活性は、がん細胞集団の減少をもたらす。

【0339】

一部の実施形態では、免疫チェックポイント遮断は、CTLA-4、PD-1、またはPD-L1の阻害剤である。一部の実施形態では、免疫チェックポイント遮断は、PD-1またはPD-L1の阻害剤である。一部の実施形態では、免疫チェックポイント遮断は、CTLA-4の阻害剤である。一部の実施形態では、CTLA-4、PD-1、またはPD-L1の阻害剤は、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、セミプリマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、イピリムマブ、リリルマブ、およびBMS-986016である。

【0340】

一部の実施形態では、化合物は、低酸素誘導因子(HIF)、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、エストロゲン受容体、ホスホリパーゼC- γ 1、またはCb1/p85/Episin-1経路の阻害剤である。一部の実施形態では、化合物は、低酸素誘導因子(HIF)、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、またはエストロゲン受容体の阻害剤である。一部の実施形態では、化合物は、低酸素誘導因子(HIF)の阻害剤である。

【0341】

一部の実施形態では、化合物は、CAY10585(LW6)、ケトミン、クリシン、ジメチル-ビスフェノールA、エチノマイシン、2-メトキシエストラジオール(2ME2)、SYP-5、PX-478 2HCl、KC7F2、GN44028、ベルコペプチン、FM19G11、PT2399、PT2385、ベルズチファン、HIF-2 α -IN-1、HIF-2 α -IN-2、HIF-2 α -IN-3、HIF-2 α -IN-4、TC-S 700、IDF-11774、ペオニフロリン、エメチン塩酸塩、グルコサミン、PX12、ピテキシン、BAY 87-2243、リフィシグアト(YC-1)、ポリノスタット、タネスピマイシン、シリビニン、ジアリルトリスルフィド(DATS)、ヘルボキシジエン(GEX1A)、セラストロール、フェネチルイソチオシアネート(PEITC)、グリオトキシシン、スルフォラファン、アクリフラビン、エモジン、カルデノリド、3,3'-ジインドリルメタン(DIM)、シュードラル酸(pseudolaric acid)-B(PAB)、ババキニン、アンドログラホリド、イソリキリチゲニン、ウォンドニン(wondonin)、チモキノン、またはクルクミンから選択される。

【0342】

一部の実施形態では、化合物は、CAY10585(LW6)、ケトミン、クリシン、ジメチル-ビスフェノールA、エチノマイシン、2-メトキシエストラジオール(2ME2)、SYP-5、PX-478 2HCl、KC7F2、GN44028、ベルコペプチン、FM19G11、PT2399、PT2385、ベルズチファン、HIF-2 α -IN-1、HIF-2 α -IN-2、HIF-2 α -IN-3、HIF-2 α -IN-4、TC-S 700、IDF-11774、ペオニフロリン、エメチン塩酸塩、グルコサミン、PX12、ピテキシン、BAY 87-2243、リフィシグアト(YC-1)、ポリノスタット、またはタネスピマイシンである。

【0343】

ある特定の実施形態では、化合物は、ケトミン、エチノマイシン、PT2399、ベルズチファン、ポリノスタット、またはタネスピマイシンである。

【0344】

一部の実施形態では、前記化合物は、シリビニン、ジアリルトリスルフィド(DATS)、ヘルボキシジエン(GEX1A)、セラストロール、フェネチルイソチオシアネート(PEITC)、グリオトキシシン、スルフォラファン、アクリフラビン、エモジン、カルデノリド、3,3'-ジインドリルメタン(DIM)、シュードラル酸-B(PAB)、ババキニン、アンドログラホリド、イソリキリチゲニン、ウォンドニン、チモキノン、またはクルクミンから選択される。

【0345】

一部の実施形態では、免疫寛容を誘導するために、小分子を使用して、E P O Rを上方調節することもできる。

【0346】

一部の実施形態では、化合物、または薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含む組成物は、ヘテロ-エリスロポエチン（E P O）受容体の活性を促進する。一部の実施形態では、抗原に対する免疫寛容は、そのような組成物に曝露された対象において増加する。ある特定の実施形態では、化合物は、E P O受容体活性に対して実質的な効果を有さない。一部の実施形態では、E P O受容体は、少なくとも2つのE P O受容体サブユニットを含む。

10

【0347】

ヘテロ-エリスロポエチン（E P O）受容体活性を促進する化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含む対象に投与するための組成物である一部の実施形態では、前記ヘテロ-E P O受容体は、抗原に対する免疫寛容が前記対象において増加するようにE p o RサブユニットおよびC D 1 3 1サブユニットを含み、前記化合物は、ホモ-E P O受容体活性に対して実質的な効果を有さず、前記ホモ-E P O受容体は、少なくとも2つのE P O受容体サブユニットを含む。

【0348】

一部の実施形態では、化合物は、H I F-プロリルヒドロキシラーゼ（P H D）、N H F-4、G A T A因子、I L-1 7、A K T / N F k B / H I F 1経路、エストロゲン受容体、アンジオテンシンI I受容体、トポイソメラーゼI I、または上皮膜タンパク質1（E M P-1）の阻害剤である。

20

【0349】

一部の実施形態では、化合物は、H I F-プロリルヒドロキシラーゼ（P H D）、N H F-4、G A T A因子、アンジオテンシンI I受容体、トポイソメラーゼI I、またはI L-1 7の阻害剤である。

【0350】

一部の実施形態では、化合物は、H I F-プロリルヒドロキシラーゼ（P H D）の阻害剤である。

【0351】

一部の実施形態では、化合物は、ロキサデュスタット、バダデュスタット、エナロデュスタット、デシデュスタット、モリデュスタット、ジメチルオキサロイルグリシン、ダプロデュスタット、プロリルヒドロキシラーゼ阻害剤1、T M 6 0 8 9、T R C 1 6 0 3 3 4、P H D-1-I N-1、M K-8 6 1 7、J N J-4 2 0 4 1 9 3 5、T P 0 4 6 3 5 1 8、I O X（J I C L 3 8）、I O X 4、I O X 3（F G-2 2 1 6）、デンシチン（d e n c i c h i n）、H I F-P H D-I N-1、A K B-6 8 9 9、V H 2 9 8、M 1 0 0 1、M L 2 2 8、ジメチルオキサリルグリシン（D M O G）、ミトキサントロン、アンジオテンシンI I（A n g I I）、または1 7 β -エストラジオールから選択される。

30

【0352】

別の実施形態では、化合物は、ロキサデュスタット、バダデュスタット、エナロデュスタット、デシデュスタット、モリデュスタット、ジメチルオキサロイルグリシン、ダプロデュスタット、プロリルヒドロキシラーゼ阻害剤1、T M 6 0 8 9、T R C 1 6 0 3 3 4、P H D-1-I N-1、M K-8 6 1 7、J N J-4 2 0 4 1 9 3 5、T P 0 4 6 3 5 1 8、I O X（J I C L 3 8）、I O X 4、I O X 3（F G-2 2 1 6）、デンシチン、H I F-P H D-I N-1、A K B-6 8 9 9、V H 2 9 8、M 1 0 0 1、M L 2 2 8、ジメチルオキサリルグリシン（D M O G）から選択される。

40

【0353】

一部の実施形態では、化合物は、ミトキサントロン、アンジオテンシンI I（A n g I I）、または1 7 β -エストラジオールである。

50

【 0 3 5 4 】

ある特定の実施形態では、化合物は、E P O R アゴニストである。ある特定の実施形態では、化合物は、L G 5 6 4 0 である。

【 0 3 5 5 】

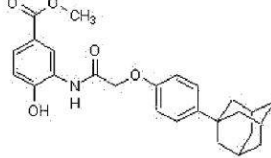
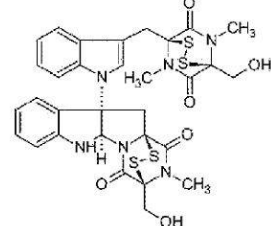
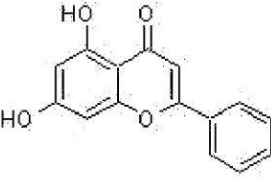
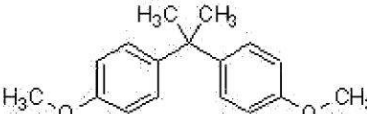
一部の実施形態では、免疫寛容は、移植された臓器または自己抗原に対するものである。

【 0 3 5 6 】

例示的なH I F の阻害剤は、下記の表 1 中である。

【表 1 A - 1 】

表1A. 低酸素誘導因子(HIF)の阻害剤

HIF 阻害剤	CAS 番号	標的	IC50	化学構造
CAY10585 (LW6)	934593-90-5	HIF-1a	0.7-2.6 uM	
ケトミン	1403-36-7	HIF-1a	10 nM	
クリシン	480-40-0	HIF-1a		
ジメチル ビスフェノールA	1568-83-8	HIF-1a		

10

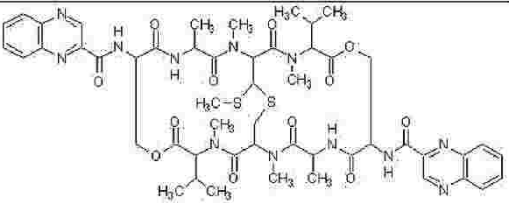
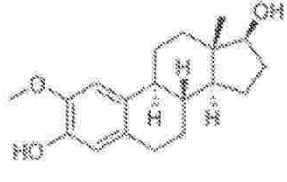
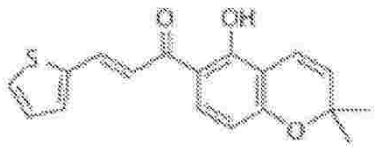
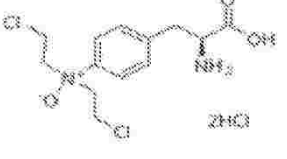
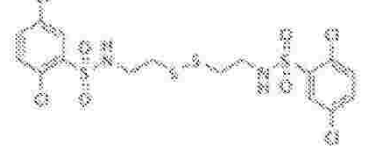
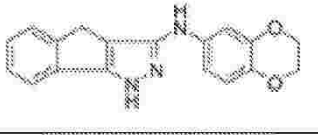
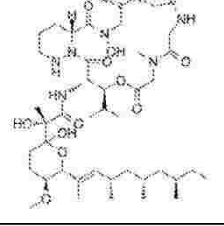
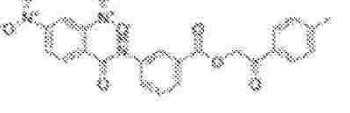
20

30

40

50

【表 1 A - 2】

エチノマイシン	512-64-1	HIF-1a	1.2 nM	
2- メトキシエストラジ オール (2ME2)	362-07-2	HIF-1a		
SYP-5	1384268-04- 5	HIF-1a		
PX-478 2HCl	685898-44-6	HIF-1a		
KC7F2	927822-86-4	HIF-1a	20 uM	
GN44028	1421448-26- 1	HIF-1a	14 nM	
ベルコペプチン	138067-14-8	HIF-1a	0.22 uM	
FM19G11	329932-55-0	HIF-1a	80 nM	

10

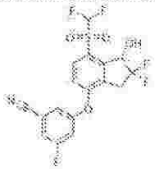
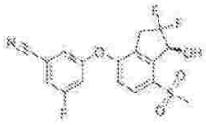
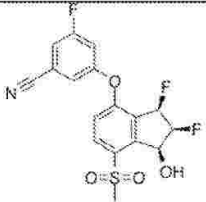
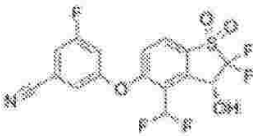
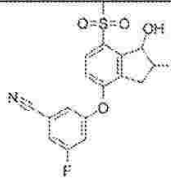
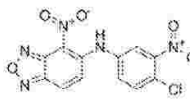
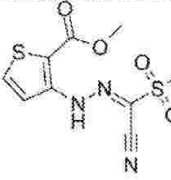
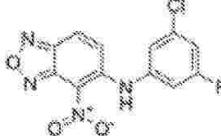
20

30

40

50

【表 1 A - 3】

PT2399	1672662-14-4	HIF-2a	6 nM	
PT2385	1672665-49-4	HIF-2a	27 nM	
ベルズチファン (PT2977)	1672668-24-4	HIF-2a	9 nM	
HIF-2α-IN-1	1799948-06-3	HIF-2a	0.5 uM	
HIF-2α-IN-2	1672666-82-8	HIF-2a	16 nM	
HIF-2α-IN-3	313964-19-1	HIF-2a	0.4 uM	
HIF-2α-IN-4	882268-69-1	HIF-2a	5 uM	
TC-S 700	1422955-31-4	HIF-2a	81 nM	

10

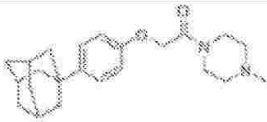
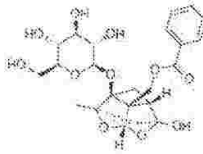
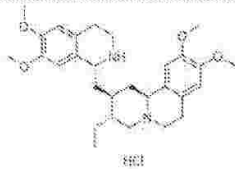
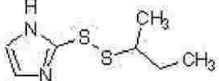
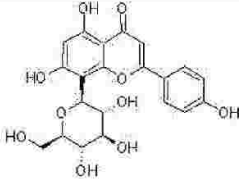
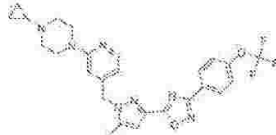
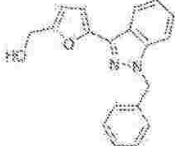
20

30

40

50

【表 1 A - 4】

IDF-11774	1429054-28-3		3.65 uM	
ペオニフロリン	23180-57-6			
エメチン塩酸塩	14198-59-5			
グルコサミン	3416-24-8			
PX12	141400-58-0	チオレドキシ ン-1		
ビテキシン	3681-93-4	グルコシダー ゼ	48 nM	
BAY 87-2243	1227158-85-1	ミトコンドリア 複合体 I		
リフィシグアト (YC-1)	170632-47-0	可溶性 グアニリルシ クラゼ (sGC) 活性化因子 および HIF-1α 阻害剤		

10

20

30

40

50

【表 1 A - 5】

ボリノスタット (SAHA, MK0683, Zolinza)	149647-78-9	HDAC	10 nM	
タネスピマイシン (17-AAG, CP127374, NSC-330507, KOS 953)	75747-14-7	HSP90	5 nM	

10

【表 1 B - 1】

表 1B. 低酸素誘導因子(HIF)の阻害剤(続き)

HIF 阻害剤	CAS 番号	標的	化学構造
シリピニン	22888-70-6	HIF-1*	
ジアリルトリスルフィド (DATS)	2050-87-5	HIF-1*	
ヘルボキシジエン (GEX1A)	142861-00- 5	HIF-1*	
セラストロール (トリプテリン)	34157-83-0	HIF-1*	

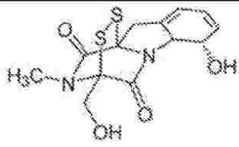
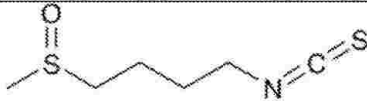
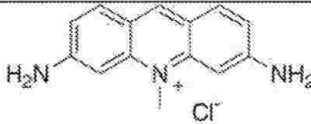
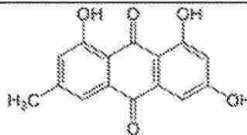
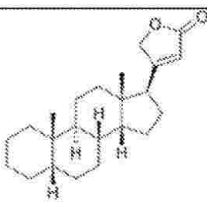
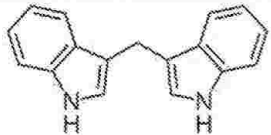
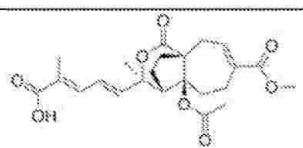
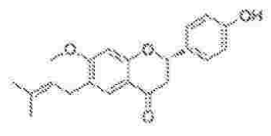
20

30

40

50

【表 1 B - 2】

フェネチル イソチオシアネート (PEITC)	2257-09-2	HIF-1*	
グリオトキシシン	67-99-2	HIF-1*	
スルフォラファン	4478-93-7	HIF-1*	
アクリフラビン	65589-70-0	HIF-1*	
エモジン	518-82-1	HIF-1*	
カルデノリド	52085-71-9	HIF-1*	
DIM (3, 3'- ジインドリルメタン)	1968-05-4	HIF-1*	
シュードラル酸 B (PAB)	82508-31-4	HIF-1*	
ババキニン	19879-30-2	HIF-1*	

10

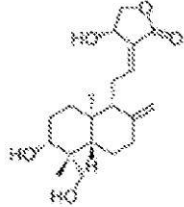
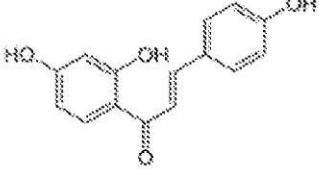
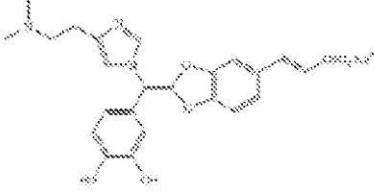
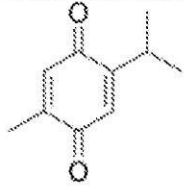
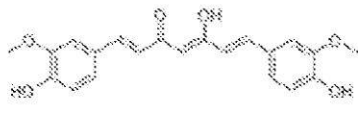
20

30

40

50

【表 1 B - 3】

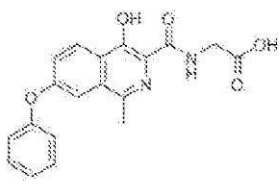
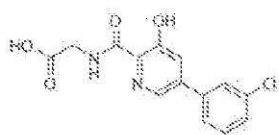
アンドログラホリド	5508-58-7	HIF-1*	
イソリキリチゲニン (ILTG)	961-29-5	HIF-1*	
ウオンドニン	336825-31-1	HIF-1*	
チモキノン	490-91-5	HIF-1*	
クルクミン	458-37-7	HIF-1*	

【 0 3 5 7 】

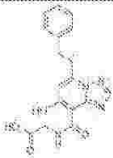
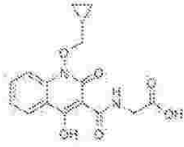
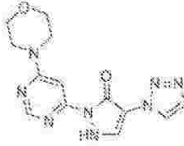
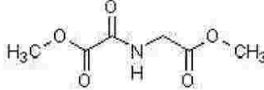
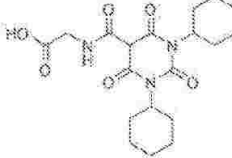
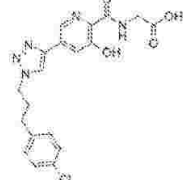
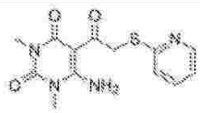
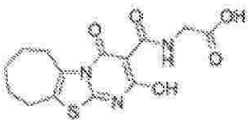
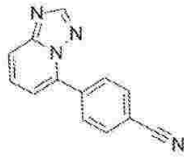
例示的なPHDの阻害剤は、下記の表2中である。

【表 2 - 1】

表 2. HIF-プロリルヒドロキシラーゼ(PHD)の阻害剤

PHD 阻害剤	CAS 番号	標的	IC50	化学構造
ロキサデュスタット (FG-4592)	808118-40-3	PHD		
バダデュスタット (AKB-6548, B-506, PG- 1016548)	1000025-07-9	PHD		

【表 2 - 2】

エナロデスタット (JTZ-951)	1262132-81- 9	PHD2	0.22- 5.7 uM	
デシデスタット (ZYAN1, ZYAN1-1001)	1616690-16- 4	PHD		
モリデスタット (BAY 85-3934)	1154028-82- 6	PHD	450 nM	
ジメチルオキサロイ ルグリニン	89464-63-1	PHD		
ダプロデスタット (GSK1278863)	960539-70-2	PHD		
プロリル ヒドロキシラーゼ 阻害剤1 (化合物15i)	2205125-60- 4	PHD	62.23 nM	
TM6089	863421-32-3	PHD		
TRC160334	1293289-69- 6	PHD		
PHD-1-IN-1	2009343-14- 8	PHD1	34 nM	

10

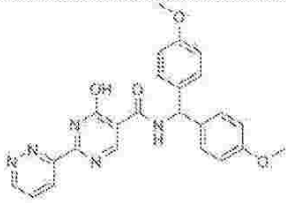
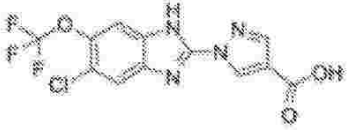
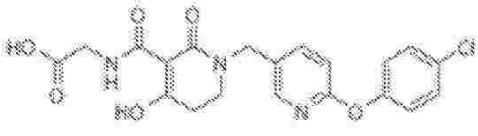
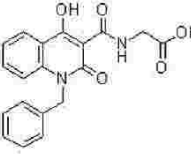
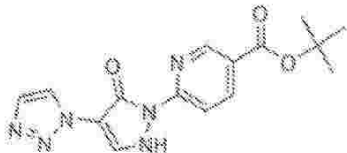
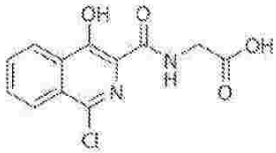
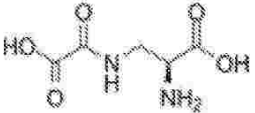
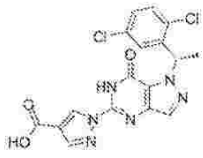
20

30

40

50

【表 2 - 3】

MK-8617	1187990-87-9	PHD1-3	1-14 nM	
JNJ-42041935	1193383-09-3	PHD1-3		
TP0463518	1558021-37-6	PHD1-3	5.3-63 nM	
IOX2 (JICL38)	931398-72-0	PHD2	21 nM	
IOX4	1154097-71-8	PHD2	1.6 nM	
IOX3 (FG-2216)	223387-75-5	PHD2	3.9 nM	
デシチン	5302-45-4	PHD2		
HIF-PHD-IN-1	1567657-46-8	PHD2	54 nM	

10

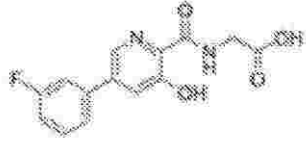
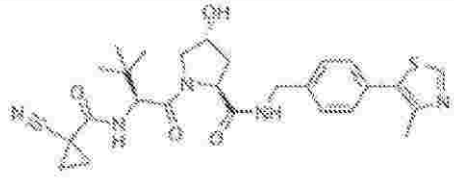
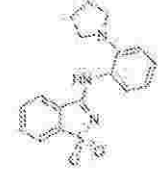
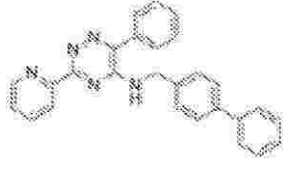
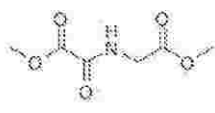
20

30

40

50

【表 2 - 4】

AKB-6899	1007377-55-0	PHD3		
VH298	2097381-85-4	VHL (フォン ヒッペル リンダウ、 E3リガーゼ)	80-90 nM	
M1001	874590-32-6	HIF-2a アゴニスト	0.67 uM	
ML228 (CID-46742353)	1357171-62-0		1 uM	
DMOG (ジメチルオキサリ ルグリシン)	89464-63-1	α -KGDH アンタゴニスト および PHD阻害剤		

10

20

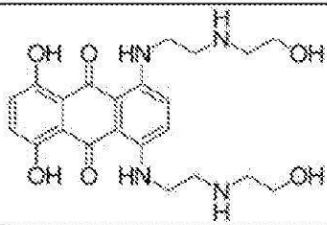
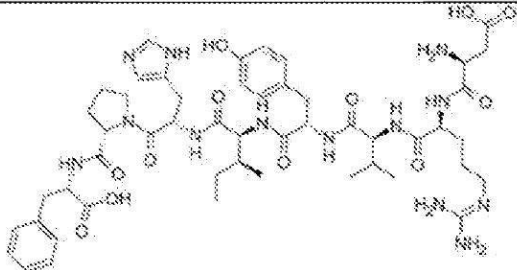
【 0 3 5 8 】

例示的な EPO を上方調節する因子は、下記の表 3 中である。

【表 3 - 1】

30

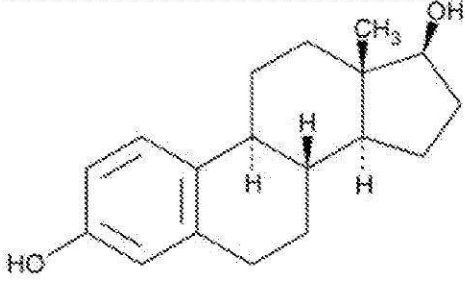
表 3. EPO を上方調節する因子

因子	CAS 番号	化学構造
ミトキサントロン	65271-80-9	
Ang II (アンジオテンシン II)	4474-91-3	

40

50

【表 3 - 2】

17ベータ-エストラジ オール (E2-β)	50-28-2	

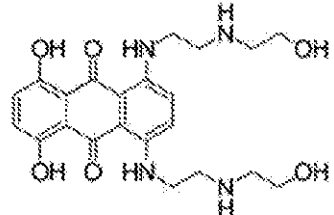
10

【0359】

例示的な EPO を下方調節する因子は、下記の表 4 中である。

【表 4 - 1】

表 4. EPO を下方調節する因子

因子	CAS 番号	標的	化学構造
ミキサントロン	65271-80-9	トポイソメラーゼ II 阻害剤	

20

【0360】

HIF 阻害剤を使用して、免疫抑制または免疫寛容（まとめて、負の免疫モジュレーション）を低減することができる。PHD 阻害剤を使用して、免疫抑制状態または免疫寛容を誘導することができる。

【0361】

医薬組成物

本開示の追加の実施形態は、抗 EPO R 抗体および／もしくは抗 CD131 抗体および／もしくは抗 EPO 抗体および／もしくは EPO アナログおよび／もしくは操作された EPO、または薬学的に許容されるその塩、溶媒和物もしくは水和物、ならびに 1 つまたは複数の薬学的に許容される添加物または担体を含む医薬組成物に関する。組成物は、必要に応じて、追加の治療剤を含有し得る。一般に、医薬組成物は、治療有効量の抗 EPO R 抗体および／または抗 CD131 抗体および／または抗 EPO 抗体および／または EPO アナログおよび／または操作された EPO、1 つまたは複数の薬学的に許容される添加物または担体、ならびに必要に応じて治療有効量の追加の治療剤を含み、治療的使用のための対象への投与のために製剤化される。

30

【0362】

医薬組成物は、一般に、例えば、連邦食品医薬品化粧品法第 501 条 (a) (2) (B) および医薬品規制調和国際会議 Q7 ガイドラインによって推奨または要求される通り、現在の優良医薬品製造基準 (GMP) に従って調製することができる。

40

【0363】

医薬組成物／製剤は、無菌形態で調製することができる。例えば、注射または注入による非経口投与のための医薬組成物／製剤は、一般に、無菌である。無菌医薬組成物／製剤は、当業者に公知の医薬グレードの滅菌標準、例えば、米国薬局方 797、1072 および 1211 章ならびに 21 Code of Federal Regulations 211 に開示されるものまたはそれによって要求されるものに従って調合または製造することができる。

【0364】

50

薬学的に許容される添加物および担体としては、薬学的に許容される物質、材料および／またはビヒクルが挙げられ得る。添加物の種類の非限定的な例としては、液体および固体フィラー、希釈剤、結合剤、滑沢剤、流動促進剤 (glidant)、界面活性剤、分散剤、崩壊剤、乳化剤、湿潤剤、懸濁化剤、増粘剤、溶媒、等張剤、緩衝液、pH調整剤、吸収遅延剤、安定剤、抗酸化剤、保存剤、抗菌剤、抗細菌剤、抗真菌剤、キレート化剤、アジュバント、甘味剤、矯味矯臭剤、着色剤、封入材料、およびコーティング材料が挙げられ得る。医薬製剤におけるそのような添加物の使用は、当技術分野において公知である。例えば、従来のビヒクルおよび担体としては、限定されるものではないが、油（例えば、植物油、例えば、オリーブ油およびゴマ油）、水性溶媒（例えば、食塩水、緩衝食塩水（例えば、リン酸緩衝食塩水 [PBS]）および等張溶液（例えば、リンゲル液））、および有機溶媒（例えば、ジメチルスルホキシド [DMSO] およびアルコール（例えば、エタノール、グリセロールおよびプロピレングリコール））が挙げられ得る。任意の従来の添加物または担体が、抗EPO R抗体、抗CD131抗体、抗EPO抗体、EPOアナログ、もしくは操作されたEPO、またはその断片と不適合である場合を除いて、本開示は、抗EPO R抗体、抗CD131抗体、抗EPO抗体、EPOアナログ、操作されたEPO、またはその断片を含有する製剤における従来の添加物および担体の使用を包含する。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott Williams & Wilkins (Philadelphia, Pennsylvania) (2005); Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5th Ed., Rowe et al., Eds., The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association (2005); Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd Ed., Ash and Ash, Eds., Gower Publishing Co. (2007); および Pharmaceutical Pre-formulation and Formulation, Gibson, Ed., CRC Press (Boca Raton, Florida) (2004)を参照されたい。

10

20

【0365】

適切な製剤は、選択された投与の経路などのさまざまな因子に依存し得る。抗EPO R抗体および／または抗CD131抗体および／または抗EPO抗体および／またはEPOアナログおよび／または操作されたEPOを含む医薬組成物の投与の可能性のある経路としては、限定されるものではないが、経口、非経口（皮内、皮下、筋肉内、血管内、静脈内、動脈内、腹腔内、髄内、髄腔内および局所を含む）、腔内、および局所（真皮／皮膚上、経皮、粘膜、経粘膜、鼻腔内（例えば、鼻スプレーまたは点鼻薬による）、眼内（例えば、点眼薬による）、肺（例えば、経口または鼻吸入による）、頬側、舌下、直腸（例えば、坐剤による）、および膣（例えば、坐剤による）を含む）が挙げられ得る。局所製剤は、局所性または全身性治療効果を生じるように設計することができる。ある特定の実施形態では、抗EPO R抗体および／もしくは抗CD131抗体および／もしくは抗EPO抗体および／もしくはEPOアナログおよび／もしくは操作されたEPO、またはその断片は、注射（例えば、ボラスとして）または所定期間にわたる注入によって非経口的に（例えば、静脈内、皮下、筋肉内または腹腔内）投与することができる。

30

【0366】

非経口製剤を調製するために使用することができる添加物および担体としては、限定されるものではないが、溶媒（例えば、水性溶媒、例えば、水、食塩水、生理食塩水、緩衝食塩水（例えば、リン酸緩衝食塩水）、平衡塩類溶液（例えば、リンゲルBSS）および水性デキストロス溶液）、等張剤／等浸透圧剤（例えば、塩（例えば、NaCl、KClおよびCaCl₂）および糖（例えば、スクロース））、緩衝化剤およびpH調整剤（例えば、リン酸二水素ナトリウム [一塩基性リン酸ナトリウム]／リン酸水素二ナトリウム [二塩基性リン酸ナトリウム]、クエン酸／クエン酸ナトリウムおよびL-ヒスチジン／L-ヒスチジンHCl）、および乳化剤（例えば、非イオン性界面活性剤、例えば、ポリソルベート（例えば、ポリソルベート20および80）およびポロキサマー（例えば、ポロキサマー188））が挙げられ得る。タンパク質製剤および送達システムは、例えば、A. J. Banga, Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Pr

40

50

rocessing, and Delivery Systems, 3rd Ed., CRC Press (Boca Raton, Florida) (2015)で議論されている。

【0367】

添加物は、必要に応じて、タンパク質の安定性を増加させるか、タンパク質の溶解度を増加させるか、タンパク質凝集を阻害するか、もしくは溶液の粘度を低減する1つもしくは複数の物質、またはその任意の組合せもしくはすべてを含み得る。そのような物質の例としては、限定されるものではないが、親水性アミノ酸（例えば、アルギニンおよびヒスチジン）、ポリオール（例えば、ミオイノシトール、マンニトールおよびソルビトール）、糖（例えば、グルコース（D-グルコース [デキストロース] を含む）、ラクトース、スクロースおよびトレハロース）、浸透圧調節物質（例えば、トレハロース、タウリン、アミノ酸 [例えば、グリシン、サルコシン、アラニン、プロリン、セリン、 β -アラニンおよび γ -アミノ酪酸]、およびベタイン [例えば、トリメチルグリシンおよびトリメチルアミンN-オキシド]）、および非イオン性界面活性剤（例えば、アルキルポリグリコシド、ProTek（登録商標）アルキルサッカライド (alkylsaccharide)（例えば、長鎖脂肪酸または対応する長鎖アルコールにカップリングされた単糖 [例えば、グルコース] または二糖 [例えば、マルトースまたはスクロース]）、およびポリプロピレングリコール/ポリエチレングリコールブロックコポリマー（例えば、ポロキサマー [例えば、Pluronic（登録商標）F-68]、およびGenapol（登録商標）PF-10およびそのバリエーション））が挙げられ得る。そのような物質は、タンパク質の溶解度を増加させ得るので、これらの物質を使用して、製剤中のタンパク質濃度を増加させることができる。製剤中のより高いタンパク質濃度は、皮下投与のために有利であり得、これは、制限された体積（例えば、 $\leq$ 約 1.5 mL）のボラス投与を有する。加えて、そのような物質を使用して、凍結乾燥タンパク質の調製、保管および再構成の間に、タンパク質を安定化することができる。

【0368】

非経口（例えば、静脈内、皮下または筋肉内）投与のために、1つまたは複数の添加物を含有する水性溶媒中の抗EPOR抗体および/または抗CD131抗体および/または抗EPO抗体および/またはEPOアナログおよび/または操作されたEPOの無菌の溶液または懸濁物を、あらかじめ調製することができ、例えば、プレフィルドシリンジで提供することができる。あるいは、抗EPOR抗体および/または抗CD131抗体および/または抗EPO抗体および/またはEPOアナログおよび/または操作されたEPOを、凍結乾燥（フリーズドライ）前に、必要に応じて、1つまたは複数の添加物を含み得る水性溶媒に溶解または懸濁することができる。非経口投与の直前に、好適な容器（例えば、バイアル）中で保管された凍結乾燥された抗EPOR抗体および/または抗CD131抗体および/または抗EPO抗体および/またはEPOアナログおよび/または操作されたEPOは、例えば、1つまたは複数の添加物を必要に応じて含み得る滅菌水で再構成することができる。抗EPOR抗体および/または抗CD131抗体および/または抗EPO抗体および/またはEPOアナログおよび/または操作されたEPOが、注入（例えば、静脈内）によって投与される場合、再構成された抗EPOR抗体および/または抗CD131抗体および/または抗EPO抗体および/またはEPOアナログおよび/または操作されたEPOの溶液または懸濁物を、例えば、無菌食塩水（例えば、約0.9%のNaCl）を含有する輸液バッグに添加および希釈することができる。

【0369】

より小さいタンパク質の経粘膜浸透を増強することができる添加物としては、限定されるものではないが、シクロデキストリン、アルキルサッカリド（例えば、アルキルグリコシドおよびアルキルマルトシド [例えば、テトラデシルマルトシド]）、および胆汁酸（例えば、コール酸、グリココール酸、タウロコール酸、デオキシコール酸、グリコデオキシコール酸、ケノデオキシコール酸およびデヒドロコール酸）が挙げられる。

【0370】

より小さいタンパク質の経上皮または経皮浸透を増強することができる添加物としては

、限定されるものではないが、化学的浸透増強剤（CPE、脂肪酸〔例えば、オレイン酸〕を含む）、細胞浸透性ペプチド〔CPP、アルギニンリッチCPP〔例えば、ポリアルギニン、例えば、R₆～R₁₁（例えば、R₆およびR₉）およびTAT関連CPP、例えば、TAT（49-57）〕および両親媒性CPP〔例えば、Pepp-1およびペネトラチン〕を含む〕、および皮膚浸透性ペプチド（SPP、例えば、皮膚浸透性および細胞侵入〔SPACE〕ペプチド）が挙げられる。より小さいタンパク質の経皮浸透は、物理的増強技法、例えば、イオントフォレーシス、キャビテーションまたは非キャビテーション超音波、電気穿孔、熱アブレーション、無線周波数、マイクロダーマブレーション（microdermabrasion）、マイクロニードルまたはジェット注射の使用によってさらに増強され得る。US 2007/0269379は、CPEの広範なリストを提供する。F. Milletti, Drug Discov. Today, 17:850-860 (2012)は、CPPの概説である。R. Ruan et al., Ther. Deliv., 7:89-100 (2016)は、巨大分子の経皮送達のためのCPPおよびSPPを議論しており、M. Prausnitz and R. Langer, Nat. Biotechnol., 26:1261-1268 (2008)は、各種の経皮薬物送達方法を議論している。

10

20

30

40

50

【0371】

抗EPOR抗体および／または抗CD131抗体および／または抗EPO抗体および／またはEPOアナログおよび／または操作されたEPOは、徐放性組成物から送達することができる。本明細書で使用される場合、「徐放性組成物」という用語は、徐放性、長期放出性、延長放出性、遅延放出性および制御放出性の組成物、システムおよびデバイスを包含し得る。タンパク質送達システムは、例えば、Banga（上記）において議論されている。徐放性組成物は、治療有効量の抗EPOR抗体および／または抗CD131抗体および／または抗EPO抗体および／またはEPOアナログおよび／または操作されたEPOを、長期間にわたって送達することができる。一部の実施形態では、徐放性組成物は、抗EPOR抗体および／または抗CD131抗体および／または抗EPO抗体および／またはEPOアナログおよび／または操作されたEPOを、少なくとも約3日、1週間、2週間、3週間、1か月（4週間）、6週間、2か月、3か月またはそれよりも長い期間にわたって、送達することができる。徐放性組成物は、例えば、非経口（例えば、静脈内、皮下または筋肉内）投与することができる。

【0372】

抗EPOR抗体および／または抗CD131抗体および／または抗EPO抗体および／またはEPOアナログおよび／または操作されたEPOの徐放性組成物は、例えば、粒子システム、脂質または油性組成物、またはインプラントの形態であり得る。粒子システムとしては、限定されるものではないが、ナノ粒子、ナノスフェア、ナノカプセル、マイクロ粒子、ミクロスフェア、およびマイクロカプセルが挙げられ得る。ナノ粒子システムは、一般に、約1 μmよりも小さい直径またはそれと同等の寸法を有し得る。ある特定の実施形態では、ナノ粒子、ナノスフェアまたはナノカプセルは、約500 nm、約400 nm、もしくは約300 nm以下、または約200 nm、約150 nm、もしくは約100 nm以下の直径、あるいはそれと同等の寸法を有し得る。ある態様では、マイクロ粒子、ミクロスフェアまたはマイクロカプセルは、約1～200 μm、約100～200 μm、または約50～150 μm、または約1～100 μm、約1～50 μm、または約50～100 μmの直径またはそれと同等の寸法を有し得る。ナノカプセルまたはマイクロカプセルは、典型的には、中央コア中に治療剤を含み得るが、治療剤は、典型的には、ナノ粒子もしくはマイクロ粒子、またはスフェア全体にわたって分散し得る。ある態様では、ナノ粒子システムは、静脈内投与することができるが、マイクロ粒子システムは、皮下または筋肉内投与することができる。

【0373】

ある態様では、徐放性粒子システムまたはインプラントは、生分解性ポリマーおよび／またはヒドロゲル製であり得る。ある特定の実施形態では、生分解性ポリマーは、乳酸および／またはグリコール酸〔例えば、L-乳酸系コポリマー、例えば、ポリ（L-ラクチ

ド-α-D-グルコリド) またはポリ(L-乳酸-α-D, L-2-ヒドロキシオクタン酸)] を含み得る。ヒドロゲルを構成し得るポリマーの非限定的な例としては、ポリビニルアルコール、アクリレートポリマー(例えば、ポリアクリル酸ナトリウム)、ならびに比較的多数の親水性基(例えば、ヒドロキシルまたは／およびカルボキシレート基)を有する他のホモポリマーおよびコポリマーが挙げられ得る。粒子システムまたはインプラントの生分解性ポリマーは、ポリマーが、処置の期間が終了すると予想されるおよその時に実質的に完全に分解し、その結果、ポリマーのようなポリマーの分解の副生成物が生体適合性であるように選択され得る。

【0374】

あるいは、タンパク質の徐放性組成物は、非生分解性ポリマーから構成され得る。非生分解性ポリマーの非限定的な例としては、ポロキサマー(例えば、ポロキサマー407)が挙げられ得る。タンパク質の徐放性組成物は、他の天然または合成物質または材料、例えば、ヒドロキシアパタイトから構成され得る。

【0375】

タンパク質の徐放性脂質または油性組成物は、例えば、リポソーム、ミセル(例えば、生分解性の天然または／および合成ポリマー、例えば、ラクトソームから構成されるもの)、または油中のエマルジョンの形態であり得る。

【0376】

徐放性組成物は、デポーとして製剤化または設計することができ、これは、例えば、皮下または筋肉内に、注射するか、または埋め込むことができる。デポーは、例えば、ポリマー粒子システム、ポリマーインプラント、または脂質もしくは油性組成物の形態であり得る。デポー製剤は、そのような混合物が粒子システムまたはインプラントを形成するか否かどうにかかわらず、生体適合性溶媒系中のタンパク質、および例えば、生分解性ポリマー[例えば、ポリ(ラクチド-α-D-グルコリド)] または半生分解性ポリマー(例えば、乳酸およびPEGのブロックコポリマー)の混合物を含み得る。

【0377】

医薬組成物は、単回用量として、単位剤形で存在することができ、ここで、すべての活性成分および非活性成分は、好適なシステム中で組み合わせられ、構成要素は、投与される組成物を形成するために混合される必要はない。単位剤形は、一般に、有効用量の治療剤を含み得る。単位剤形の代表的な例は、治療剤の非経口(例えば、静脈内、皮下または筋肉内)注射のための、プレフィルドシリンジ、ニードル、およびニードルカバーを含む使い捨てペンである。

【0378】

あるいは、医薬組成物は、キットとして提示され得、ここで、治療剤、添加物および担体(例えば、溶媒)は、2つまたはそれよりも多くの別々の容器(例えば、アンプル、バイアル、管、ボトルまたはシリンジ)で提供され、投与される組成物を形成するために組み合わせる必要がある。キットは、組成物(例えば、静脈内または皮下注射される溶液)を保管、調製および投与するための指示を含み得る。

【0379】

キットは、単位剤形中にすべての活性成分および非活性成分を、または2つもしくはそれよりも多くの別々の容器中に活性成分および非活性成分を含むことができ、医学的状態を処置するために医薬組成物を投与または使用するための指示を含有することができる。

【0380】

本明細書に記載されるRNA、RNAi、小分子および他の薬剤は、ナノ粒子として製剤化することができる。ナノ粒子は、約50~200nmの平均直径を有し得る。ナノ粒子は、脂質ナノ粒子であり得る。脂質ナノ粒子は、カチオン性脂質、中性脂質、PEG改変脂質、ステロール、または非カチオン性脂質を含み得る。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子は、約20~60%のカチオン性脂質、約0.5~15%のPEG改変脂質、約25~55%のステロール、および約25%の非カチオン性脂質のモル比を含み得る。カチオン性脂質は、イオン化可能なカチオン性脂質であり得、非カチオン性脂質は、中性脂質

10

20

30

40

50

であり得、および／またはステロールは、コレステロールであり得る。カチオン性脂質は、2, 2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1, 3]-ジオキソラン (DLin-KC2-DMA)、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート (DLin-MC3-DMA)、およびジ((Z)-ノナ-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート (L319) から選択することができる。

【0381】

脂質ナノ粒子製剤は、約20～70%のカチオン性脂質：約5～45%の中性脂質：約20～55%のコレステロール：および／または約0.5～15%のPEG改変脂質のモル比の脂質混合物から構成され得る。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子製剤は、約20～60%のカチオン性脂質：約5～25%の中性脂質：約25～55%のコレステロール：および／または約0.5～15%のPEG改変脂質のモル比の脂質混合物から構成され得る。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子製剤は、約35～45%のカチオン性脂質、約40%～50%のカチオン性脂質、約50%～60%のカチオン性脂質、および／または約55%～65%のカチオン性脂質から構成され得る。一部の実施形態では、脂質ナノ粒子における脂質のRNA (例えば、mRNA) に対する比は、約5：1～約20：1、約10：1～約25：1、約15：1～約30：1、および／または少なくとも約30：1であり得る。

【0382】

脂質ナノ粒子製剤は、モル基準で、約0.5%～約15%の中性脂質、例えば、モル基準で、約3～12%、約5～10%、または約15%、約10%、もしくは約7.5%の中性脂質を含み得る。中性脂質の例としては、限定されるものではないが、DSPC、POPC、DPPC、DOPEおよびSMが挙げられ得る。

【0383】

製剤は、モル基準で約5%～約50%のステロール (例えば、モル基準で、約15～45%、約20～40%、約40%、約38.5%、約35%、または約31%) を含み得る。ステロールの非限定的な例としては、コレステロールが挙げられ得る。

【0384】

脂質ナノ粒子製剤は、モル基準で、約0.5%～約20%のPEGまたはPEG改変脂質 (例えば、モル基準で、約0.5～10%、約0.5～5%、約1.5%、約0.5%、約1.5%、約3.5%、または約5%) を含み得る。PEGまたはPEG改変脂質は、約2,000Daの平均分子量のPEG分子を含む。PEGまたはPEG改変脂質は、約2,000Da未満、例えば、約1,500Da、約1,000Da、または約500Daの平均分子量のPEG分子を含み得る。PEG改変脂質の非限定的な例としては、PEG-ジステアロイルグリセロール (PEG-DMG) (本明細書でPEG-C14またはC14-PEGとも称される)、およびPEG-cDMA (Reyes et al. J. Controlled Release, 107, 276-287 (2005)でさらに議論され、その内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる) が挙げられ得る。

【0385】

脂質ナノ粒子製剤におけるPEGの比は、増加もしくは減少させてもよく、および／またはPEG脂質の炭素鎖の長さは、脂質ナノ粒子製剤の薬物動態および／または生体内分布を変更するために、C14～C18で改変されてもよい。非限定的な例として、脂質ナノ粒子製剤は、カチオン性脂質、DSPCおよびコレステロールと比較して、約0.5%～約3.0%、約1.0%～約3.5%、約1.5%～約4.0%、約2.0%～約4.5%、約2.5%～約5.0%および／または約3.0%～約6.0%の脂質モル比のPEG-c-DOMG (R-3-[(オメガ-メトキシポリ(エチレングリコール) 2000) カルバモイル)]-1, 2-ジミリスチルオキシプロピル-3-アミン) (本明細書でPEG-DOMGと称される) を含有し得る。PEG-c-DOMGは、限定されるものではないが、PEG-DSG (1, 2-ジステアロイル-sn-グリセロール、メトキシポリエチレングリコール)、PEG-DMG (1, 2-ジミリスチル-sn-

グリセロール) および/または PEG-DPG (1, 2-ジパルミトイル-sn-グリセロール、メトキシポリエチレングリコール) を含む PEG 脂質で置き換えられてもよい。カチオン性脂質は、限定されるものではないが、DLin-MC3-DMA、DLin-DMA、C12-200 および DLin-KC2-DMA を含む、当技術分野において公知の任意の脂質から選択されてもよい。

【0386】

モル脂質比は、50/10/38.5/1.5 (mol%、カチオン性脂質/中性脂質、例えば、DSPC/Chol/PEG 改変脂質、例えば、PEG-DMG、PEG-DSG または PEG-DPG)、57.2/7.1134.3/1.4 (mol%、カチオン性脂質/中性脂質、例えば、DPPC/Chol/PEG 改変脂質、例えば、PEG-cDMA)、40/15/40/5 (mol%、カチオン性脂質/中性脂質、例えば、DSPC/Chol/PEG 改変脂質、例えば、PEG-DMG)、50/10/35/4.5/0.5 (mol%、カチオン性脂質/中性脂質、例えば、DSPC/Chol/PEG 改変脂質、例えば、PEG-DSG)、50/10/35/5 (カチオン性脂質/中性脂質、例えば、DSPC/Chol/PEG 改変脂質、例えば、PEG-DMG)、40/10/40/10 (mol%、カチオン性脂質/中性脂質、例えば、DSPC/Chol/PEG 改変脂質、例えば、PEG-DMG または PEG-cDMA)、35/15/40/10 (mol%、カチオン性脂質/中性脂質、例えば、DSPC/Chol/PEG 改変脂質、例えば、PEG-DMG または PEG-cDMA) または 52/13/30/5 (mol%、カチオン性脂質/中性脂質、例えば、DSPC/Chol/PEG 改変脂質、例えば、PEG-DMG または PEG-cDMA) であり得る。

【0387】

アミノアルコールカチオン性脂質は、米国特許公開第 US 20130150625 号に記載されるか、および/またはそれに記載される方法によって作製される脂質であり得、これは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。非限定的な例として、カチオン性脂質は、2-アミノ-3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]-2-{[(9Z, 2Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]メチル}プロパン-1-オール (US 20130150625 の化合物 1); 2-アミノ-3-[(9Z)-オクタデカ-9-エン-1-イルオキシ]-2-{[(9Z)-オクタデカ-9-エン-1-イルオキシ]メチル-1}プロパン-1-オール (US 20130150625 の化合物 2); 2-アミノ-3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]-2-[(オクチルオキシ)メチル]プロパン-1-オール (US 20130150625 の化合物 3); および 2-(ジメチルアミノ)-3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]-2-{[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]メチル}プロパン-1-オール (US 20130150625 の化合物 4); または任意の薬学的に許容されるその塩もしくは立体異性体であり得る。

【0388】

脂質ナノ粒子製剤は、20~60%のカチオン性脂質:5~25%の中性脂質:25~55%のステロール;0.5~15%のPEG-脂質のモル比の、(i)2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン (DLin-KC2-DMA)、ジリノレイル-メチル-4-ジメチルアミノブチレート (DLin-MC3-DMA)、およびジ((Z)-ノナ-2-エン-1-イル)9-((4-(ジメチルアミノ)ブタノイル)オキシ)ヘプタデカンジオエート (L319) からなる群より選択される少なくとも1つの脂質;(ii)DSPC、DPPC、POPC、DOPE および SM から選択される中性脂質;(iii)ステロール、例えば、コレステロール;ならびに(iv)PEG-脂質、例えば、PEG-DMG または PEG-cDMA から構成され得る。

【0389】

脂質ナノ粒子組成物およびそれを作製する方法の例は、例えば、Cifuentes-Rius et al., (2021) Nature Nanotechnol. 16:37-46; Hou et al., (2021) Nat

10

20

30

40

50

ure Rev. 6:1078-1094; Jang et al., (2021) Int. J. Med. Sci. 22:10009 (doi.org/10.3390/ijms221810009); Semple et al. (2010) Nat. Biotechnol. 28:172-176; Jayarama et al. (2012), Angew. Chem. Int. Ed., 51: 8529-8533; および Maier et al. (2013) Molecular Therapy 21, 1570-1578 (これらのそれぞれは、すべての目的のために、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる)に記載されている。

【0390】

脂質ナノ粒子製剤は、カチオン性脂質構成要素の選択、カチオン性脂質の飽和度、PEG化の性質、すべての構成要素の比、およびサイズなどの生物物理学的パラメーターによって影響を受け得る。例えば、Semple et al. (Nature Biotech. 2010 28:172-176)では、脂質ナノ粒子製剤は、57.1%のカチオン性脂質、7.1%のジパルミトイルホスファチジルコリン、34.3%のコレステロール、および1.4%のPEG-c-DMAから構成される。別の例として、カチオン性脂質の組成を変化させることで、siRNAをさまざまな抗原提示細胞に、より有効に送達することができる (Basha et al. Mol Ther. 2011 19:2186-2200、これは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる)。

【0391】

キットは、抗EPORおよび／もしくは抗CD131抗体および／もしくは抗EPO抗体および／もしくはEPOアナログおよび／もしくは操作されたEPO、またはそれを含む医薬組成物、ならびに抗体関連状態を処置するための、抗EPOR抗体および／もしくは抗CD131抗体および／もしくは抗EPO抗体および／もしくはEPOアナログおよび／もしくは操作されたEPO、またはそれを含む医薬組成物を投与または使用するための指示を含有し得る。

【0392】

一部の態様では、抗EPO抗体、抗EPOR抗体、抗CD131抗体、EPOアナログ、または操作されたEPOを含む細胞が本明細書に提供される。一部の実施形態では、細胞は、免疫細胞を含み得る。免疫細胞の例としては、限定されるものではないが、マクロファージ、樹状細胞、T細胞、ナチュラルキラー細胞、またはB細胞が挙げられ得る。一部の実施形態では、T細胞は、細胞傷害性T細胞を含み得る。一部の実施形態では、細胞は、骨髄性細胞を含み得る。一部の実施形態では、骨髄性細胞は、顆粒球、単球、マクロファージ、または樹状細胞を含み得る。一部の実施形態では、細胞は、赤血球前駆細胞である。一部の実施形態では、細胞は、内皮細胞を含み得る。

【0393】

抗EPOR抗体、抗CD131抗体、抗EPO抗体、および／またはEPOアナログ／操作されたEPOの使用

一態様では、ヘテロ-EPORに対するアンタゴニストであるEPOアナログまたは操作されたEPO、ヘテロ-EPORに対するアンタゴニストである抗ヘテロ-EPOR抗体、および／またはヘテロ-EPORへの結合を阻害する抗EPO抗体、および／またはEPORを標的化するsiRNAを使用するEPORのノックダウンを使用して、対象における免疫抑制または寛容原性状態を克服することができる。例えば、これらのEPOアナログ、操作されたEPO、抗ヘテロ-EPOR抗体、および／または抗EPO抗体、および／またはEPORを標的化するsiRNAを使用するEPORのノックダウンを使用して、腫瘍免疫抑制微小環境を克服し、ワクチンに対する免疫応答をブーストし、疾患 (例えば、微生物またはウイルスからの感染症) に対する急性炎症応答の間に免疫応答を増強し、および／または慢性感染性疾患もしくは状態を処置することができる。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORに対するアンタゴニストである、EPOアナログ、抗ヘテロ-EPOR抗体、抗CD131抗体および／または抗EPO抗体は、免疫寛容を阻害することができる。一部の実施形態では、免疫寛容を阻害することは、免疫応答を促進または増加させることを含み得る。例えば、免疫寛容を阻害することは、ワクチン、ウイルス感染、細菌感染、または腫瘍抗原 (例えば、がんによって産生された抗原) に対する免疫応

答を増加させることを含み得る。

【0394】

一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストである、E P O アナログ、抗ヘテロ-E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体および／または抗 E P O 抗体は、エフェクター T 細胞へのナイーブ T 細胞の分化を促進することができる。本明細書に記載されるエフェクター T 細胞のためのマーカーとしては、限定されるものではないが、表面抗原分類 4 5 (C D 4 5)、C D 3、C D 8、パーフォリン、インターフェロンガンマ (I F N γ)、グランザイム B、または腫瘍壊死因子アルファ (T N F α) が挙げられ得る。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストである、E P O アナログ、抗ヘテロ-E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体および／または抗 E P O 抗体は、調節性 T 細胞へのナイーブ T 細胞の分化を阻害することができる。本明細書に記載される調節性 T 細胞のためのマーカーとしては、限定されるものではないが、表面抗原分類 4 (C D 4)、C D 2 5、C D 1 2 7、フォークヘッドボックス P 3 (F o x P 3)、C D 3 9、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体 C 型 (C D 4 5 R A)、インターロイキン-2 (I L - 2)、または細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (C T L A - 4) が挙げられ得る。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストである、E P O アナログ、抗ヘテロ-E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体および／または抗 E P O 抗体は、前駆消耗 T 細胞の数を増加させることができる。前駆消耗 T 細胞のためのマーカーとしては、限定されるものではないが、表面抗原分類 4 4 (C D 4 4)、シグナル伝達リンパ球活性化分子ファミリーメンバー 6 (S L A M F 6) または T 細胞因子 1 (T C F 1) が挙げられ得る。

10

20

【0395】

一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストである、E P O アナログ、抗ヘテロ-E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体および／または抗 E P O 抗体は、がんにおける免疫応答を刺激することができる。例えば、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストである、E P O アナログ、抗ヘテロ-E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体および／または抗 E P O 抗体は、がん細胞を、免疫チェックポイント阻害剤に対して感受性にし得る。免疫チェックポイント阻害剤の例としては、限定されるものではないが、P D - 1 阻害剤、P D - L 1 阻害剤、および／または C T L A - 4 阻害剤が挙げられ得る。一部の実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗 C T L A - 4 抗体、抗 P D - 1 抗体、抗 P D - L 1 抗体、またはその機能的断片、またはその組合せを含み得る。一部の実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、セミプリマブ、アテゾリズマブ (Atezolimumab)、デュルバルマブ、アベルマブ、またはイピリムマブを含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストである、E P O アナログ、抗ヘテロ-E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体および／または抗 E P O 抗体は、腫瘍成長を減弱することができる。一部の実施形態では、ヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストである、E P O アナログ、抗ヘテロ-E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体および／または抗 E P O 抗体は、がんのサイズを低減するか、またはがんの成長を減弱することができる。

30

【0396】

腫瘍は、頻繁に、免疫寛容原性または抑制機能により、骨髄性細胞に浸潤する。骨髄性細胞の例としては、限定されるものではないが、顆粒球、単球、マクロファージ (M Φ)、または樹状細胞 (D C) が挙げられる。ヘテロ-E P O R は、樹状細胞 (D C) およびマクロファージ (M Φ) の両方を含むそのような腫瘍浸潤性骨髄性細胞に広く存在し、上方調節され、免疫寛容または抑制に寄与する。アンタゴニスト性抗ヘテロ-E P O R 抗体、および／またはヘテロ-E P O R への結合を阻害する抗 E P O 抗体、および／またはヘテロ-E P O R に対するアンタゴニストである E P O アナログ／操作された E P O は、(例えば、骨髄性細胞における) ヘテロ-E P O R の活性化を遮断することができ、免疫抑制および抗原特異的免疫寛容を防止し、それによって、有効な抗腫瘍免疫を可能にし得る。一部の実施形態では、抗体および／または E P O アナログ／操作された E P O は、ホモ

40

50

ーEPO Rと結合できず、その結果、赤血球生成を妨げない。そのような抗EPO抗体の結合エピトープは、EPOのヘリックスB中にあり得る。ヘテローEPO R媒介免疫寛容を逆転させるそのような遮断抗体の能力は、各種のがんモデル、例えば、肝臓の肝細胞癌、結腸直腸がん、乳がん、脳がん、肝臓転移、およびリンパ節転移などにおいて検証され得る。がんに加えて、一部の実施形態では、ヘテローEPO Rに対するアンタゴニストである、EPOアナログ、抗ヘテローEPO R抗体、抗CD131抗体および／または抗EPO抗体を使用して、慢性感染症を処置することができる。例えば、慢性ウイルス感染症（例えば、B型肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス、ヒトパピローマウイルス、Covid-19、インフルエンザ、ヒト免疫不全ウイルス、髄膜炎、肺炎、ロタウイルス、水疱など）および／または慢性細菌感染症（例えば、*Mycobacterium tuberculosis*、真菌、炭疽菌、破傷風、レプトスピラ症、コレラ、ボツリヌス症、シュドモナス、肺炎、*E. Coli*、淋病、腺ペスト、梅毒、メチシリン耐性*Staphylococcus aureus*、髄膜炎など）を、同様に処置することができる。これらの抗体および／またはアナログ／操作されたタンパク質を使用して、T細胞（例えば、細胞傷害性T細胞、CAR T細胞、またはTCRで操作されたT細胞）またはナチュラルキラー細胞（例えば、CARまたはT細胞受容体で操作されたNK細胞）についての免疫寛容原性および／または免疫抑制状態を低減することもできる。

【0397】

本明細書に記載されるアナログ／操作されたタンパク質および抗体で処置され得る新生物、腫瘍およびがんとしては、例えば、良性、悪性、転移性および非転移型を含み得、任意のステージ（I、II、III、IVまたはV）もしくはグレード（G1、G2、G3など）の新生物、腫瘍もしくはがん、または進行中の、悪化している、安定化された、もしくは、寛解中の、新生物、腫瘍、がんもしくは転移を含み得る。本発明に従って処置され得るがんとしては、限定されるものではないが、膀胱、血液、骨、骨髄、脳、乳房、結腸、食道、胃腸管、歯肉、頭部、腎臓、肝臓、肺、鼻咽頭、頸部、卵巣、前立腺、皮膚、胃、精巣、舌、または子宮の細胞または新生物が挙げられる。加えて、がんは、詳細には、以下の組織学型のものであり得るが、これは、以下に限定されない：悪性新生物；癌腫；未分化型；巨細胞および紡錘細胞癌；小細胞癌；乳頭状癌；扁平上皮癌；リンパ上皮癌；基底細胞癌；ピロマトリックス癌（*pilomatric carcinoma*）；移行上皮癌；乳頭状移行上皮癌；腺癌；悪性ガストリノーマ；胆管細胞癌；肝細胞癌；混合型肝細胞癌および胆管細胞癌；小柱腺癌（*trabecular adenocarcinoma*）；腺様嚢胞癌；腺腫性ポリープの腺癌；家族性大腸ポリポーシスの腺癌；固形癌；悪性カルチノイド腫瘍；細気管支肺腺癌；乳頭状腺癌；嫌色素性癌；好酸性癌；好酸性腺癌；好塩基性癌；明細胞腺癌；顆粒細胞癌；濾胞状腺癌；乳頭状および濾胞状腺癌；非被包性硬化性癌；副腎皮質癌；類内膜癌（*endometrioid carcinoma*）；皮膚付属器癌；アポクリン腺癌；皮脂腺癌；耳道腺癌；粘膜表皮癌；嚢胞腺癌；乳頭状嚢腺癌；乳頭状漿液性嚢胞腺癌；粘液性嚢胞腺癌；粘液腺癌；印環細胞癌；浸潤性腺管癌；髄様癌；小葉癌；炎症性癌；乳房のパジェット病；腺房細胞癌；腺扁平上皮癌；扁平上皮化生を伴う腺癌；悪性胸腺腫；悪性卵巣間質腫瘍；悪性莢膜細胞腫；悪性顆粒膜細胞腫；悪性セルトリ間質細胞腫瘍；セルトリ細胞癌；悪性ライディッヒ細胞腫瘍；悪性脂質細胞腫瘍；悪性傍神経節腫；悪性乳房外傍神経節腫；褐色細胞腫；グロムス血管肉腫（*glomangiosarcoma*）；悪性黒色腫；無色素性黒色腫；表在拡大型黒色腫；巨大色素性母斑における悪性黒色腫；類上皮細胞黒色腫；悪性青色母斑；肉腫；線維肉腫；悪性線維性組織球腫；粘液肉腫；脂肪肉腫；平滑筋肉腫；横紋筋肉腫；胎児性横紋筋肉腫；胞巣状横紋筋肉腫；間質肉腫；混合腫瘍；ミューラー混合腫瘍；腎芽細胞腫；肝芽腫；癌肉腫；悪性間葉腫；悪性ブレンナー腫瘍；悪性葉状腫瘍；滑膜肉腫；悪性中皮腫；未分化胚細胞腫；胚性癌腫；悪性奇形腫；悪性卵巣甲状腺腫；絨毛癌；悪性中腎腫；血管肉腫；悪性血管内皮腫；カポジ肉腫；悪性血管周囲細胞腫；リンパ管肉腫；骨肉腫；傍骨性骨肉腫；軟骨肉腫；悪性軟骨芽細胞腫；間葉性軟骨肉腫；骨の巨細胞腫；ユーイング肉腫；悪性歯原性腫瘍；エナメル芽細胞歯牙肉腫（*ameloblastic odont*

10

20

30

40

50

osarcoma) ; 悪性エナメル上皮腫 ; エナメル芽細胞線維肉腫 (ameloblastic fibrosarcoma) ; 悪性松果体腫 ; 脊索腫 ; 悪性神経膠腫 ; 上衣腫 ; 星状細胞腫 ; 原形質性星状細胞腫 (protoplasmic astrocytoma) ; 線維性星状細胞腫 ; 星状芽細胞腫 ; 神経膠芽腫 ; 乏突起神経膠腫 ; 乏突起膠芽細胞腫 (oligodendroblastoma) ; 原始神経外胚葉性腫瘍 ; 小脳肉腫 ; 神経節芽細胞腫 ; 神経芽細胞腫 ; 網膜芽細胞腫 ; 嗅神経原性腫瘍 ; 悪性髄膜腫 ; 神経線維肉腫 ; 悪性神経鞘腫 ; 悪性顆粒細胞腫 ; 悪性リンパ腫 ; ホジキン病 ; ホジキン ; 側肉芽腫 (paragranuloma) ; 小リンパ球性悪性リンパ腫 ; 大細胞びまん性悪性リンパ腫 ; 濾胞性悪性リンパ腫 ; 菌状息肉腫 ; 他の特定された非ホジキンリンパ腫 ; 悪性組織球増殖症 ; 多発性骨髄腫 ; 肥満細胞肉腫 ; 免疫増殖性小腸疾患 ; 白血病 ; リンパ性白血病 ; 形質細胞白血病 ; 赤白血病 ; リンパ肉腫細胞性白血病 ; 骨髄性白血病 ; 好塩基球性白血病 ; 好酸球性白血病 ; 単球性白血病 ; 肥満細胞性白血病 ; 巨核芽球性白血病 ; 骨髄性肉腫 ; およびヘアリー細胞白血病。一部の実施形態では、新生物疾患は、前立腺がん、肝臓がん、腎臓がん、肺がん、乳がん、結腸直腸がん、すい臓がん、脳がん、肝細胞がん、リンパ腫、白血病、胃がん、子宮頸がん、卵巣がん、甲状腺がん、黒色腫、頭頸部がん、皮膚がんおよび軟部肉腫、ならびに／または他の形態の癌腫から選択されるがんに関連する腫瘍であり得る。腫瘍は、転移性または悪性腫瘍であり得る。

10

【0398】

有効なワクチン接種は、いくつかの病理学的状態のために困難であり得る。特異抗原の存在下でヘテロ-EPO Rシグナル伝達を遮断することは、抗原特異的免疫の促進に有効であり得る。これは、抗原および上記で述べたアンタゴニスト性EPOアナログ／操作されたEPO、アンタゴニスト性抗ヘテロ-EPO R抗体、および／またはEPOがヘテロ-EPO Rと相互作用するのを阻害して、免疫応答を増強する抗EPO抗体により、ヘテロ-EPO R発現樹状細胞を標的化することによって達成され得る。これは、抗原のmRNA、およびヘテロ二量体受容体またはその下流の細胞内シグナル伝達経路のいずれかで作用するヘテロ-EPO Rシグナル伝達経路の阻害剤を封入するナノ粒子によっても達成され得る。例示的なワクチンとしては、HIV、HCV、HSV、HBV、がんワクチン、ならびに／または反復注射を必要とするか、および／もしくは免疫が短命である、ウイルスが引き起こす疾患、例えば、HBV、COVID、インフルエンザA、および／または帯状疱疹のためのワクチンが挙げられ得る。

20

30

【0399】

別の態様では、ヘテロ-EPO Rに対するアゴニストであるEPOアナログもしくは操作されたEPO、および／またはヘテロ-EPO Rに対するアゴニストである抗EPO R抗体、および／またはヘテロ-EPO Rに対するアゴニストである抗CD131抗体を使用して、対象における免疫抑制または寛容原性状態を誘導することができる。例えば、これらのEPOアナログ／操作されたEPO、抗ヘテロ-EPO R抗体、および／または抗EPO抗体を使用して、移植拒絶反応を抑制し、特異抗原に対する免疫寛容を誘導し、自己免疫疾患における免疫反応を低減し、全身性慢性炎症を低減し、傷害または他のストレスの間に神経組織および他の組織に対する損傷を低減することができる。

40

【0400】

臓器移植および骨髄移植では、例えば、移植された臓器の生着を促進し、移植片対宿主病 (GVHD) を防止し、非常に毒性の免疫抑制薬の使用を回避する、免疫寛容、特に、抗原特異的免疫寛容が所望される。ヘテロ-EPO Rに対するアゴニスト性抗体、またはヘテロ-EPO Rに対するアゴニストであるEPOアナログ／操作されたEPOは、免疫寛容を促進することができる。例えば、ヘテロ-EPO Rに対するアゴニストとして作用し得る、抗EPO抗体、抗ヘテロ-EPO R抗体、EPOアナログ、操作されたEPOは、臓器移植または外来治療用タンパク質を受けた対象における免疫寛容を促進し得る。移植される臓器の例は、限定されるものではないが、骨髄、腎臓、肝臓、肺、または心臓を含み得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPO Rに対するアゴニスト性抗体、またはヘテロ-EPO Rに対するアゴニストであるEPOアナログ／操作されたEPOは、ホモ-

50

E P O R と結合できない。一部の実施形態では、ヘテロー E P O R に対するアゴニスト性抗体、またはヘテロー E P O R に対するアゴニストである E P O アナログ／操作された E P O は、ホモ E P O 受容体活性に影響を及ぼさなくてもよい。一部の実施形態では、ヘテロー E P O R に対するアゴニスト性抗体、またはヘテロー E P O R に対するアゴニストである E P O アナログ／操作された E P O は、赤血球生成に影響を及ぼさなくてもよい。そのような抗体の結合エピトープは、ヘテロー E P O R またはヘテロー E P O R ヘテロ二量体化部位におけるリガンド結合部位であり得る。

【0401】

抗原特異的免疫寛容を誘導することは、いくつかの状態において有益であり得る。これは、抗原およびヘテロー E P O R のアゴニスト（E P O アナログまたは抗体）により、樹状細胞および／または他の抗原提示細胞を標的化して、免疫寛容を誘導することによって達成され得る。これは、抗原の mRNA およびヘテロー E P O R のアゴニストを封入するナノ粒子によっても達成され得る。あるいは、抗原をコードする mRNA を有するナノ粒子を、ヘテロー E P O R のアゴニストと組み合わせることができる（一緒のまたは別々の投与）。そのような免疫寛容適用のための例示的な抗原としては、例えば、組換え治療用タンパク質（例えば、エフェクター機能によって駆動される自己免疫を低減する E n d o S、I g A 腎症のための I g A 分解性プロテアーゼ（例えば、H . i n f l u e n z a e、N . m e n i n g i t i d i s）、P K U のためのフェニルアラニンヒドロキシラーゼ、慢性難治性痛風のためのウリカーゼ）、自己免疫疾患の原因となる抗原（例えば、T 1 D（インスリンまたはプレ／プロインスリン）、尋常性天疱瘡（デスモグレイン-3）、原発性胆汁性肝硬変（P D C - E 2）、グレーブス病（T S H R）、重症筋無力症（M u S K）、シェーグレン症候群（M 3 R）、視神経脊髄炎（A Q P 4）、I d e S（I g G および補体によって駆動される自己免疫疾患のため）、グッドパスチャー症候群（α 3（I V）N C 1）、および血友病）、および／または特定のアレルゲン（例えば、食品、吸入アレルゲンなど）によって誘導されるアレルギーが挙げられ得る。

【0402】

ヘテロー E P O R アゴニストで処置され得る自己免疫疾患としては、例えば、全身性エリテマトーデス（S L E）、炎症性腸疾患（例えば、クローン病および潰瘍性結腸炎）、関節リウマチ、多発性硬化症、グレーブス病、クレスト症候群、全身性硬化症、セリアック病、アカラシア、アジソン病、成人スチル病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、アミロイド症、強直性脊椎炎、抗 G B M／抗 T B M 腎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫性血管浮腫、自己免疫性自律神経障害、自己免疫性脳脊髄炎、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患（A I E D）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性卵巣炎、自己免疫性精巣炎、自己免疫性膵炎、自己免疫性網膜症、自己免疫性じんましん、軸索およびニューロンのニューロパチー（A M A N）、バロ病（B a l o d i s e a s e）、ベーチェット病、良性粘膜類天疱瘡、水疱性類天疱瘡、キャッスルマン病（C D）、セリアック病、シャーガス病、慢性炎症性脱髄性多発神経炎（C I D P）、慢性再発性多発性骨髄炎（C R M O）、チャーグーストラウス症候群（C S S）または好酸球肉芽腫症（E G P A）、瘢痕性類天疱瘡、コーガン症候群、寒冷凝集素症、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、クレスト症候群、クローン病、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、デビック病（視神経脊髄炎）、円板状ループス、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性食道炎（E o E）、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、本態性混合型クリオグロブリン血症、エヴァンス症候群、線維筋痛、線維性肺炎、巨細胞性動脈炎（側頭動脈炎）、巨細胞心筋炎、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、多発血管炎性肉芽腫症、グレーブス病、ギランバレー症候群、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホーシェーンライン紫斑病（H S P）、妊娠性疱疹または妊娠性類天疱瘡（P G）、化膿性汗腺炎（H S）（反対型ざ瘡（A c n e I n v e r s a））、低ガンマグロブリン血症（H y p o g a m m a l g l o b u l i n e m i a）、I g A 腎症、I g G 4 関連硬化性疾患、免疫血小板減少性紫斑病（I T P）、封入体筋炎（I B M）、間質性膀胱炎（I C）、若年性関節炎、若年性糖尿病（1 型糖尿病）、若年性筋炎（J M）、川崎病、ランバート-イートン症候群、白血球破壊性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔

癬、木質性結膜炎、線状IgA病（LAD）、ループス、慢性ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎（MPA）、混合結合組織病（MCTD）、モーレン潰瘍、ムッハーハーベルマン病、多巣性運動ニューロパチー（MMN）またはMMNCB、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、新生児ループス、視神経脊髄炎、好中球減少症、眼部瘢痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ（PR）、PANDAS、傍腫瘍性小脳変性症（PCD）、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、パリーーロンバーグ症候群、毛様体扁平部炎（周辺部ぶどう膜炎）、パーソネージターナー症候群、天疱瘡、末梢神経障害、静脈周囲性脳脊髄炎、悪性貧血（PA）、POEMS症候群、結節性多発動脈炎、多腺性症候群（polyglandular syndrome）I、II、III型、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、プロゲステロン皮膚炎、乾癬、乾癬性関節炎、赤芽球癆（PRCA）、壊疽性膿皮症、レイノー現象、反応性関節炎、反射性交感神経ジストロフィ、再発性多発軟骨炎、下肢静止不能症候群（RLS）、後腹膜線維症、リウマチ熱、関節リウマチ、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子および精巣の自己免疫、全身硬直症候群（SPS）、亜急性細菌性心内膜炎（SBE）、スザック症候群、交感性眼炎（SO）、高安動脈炎、側頭動脈炎／巨細胞性動脈炎、血小板減少性紫斑病（TTP）、トロサーハント症候群（THS）、横断性脊髄炎、1型糖尿病、2型糖尿病、潰瘍性大腸炎（UC）、未分化結合組織疾患（UCTD）、ぶどう膜炎、血管炎、白斑、およびフォクトー小柳－原田症候群などが挙げられ得る。処置され得る他の状態としては、例えば、アレルギー（抗体関連アレルギー）、アミロイド症、およびある特定の形態の移植拒絶反応などが挙げられ得る。これらのおよび他の状態は、本明細書に記載されるEPOアナログ／操作されたEPOおよび／または抗体の1つまたは複数、を、所望されない状態を患っている対象に投与することによって処置され得る。

10

20

30

40

50

【0403】

この受容体に対するアゴニストによるヘテローEPORの活性化は、いくつかのニューロンおよび組織ストレスまたは損傷状態、例えば、虚血性脳卒中、心筋梗塞、およびアルツハイマー病において有益である。ヘテローEPORに対するアゴニストである、上記で述べたアゴニスト性抗ヘテローEPOR、および／またはEPOアナログ／操作されたEPOは、これらの状態において有用な処置であり得る。EPOは、脳血液関門（BBB）を通過するので、EPOアナログまたは操作されたEPOは、CNS適用に有用であり得る。

【0404】

一部の態様では、ホモEPORに対するアゴニストであり、かつヘテローEPORと結合せず、ヘテローEPORのアンタゴニストでもないEPOアナログまたは操作されたEPO、および／またはヘテローEPORへのEPOの結合を阻害する抗EPO抗体、および／またはヘテローEPORに対するアンタゴニストである抗ヘテローEPOR抗体を、ESA処置を必要とするがん患者のために、エリスロポエチン刺激剤（ESA）とともにまたはそれなしで、使用することができる。この態様では、ESAを必要とする任意のがん患者は、これらのEPOアナログ／操作されたEPO、および／または抗EPOR抗体、および／または抗EPO抗体と組み合わせて、ESAが提供され得る。

【0405】

一部の実施形態では、がん患者におけるESAの使用は、血栓塞栓事象、および疾患進行の加速、および生存の短縮のリスクを理由として、限定され得る。この実施形態では、樹状細胞（DC）およびマクロファージ（MΦ）の両方を含む腫瘍浸潤性骨髓性細胞におけるヘテローEPORの活性化によって媒介される免疫寛容および／または抑制は、ESAで処置されたがん患者において見られる腫瘍成長の増強および生存の短縮に対する主要な寄与因子であり得る。この実施形態では、非免疫寛容原性または非抑制性ESAは、ホモEPORを活性化し、ヘテローEPORを活性化することができず、これを使用して、免疫寛容または抑制を促進することなく、がん患者における貧血を処置することができ

る。EPOとヘテロ-EPORとの間の相互作用部位が、EPOのヘリックスBに存在し、ヘリックスBが、ホモ-EPORへの結合に関与しないので、ヘテロ-EPORへの結合を阻害するヘリックスBの変化を伴うEPOアナログまたは操作されたEPOは、ホモ-EPORへの結合を妨げることができず、がん患者におけるこのESAの使用のための所望の受容体活性プロファイルを有するアナログをもたらす。あるいは、ホモ-EPORへのEPO結合を妨げないが、ヘテロ-EPORへの結合を中和する（または阻害する）抗EPO抗体を、EPO（または他の可能性のあるESA）と組み合わせて、がん患者における貧血の処置のためのヘテロ-EPORおよびホモ-EPORの活性の所望のプロファイルを有する組合せを提供することができる。

【0406】

一部の実施形態では、ホモ-EPORに対するアゴニストとして作用し得る、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗ヘテロ-EPOR抗体、EPOアナログ、操作されたEPOは、免疫寛容に影響を及ぼさなくてもよい。一部の実施形態では、ホモ-EPORに対するアゴニストとして作用し得る、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗ヘテロ-EPOR抗体、EPOアナログ、操作されたEPOは、エフェクターT細胞へのナイーブT細胞の分化に影響を及ぼさなくてもよい。一部の実施形態では、エフェクターT細胞のマーカーとしては、表面抗原分類45（CD45）、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ（IFN γ ）、グランザイムB、または腫瘍壊死因子アルファ（TNF α ）が挙げられ得る。一部の実施形態では、ホモ-EPORに対するアゴニストとして作用し得る、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗ヘテロ-EPOR抗体、EPOアナログ、操作されたEPOは、複数の調節性T細胞への複数のナイーブT細胞の分化に影響を及ぼさなくてもよい。一部の実施形態では、調節性T細胞のためのマーカーとしては、表面抗原分類4（CD4）、CD25、CD127、フォークヘッドボックスP3（FoxP3）、CD39、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体C型（CD45RA）、インターロイキン-2（IL-2）、または細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4（CTLA-4）が挙げられ得る。一部の実施形態では、ホモ-EPORに対するアゴニストとして作用し得る、本明細書に記載される抗EPO抗体、抗ヘテロ-EPOR抗体、EPOアナログ、操作されたEPOは、免疫応答に影響を及ぼさなくてもよい。

【0407】

一部の実施形態では、ヘテロ-EPORに対するアゴニストとして作用し得る、抗EPO抗体、抗ヘテロ-EPOR抗体、EPOアナログ、操作されたEPOは、抗原特異的免疫寛容を誘導し得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORに対するアゴニストとして作用し得る、抗EPO抗体、抗ヘテロ-EPOR抗体、EPOアナログ、操作されたEPOは、エフェクターT細胞へのナイーブT細胞の分化を阻害し得る。エフェクターT細胞のためのマーカーの例としては、限定されるものではないが、表面抗原分類45（CD45）、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ（IFN γ ）、グランザイムB、または腫瘍壊死因子アルファ（TNF α ）が挙げられ得る。一部の実施形態では、ヘテロ-EPORに対するアゴニストとして作用し得る、抗EPO抗体、抗ヘテロ-EPOR抗体、EPOアナログ、操作されたEPOは、調節性T細胞へのナイーブT細胞の分化を促進し得る。調節性T細胞のためのマーカーの例としては、限定されるものではないが、表面抗原分類4（CD4）、CD25、CD127、フォークヘッドボックスP3（FoxP3）、CD39、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体C型（CD45RA）、インターロイキン-2（IL-2）、または細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4（CTLA-4）が挙げられ得る。

【0408】

抗体関連状態を処置するための、本明細書に開示されるEPOアナログおよび／または操作されたEPO、および／または抗ヘテロ-EPOR抗体、および／または抗EPO抗体の治療有効量および投与の頻度、ならびに処置の長さは、状態の性質および重症度、抗体の効力、投与の方式、対象の年齢、体重、一般的な健康、性別および食事、ならびに処置に対する対象の応答を含むさまざまな因子に依存し得、処置する医師によって決定され

10

20

30

40

50

得る。抗体および／またはアナログの治療有効量は、約1、5もしくは10mg～約200mg、約1、5もしくは10mg～約150mg、約1、5もしくは10mg～約100mg、または約1、5もしくは10mg～約50mg、あるいは処置する医師によって適切とみなされる通りであり得、これは、単回用量または分割用量で投与することができる。抗体および／またはアナログの治療有効量は、約1～5mg、約5～10mg、約10～20mg、約20～30mg、約30～40mg、約40～50mg、約50～100mg、約100～150mg、または約150～200mgであり得る。抗体および／またはアナログの治療有効量は、約1mg、約5mg、約10mg、約15mg、約20mg、約25mg、約30mg、約40mg、約50mg、約60mg、約70mg、約80mg、約90mg、約100mg、約150mg、または約200mgであり得る。抗体および／またはアナログの治療有効量は、約1～5mg、約5～10mg、または約10～50mgであり得る。抗体および／またはアナログの治療有効量は、約0.01～0.1mg/kg体重、約0.1～0.5mg/kg体重、約0.5～1mg/kg体重、約1～2mg/kg体重、もしくは約2～3mg/kg体重、または処置する医師によって適切とみなされる通りであり得る。抗体および／またはアナログの治療有効量は、約0.01～0.1mg/kg体重、約0.1～0.5mg/kg体重、または約0.5～1mg/kg体重であり得る。

10

【0409】

一部の態様では、抗体および／またはアナログは、患者を処置するために、任意の好適な頻度で投与することができる。抗体またはアナログは、1日に1回、2日ごとに1回、3日ごとに1回、1週間に2回、1週間に1回、2週間ごとに1回、3週間ごとに1回、1か月に1回、6週間ごとに1回、2か月ごとに1回、もしくは3か月ごとに1回、または処置する医師によって適切とみなされる通り、投与され得る。抗体および／またはアナログは、1週間に1回または2週間ごとに1回投与することができる。

20

【0410】

同様に、抗体および／またはアナログは、患者を処置するために、任意の好適な期間の長さにわたり、または任意の好適な総用量数で投与することができる。抗体および／またはアナログは、少なくとも約1週間、2週間、1か月（4週間）、6週間、2か月、3か月、6か月、1年、2年、3年、もしくはより長い期間、または処置する医師によって適切とみなされる通りの期間にわたって投与される。処置される状態は、慢性状態であり得る。慢性状態は、例えば、少なくとも約6週間もしくは2か月、またはそれよりも長く存在し得る。抗体および／またはアナログは、少なくとも約6週間、約2か月、約3か月、または約6か月の期間にわたって投与することができる。一部の実施形態では、1、2、3、4、5、または6用量の抗体および／またはアナログを、処置レジメン全体の間に投与することができる。一部の実施形態では、1、2、または3用量の抗体および／またはアナログを、処置レジメン全体の間に投与することができる。

30

【0411】

一部の態様では、抗体および／またはアナログは、患者を処置するために、不規則な様式で投与することもできる。例えば、抗体および／またはアナログは、1、2、3、4、5回、またはそれよりも多くの回数、1週間、2週間、3週間、1か月、2か月、または3か月の期間、不規則な様式で、投与することができる。さらにまた、抗体および／またはアナログは、患者の処置のために、必要になったら（必要により）、摂取することができる。例えば、抗体および／またはアナログは、患者の処置のために、規則的または不規則な様式にかかわらず、1、2、3、4、5回、またはそれよりも多くの回数、投与することができる。抗体および／またはアナログによる処置の適切な投薬量、投薬の頻度およびその長さは、処置する医師によって決定され得る。

40

【0412】

抗体またはアナログの治療レベルのより迅速な確立のために、少なくとも1つの負荷用量の抗体および／またはアナログを、維持用量の前に投与することができる。負荷用量を投与し、それに続いて、（i）1つもしくは複数の追加の負荷用量、および次いで、1つ

50

もしくは複数の治療有効維持用量、または（i i）追加の負荷用量なしで1つもしくは複数の治療有効維持用量を、処置する医師によって適切とみなされる通り、投与することができる。抗体および／またはアナログの負荷用量は、その後の維持用量よりも高くあり得（例えば、約1.5、2、3、4、または5倍高い）、薬物の治療レベルをより速く確立するように設計される。1つまたは複数の治療有効維持用量は、本明細書に記載される任意の治療有効量であり得る。負荷用量は、維持用量よりも約2または3倍高くあり得る。負荷用量は、1日目に投与することができ、維持用量は、処置の期間の間、その後、例えば、1週間に1回または2週間ごとに1回、投与することができる。抗体および／またはアナログは、1日目に、約2～10mg、約10～20mg、または約20～100mg、または約3～15mg、約15～30mg、または約30～150mgの負荷用量、それに続いて、約1～5mg、約5～10mg、または約10～50mgの維持用量を、処置の期間の間（例えば、少なくとも約2、3、または6か月間）、1週間に1回または2週間ごとに1回、投与することができ、ここで、負荷用量は、維持用量よりも約2または3倍高く、抗体またはアナログは、非経口（例えば、静脈内、皮下または筋肉内）投与される。

10

20

30

【0413】

一部の実施形態では、抗体および／またはアナログの2回（またはそれよりも多く）の負荷用量を、維持用量の前に投与することができる。抗体および／またはアナログの第1の負荷用量は、1日目に投与することができ、第2の負荷用量は、例えば、約1または2週間後に投与することができ、維持用量は、処置の期間の間、その後、例えば、1週間に1回または2週間ごとに1回、投与することができる。第1の負荷用量は、維持用量よりも約3または4倍高くあり得、第2の負荷用量は、維持用量よりも約2倍高くあり得る。抗体および／またはアナログは、1日目に、約3～15mg、約15～30mg、または約30～150mg、または約4～20mg、約20～40mg、または約40～200mgの第1の負荷用量、約1または2週間後に、約2～10mg、約10～20mg、または約20～100mgの第2の負荷用量、それに続いて、約1～5mg、約5～10mg、または約10～50mgの維持用量を、処置の期間の間（例えば、少なくとも約2、3、または6か月間）、1週間に1回または2週間ごとに1回、投与することができ、ここで、第1の負荷用量は、維持用量よりも約3または4倍高くあり得、第2の負荷用量は、維持用量よりも約2倍高くあり得、抗体またはアナログは、非経口（例えば、静脈内、皮下または筋肉内）投与され得る。

【0414】

追加の治療剤との併用療法

本開示は、患者を処置する方法であって、処置を必要とする対象に、治療有効量の本明細書に記載される抗体および／またはアナログを、必要に応じて追加の治療剤と組み合わせて投与するステップを含む、方法を提供する。本開示は、必要に応じて追加の治療剤と組み合わされる、医薬としての使用のための、本明細書に記載される抗体および／もしくはアナログ、または本明細書に記載される抗体および／もしくはアナログを含む組成物をさらに提供する。加えて、本開示は、必要に応じて追加の治療剤と組み合わされる、医薬の調製における、本明細書に記載される抗体および／またはアナログの使用を提供する。

40

【0415】

1つまたは複数の追加の治療剤を、必要に応じて、抗体またはアナログと組み合わせて使用して、患者を処置することができる。必要に応じた追加の治療剤は、対象に、抗体および／またはアナログの投与と同時的に（例えば、抗体および／もしくはアナログと同じ組成物において、または別々の組成物において）または逐次的に（その前またはその後に）投与することができる。必要に応じた追加の治療剤は、抗がん剤、免疫療法剤、免疫抑制剤、抗炎症剤、アレルギー薬、およびその組合せから選択することができる。1つまたは複数の免疫抑制剤を、抗体および／またはアナログと組み合わせて使用して、患者を処置することができる。

【0416】

50

抗がん剤としては、例えば、化学療法薬、抗体、抗体－薬物コンジュゲート、免疫療法、キメラ抗原受容体細胞療法、放射線療法、アルキル化剤、植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼ阻害剤、および／または抗新生物薬が挙げられ得る。

【0417】

抗体および抗体－薬物コンジュゲート（ADC）は、腫瘍関連抗原に結合することができる。ADCの薬物構成要素は、例えば、化学療法薬、放射性ヌクレオチド、アルキル化剤、植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼ阻害剤、および／または抗新生物薬であり得る。ADCの薬物構成要素は、天然で切断可能または切断不能であり得るリンカーを通して、抗体に付着し得る。

10

【0418】

アルキル化剤としては、例えば、マスタードガス誘導体（例えば、メクロレタミン、シクロホスファミド、クロラムブシル、メルファラン、またはイホスファミド）、エチレンイミン（例えば、チオテパまたはヘキサメチルメラミン）、アルキルスルホネート（例えば、ブスルファン）、ヒドラジンおよびトリアジン（例えば、アルトレタミン、プロカルバジン、ダカルバジン、またはテモゾロミド）、ニトロソウレア（例えば、カルムスチン、ロムスチンまたはストレプトゾシン）、および金属塩（例えば、カルボプラチン、シスプラチン、またはオキサリプラチン）が挙げられ得る。植物アルカロイドとしては、例えば、ピンカアルカロイド（例えば、ピンクリスチン、ピンブラスチン、またはビノレルビン）、タキサン（例えば、パクリタキセルまたはドセタキセル）、ポドフィロトキシン（例えば、エトポシドまたはテニポシド（teniposide）、およびカンプトテシン（camptothecin）アナログ（例えば、イリノテカンまたはトポテカン）が挙げられ得る。抗腫瘍抗生物質としては、例えば、アントラサイクリン（例えば、ドキソルビシン、ダウノルビシン、エピルビシン、ミトキサントロン（mixoantrone）、またはイダルビシン）、およびクロモマイシン（例えば、ダクチノマイシンまたはプリカマイシン）が挙げられ得る。代謝拮抗薬としては、例えば、葉酸アンタゴニスト（例えば、メトトレキサート）、ピリミジンアンタゴニスト（例えば、5-フルオロウラシル、フロクスウリジン（flouxuridine）、シタラビン、カペシタビン、またはゲムシタビン）、プリンアンタゴニスト（例えば、6-メルカプトプリンまたは6-チオグアニン）、およびアデノシンデアミナーゼ阻害剤（例えば、クラドリビン、フルダラビン、ネララビン、またはペントスタチン）が挙げられ得る。トポイソメラーゼ阻害剤としては、例えば、トポイソメラーゼⅠ阻害剤（例えば、イリノテカンまたはトポテカン）およびトポイソメラーゼⅡ阻害剤（例えば、アムサクリン、エトポシド、エトポシドリン酸塩、またはテニポシド）が挙げられ得る。抗新生物薬としては、例えば、リボヌクレオチドレダクターゼ阻害剤（例えば、ヒドロキシウレア）、副腎皮質ステロイド阻害剤（例えば、ミトタン）、酵素（例えば、アスパラギナーゼまたはベグアスパルガーゼ）、微小管阻害剤（例えば、エストラムスチン）、およびレチノイド（例えば、ベキサロテン、イソトレチノイン、またはトレチノイン）が挙げられ得る。

20

30

【0419】

他の化学療法薬としては、例えば、アントラサイクリン、カンプトテシン、チューブリン阻害剤、マイタンシノイド、カリケアマイシン（calicheamycin）、ピロロベンゾジアゼピン二量体（PBD）、アウリスタチン、ナイトロジェンマスタード、エチレンイミン誘導体、アルキルスルホネート、ニトロソウレア、トリアゼン、葉酸アナログ、タキサン、COX-2阻害剤、ピリミジンアナログ、プリンアナログ、抗生物質、酵素阻害剤、エポドフィロトキシン、白金配位錯体、ピンカアルカロイド、置換ウレア、メチルヒドラジン誘導体、副腎皮質抑制薬、ホルモンアンタゴニスト、代謝拮抗薬、アルキル化剤、有糸分裂阻害薬、抗血管新生剤、チロシンキナーゼ阻害剤、mTOR阻害剤、熱ショックタンパク質（HSP90）阻害剤、プロテアソーム（proteasome）阻害剤、HDAC阻害剤、アポトーシス促進剤、およびその組合せが挙げられ得る。

40

【0420】

50

他の化学療法剤としては、例えば、5-フルオロウラシル、アファチニブ、アブリジン、アザリビン、アナストロゾール、アントラサイクリン、アキシチニブ、AVL-101、AVL-291、ベンダムスチン、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、ボスチニブ、ブリオスタチン-1、ブスルファン、カリケアマイシン、カンプトテシン、カルボプラチン、10-ヒドロキシカンプトテシン、カルムスチン、セレコキシブ、クロラムブシル、シスプラチン、COX-2阻害剤、イリノテカン(CPT-11)、SN-38、カルボプラチン、クラドリビン、カンプトテシン、クリゾチニブ、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダサチニブ、ジナシクリブ、ドセタキセル、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、DM1、DM3、DM4、ドキシソルビシン、2-ピロリノドキシソルビシン(2-PDox)、2-PDoxのプロドラッグ形態(pro-2-PDox)、シアノーモルホリノドキシソルビシン、ドキシソルビシングルクロニド、エンドスタチン、エピルビシングルクロニド、エルロチニブ、エストラムスチン、エピドフィロトキシン(epidophyllotoxin)、エルロチニブ、エンチノスタット、エストロゲン受容体結合剤、エトポシド(VP16)、エトポシドグルクロニド、エトポシドリン酸塩、エキセメスタン、フィンゴリモド、フロクスウリジン(FudR)、3',5'-O-ジオレオイル-FudR(FudR-dO)、フルダラビン、フルタミド、ファルネシル-タンパク質トランスフェラーゼ阻害剤、フラボピリドール、フォスタマチニブ、ガネテスピブ、GDC-0834、GS-1101、ゲフィチニブ、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、イブルチニブ、イダルビシン、イデラリシブ、イホスファミド、イマチニブ、ラパチニブ、レナリドミド(lenolidamide)、ロイコボリン、LFM-A13、ロムスチン、メクロレタミン、メルファラン、メルカプトプリン、6-メルカプトプリン、メトトレキサート、ミトキサントロン、ミトラマイシン、マイトマイシン、ミトタン、モノメチルアウリスタチンF(MMAF)、モノメチルアウリスタチンD(MMAD)、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)、ナベルピン、ネラチニブ、ニロチニブ、ニトロソウレア(nitrosourea)、オラパリブ、プリカマイシン(plicomycin)、プロカルバジン、パクリタキセル、PCI-32765、ペントスタチン、PSI-341、ラロキシフェン、セムスチン、SN-38、ソラフェニブ、ストレプトゾシン、SU11248、スニチニブ、タモキシフェン、テモゾロミド(temazolomide)、トランスプラチナ(transplatinum)、サリドマイド、チオグアニン、チオテパ、テニポシド、トポテカン、ウラシルマスタード、バタラニブ、ビノレルビン、ビンブラスチン、ピンクリスチン、ピンカアルカロイドおよびZD1839が挙げられ得る。一部の実施形態では、化学療法剤は、SN-38であり得る。【0421】

免疫療法は、疾患、がんまたは腫瘍と戦うための、身体の天然防御をブーストすることを対象とする。これは、身体によって、または実験室で人工的に作製された物質を利用して、免疫系の機能を改善または修復する。免疫療法としては、免疫応答を弱める免疫系の重要な調節因子である、免疫チェックポイント、例えば、CTLA-4およびPD-1/PD-L1を標的化するチェックポイント阻害剤が挙げられ得る。免疫療法は、抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、またはその任意の組合せを含み得る。ペイロードとして使用され得るチェックポイント阻害剤の例としては、例えば、ニボルマブ(Opdivo(登録商標))、ペムブロリズマブ(Keytruda(登録商標))、セミプリマブ(Libtayo(登録商標))、アテゾリズマブ(Tecentriq(登録商標))、アベルマブ(Bavencio(登録商標))、デュルバルマブ(Imfinzi(登録商標))、イピリムマブ(Yervoy(登録商標))、リリルマブ、およびBMS-986016が挙げられ得る。ニボルマブ、アテゾリズマブおよびペムブロリズマブは、チェックポイントタンパク質PD-1で作用することができ、抗腫瘍免疫細胞のアポトーシスを阻害することができる。一部のチェックポイント阻害剤は、PD-1とそのリガンドPD-L1との間の相互作用を防止することができる。イピリムマブは、CTLA4で作用することができ、CTLA4が腫瘍における活性化T細胞を下方調節するのを防止することができる。リリルマブは、KIRで作用することができ、ナチュラルキラー細胞の活性化を容易にし得る。BMS-986016は、LAG3で作用するこ

とができ、抗原特異的Ｔリンパ球を活性化することができ、腫瘍細胞の細胞傷害性Ｔ細胞媒介溶解を増強することができる。他の種類の免疫療法としては、例えば、モノクローナル抗体、臓器横断的療法（tumor-agnostic therapy）、非特異的免疫療法、腫瘍溶解性ウイルス療法、養子細胞移入、例えば、CAR-T細胞療法、およびがんワクチンが挙げられ得る。非特異的免疫療法としては、がんと闘う免疫系を助けることができ、がん細胞の成長を遅らせるか、または一部の事例では、がんを破壊することができる分子である、インターフェロンまたはインターロイキンによる処置が挙げられ得る。免疫療法は、従来のがん処置、例えば、化学療法もしくは放射線療法、またはそのような処置による組合せの代わりに与えられ得る。

【0422】

養子細胞療法は、対象が起源（自己）または別の対象が起源（同種）の細胞を使用し得る。そのような養子細胞療法の例としては、限定されるものではないが、操作されたもしくは操作されていないマクロファージ、操作されたもしくは操作されていないＴ細胞、および／または操作されたもしくは操作されていないナチュラルキラー細胞が挙げられ得る。したがって、養子細胞療法としては、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）療法、操作されたＴ細胞受容体（TCR）療法、および／またはナチュラルキラー（NK）細胞療法が挙げられ得、これらの詳細は、当業者に周知である（Adoptive cellular therapies: the current landscape, Rohaan et al. 2019, Virchows Arch. 474(4): 449-461、これは、すべての目的のために、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）。

【0423】

免疫抑制剤としては、例えば、抗CD20抗体（例えば、リツキシマブ）、カルシニューリン阻害剤（例えば、タクロリムス、シクロスポリンなど）、抗増殖剤またはIDMH阻害剤（例えば、ミコフェノール酸モフェチル、ミコフェノール酸ナトリウム、アザチオプリン、レフルノミドなど）、mTOR阻害剤（例えば、シロリムス、エベロリムスなど）、ステロイド（例えば、コルチコステロイド、例えば、プレドニゾン、ブデソニド、プレドニゾンなど）、および生物製剤（例えば、アバタセプト、アダリムマブ、アナキンラ、セルトリズマブ、エタネルセプト、インフリキシマブ、イキセキズマブ、ナタリズマブ、リツキシマブ、セクキヌマブ、トシリズマブ、ウステキヌマブ（ustekinumab）、ベドリズマブ、バシリキシマブ、ダクリズマブ、ムロモナブ）が挙げられ得る。生物製剤としては、例えば、CTLA4融合タンパク質、抗TNF α 抗体、IL-1受容体アンタゴニストタンパク質、TNF受容体融合タンパク質、抗IL17A抗体、抗 α 4インテグリン抗体、抗IL6受容体抗体、IL12／IL23抗体の抗p40サブユニット、抗 α 4 β 7インテグリン抗体、抗CD25抗体、および抗CD3抗体も挙げられ得る。

【0424】

1つまたは複数の抗炎症剤を、抗体またはアナログと組み合わせて使用して、患者を処置することができる。1つまたは複数の抗炎症剤としては、例えば、炎症促進性サイトカイン（例えば、TNF- α または／およびIL-6またはIL-6R）もしくはその受容体またはその産生の阻害剤が挙げられ得る。他の抗炎症剤としては、例えば、非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）、免疫モジュレーター、免疫抑制薬、抗炎症性サイトカインおよびそれらの産生を増加させる化合物、炎症促進性サイトカインまたはその受容体の阻害剤、炎症促進性サイトカインまたはその受容体の産生の阻害剤、炎症促進性転写因子またはそれらの活性化もしくは発現の阻害剤、炎症促進性プロスタグランジン（例えば、プロスタグランジンE₂ [PGE₂]）またはその受容体（例えば、EP₃）もしくはその産生の阻害剤、ロイコトリエンまたはその受容体もしくはその産生の阻害剤、ホスホリパーゼA₂（例えば、分泌およびサイトゾルPLA₂）の阻害剤、C-反応性タンパク質（CRP）活性またはレベルの抑制剤、肥満細胞安定剤、ホスホジエステラーゼ阻害剤、特化した消散促進メディエーター（specialized pro-resolving mediator）（SPM）、他の種類の抗炎症剤、ならびにそのアナログ、誘導体、断片および塩が挙げられ得る。

【0425】

非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）としては、限定されるものではないが、酢酸誘導体、アントラニル酸誘導体（フェナム酸）、エノール酸誘導体（オキシカム）、プロピオン酸誘導体、サリチレート、COX-2選択的阻害剤、他の種類のNSAID、例えば、モノテルペノイド（例えば、ユーカリプトールおよびフェノール〔例えば、カルバクロール〕）、アニリノピリジンカルボン酸（例えば、クロニキシン）、スルホンアニリド（例えば、ニメスリド）、およびリポオキシゲナーゼ（例えば、5-LOX）およびシクロオキシゲナーゼ（例えば、COX-2）の二重阻害剤（例えば、ケブラジン酸、リコフェロン、2-（3，4，5-トリメトキシフェニル）-4-（N-メチルインドール-3-イル）チオフェン、およびジ-tert-ブチルフェノール系化合物〔例えば、DTPBHZ、DTPINH、DTPNHZおよびDTPSAL〕）；ならびにそのアナログ、誘導体および塩が挙げられ得る。

10

【0426】

コルチコステロイドのグルココルチコイドクラスは、抗炎症および免疫抑制特性を有し得る。グルココルチコイドとしては、限定されるものではないが、ヒドロコルチゾン型、ハロゲン化ステロイド、カーボネート、ならびにそのアナログ、誘導体および塩が挙げられ得る。

【0427】

必要に応じた追加の治療剤は、独立して、任意の好適な方式で投与することができる。投与の可能性のある方式としては、限定されるものではないが、経口、非経口（皮内、皮下、筋肉内、血管内、静脈内、動脈内、腹腔内、髄内、髄腔内および局所を含む）、腔内、および局所（真皮／皮膚上、経皮、粘膜、経粘膜、鼻腔内〔例えば、鼻スプレーまたは点鼻薬による〕、眼内〔例えば、点眼薬による〕、肺〔例えば、経口または鼻吸入による〕、頬側、舌下、直腸〔例えば、坐剤による〕、および膣〔例えば、坐剤による〕を含む）が挙げられ得る。一部の実施形態では、必要に応じた追加の治療剤は、独立して、経口または非経口（例えば、静脈内、皮下または筋肉内）投与することができる。

20

【0428】

1つまたは複数の抗アレルギー剤を、抗体またはアナログと組み合わせて使用して、患者を処置することができる。そのような抗アレルギー剤としては、例えば、抗ヒスタミン薬（例えば、セチリジン、フェキソフェナジン、レボセチリジン、ロラタジン（loratidine）、ブロムフェニラミン（bormpheniramine）、クロルフェニラミン、クレマスチン（celmastine）、ジフェンヒドラミン、ケトチフェン、ナファゾリン、フェニラミン、デスロラタジン、アゼラスチン、エピナスチン、オロパタジン）、うっ血除去薬（例えば、ブソイドエフェドリン、フェニレフリン、オキシメタゾリン）、ステロイド（例えば、ベクロメタゾン、シクレソニド、フロ酸フルチカゾン、モメタゾン、ブデソニド、トリアムシノロン、デキサメタゾン、ロテプレドノール、プレドニゾンエポクレート（prednisone epocrate））、肥満細胞安定剤（例えば、クロモグリク酸ナトリウム、ロドキサミドートロメタミン、ネドクロミル、ペミロラスト）、およびロイコトリエン修飾薬（例えば、モンテルカスト（montelukast））が挙げられ得る。

30

40

【0429】

移植のための1つまたは複数の拒絶反応薬を、アゴニスト抗ヘテロ-EPOR抗体、および／またはヘテロ-EPORに対するアゴニストであるEPOアナログ／操作されたEPOと組み合わせて使用して、移植手順後の対象を処置することができる。そのような拒絶反応薬としては、例えば、カルシニューリン阻害剤、抗増殖剤またはIDMH阻害剤、mTOR阻害剤、およびステロイドが挙げられ得る。

【0430】

必要に応じた追加の治療剤は、限定されるものではないが、毎日（1日あたり1、2またはそれよりも多くの回数）、2日もしくは3日ごと、1週間に2回、1週間に1回、2週間ごと、3週間ごと、毎月、2か月ごともしくは3か月ごと、または不規則な様式もし

50

くは必要に応じてを含む、任意の好適な頻度で、独立して、投与することができる。投薬頻度は、例えば、選択された投与の方式に依存し得る。必要に応じた追加の治療剤による処置の長さは、処置する医師によって決定され得、独立して、例えば、少なくとも約1日、2日、3日、4日、1週間、2週間、3週間、4週間（1か月）、6週間、2か月、3か月、6か月、1年、2年、3年、またはそれよりも長くあり得る。

【0431】

EPO関連抗体およびEPOアナログの生成

本開示は、本明細書に記載されるEPO関連抗体（例えば、抗EPO抗体、抗EPOR抗体、または抗CD131抗体）、および／またはEPOアナログ／操作されたEPOをコードする核酸配列を含むポリヌクレオチドを提供する。ポリヌクレオチドは、EPOアナログ、操作されたEPO、または抗EPOR、抗CD131もしくは抗EPOmAbのV_Hドメインもしくは／およびV_Lドメインをコードする核酸配列を含み得る。ポリヌクレオチドは、EPOアナログ、操作されたEPO、またはEPO関連mAb（例えば、抗EPO抗体、抗EPOR抗体、または抗CD131抗体）の重鎖もしくは／および軽鎖をコードする核酸配列を含み得る。

10

【0432】

本開示は、本明細書に記載されるEPO関連抗体またはEPOアナログをコードする核酸配列を含む構築物（発現構築物またはクローニング構築物と呼ばれることもある）をさらに提供する。好適な構築物としては、限定されるものではないが、プラスミド、コスミド、細菌人工染色体、酵母人工染色体、ラムダファージ（例えば、欠失された溶原性遺伝子を有するもの）、およびウイルスが挙げられる。構築物は、エピソードで細胞中に存在し得るか、染色体に組み込まれ得る（いずれにしても、構築物はそのまま残り、依然として、構築物、プラスミドおよび／またはベクターである）。

20

【0433】

さまざまな構築物系を用いることができる。構築物の1つのクラスは、動物ウイルス、例えば、アデノウイルス、バキュロウイルス、ウシパピローマウイルス、ポリオーマウイルス、SV40ウイルス、ワクシニアウイルス、およびレトロウイルス（例えば、MMTV、MOMLVおよびラウス肉腫ウイルス）に由来するDNAエレメントを利用する。構築物の別のクラスは、RNAウイルス、例えば、東部ウマ脳炎ウイルス、フラビウイルス、およびセムリキ森林熱ウイルスに由来するRNAエレメントを利用する。

30

【0434】

構築物は、例えば、EPO関連mAbまたはEPOアナログ／操作されたEPOの、V_Hドメインもしくは／およびV_Lドメイン、または重鎖もしくは／および軽鎖をコードする核酸配列に加えて、mRNAの最適な発現のためのさまざまな他のエレメントを含み得る。例えば、構築物は、転写プロモーター、プロモーターとオペレーター、エンハンサー、イントロンもしくは／およびエクソンありもしくはなしのオープンリーディングフレーム、終結シグナル、スプライスシグナル、分泌シグナル配列または選択マーカー（例えば、抗生物質または細胞傷害剤に対する耐性を付与する遺伝子）、またはその任意の組合せもしくはすべてを含有し得る。

40

【0435】

本開示は、本明細書に記載されるEPO関連抗体またはEPOアナログ／操作されたEPOをコードする構築物を含むか、発現する宿主細胞も提供する。好適な宿主細胞としては、限定されるものではないが、真核細胞、哺乳動物細胞（例えば、BHK、CHO、COS、HEK293、HeLa、MDCKIIおよびVero細胞）、昆虫細胞（例えば、Sf9細胞）、酵母細胞および細菌細胞（例えば、E. coli細胞）が挙げられる。宿主細胞は、哺乳動物細胞（例えば、CHO細胞またはHEK293細胞）であり得る。

【0436】

宿主細胞は、EPO関連mAbまたはEPOアナログの、V_HドメインもしくはV_Lドメイン、または重鎖もしくは軽鎖をコードする構築物を含み得るか、または発現し得る。宿主細胞は、EPOアナログ、またはEPO関連mAbのV_HドメインおよびV_Lドメイ

50

ン、もしくは重鎖および軽鎖をコードする単一構築物を含み得るか、発現し得る。同じ宿主細胞または別々の宿主細胞は、EPO関連mAbのV_Hドメインまたは重鎖をコードする構築物、およびmAbのV_Lドメインまたは軽鎖をコードする別々の構築物を含み得るか、または発現し得る。

【0437】

構築物は、当技術分野において公知の任意の方法によって、宿主細胞にトランスフェクトまたは導入され得る。トランスフェクション剤および方法としては、限定されないが、リン酸カルシウム、カチオン性ポリマー（例えば、DEAE-デキストランおよびポリエチレンジイミン）、デンドリマー、fugene、カチオン性リポソーム、電気穿孔、ソノポレーション、細胞圧縮（cell squeezing）、遺伝子銃、ウイルストランスフェクションおよびレトロウイルス形質導入が挙げられる。

10

【0438】

トランスフェクトされた宿主細胞を培養するため、および組換え的に産生されたEPO関連抗体またはEPOアナログ／操作されたEPOを回収するための方法および条件は、当技術分野において公知であり、例えば、用いられる特定の発現ベクターまたは／および宿主細胞に応じて変更または最適化され得る。EPOアナログ／操作されたEPO、またはEPO関連mAbのV_Hドメインもしくは／およびV_Lドメイン、または重鎖もしくは／および軽鎖を、組換え的に産生させることができる。長引かせる部分と必要に応じて融合された、EPO関連抗体の全IgG1、IgG2もしくはIgG4の重鎖および軽鎖、またはEPO関連Fab断片の重鎖および軽鎖は、組換え的に産生される。

20

番号付け実施形態

1. EPOアナログを患者に投与するステップであって、患者が、がんを有し、EPOアナログが、ヘテロ-EPORに対するアンタゴニストである、ステップ；およびEPOアナログをヘテロ-EPORに結合させ、それによって、ヘテロ-EPORを阻害するステップを含む、方法。

2. ヘテロ-EPORが、免疫細胞上にある、実施形態1に記載の方法。

3. 免疫細胞が、マクロファージである、実施形態2に記載の方法。

4. 免疫細胞が、樹状細胞である、実施形態2に記載の方法。

5. 免疫細胞が、T細胞である、実施形態2に記載の方法。

6. T細胞が、細胞傷害性T細胞である、実施形態5に記載の方法。

30

7. 免疫細胞が、ナチュラルキラー細胞である、実施形態2に記載の方法。

8. 免疫細胞が、B細胞である、実施形態2に記載の方法。

9. ヘテロ-EPORが、内皮細胞上にある、実施形態1に記載の方法。

10. ヘテロ-EPORへのEPOアナログの結合が、免疫寛容原性状態を克服する、実施形態1に記載の方法。

11. ヘテロ-EPORへのEPOアナログの結合が、免疫抑制状態を克服する、実施形態1に記載の方法。

12. がんが、結腸がん、乳がん、肺がん、脳がん、または黒色腫である、実施形態1に記載の方法。

13. 抗がん剤を投与するステップをさらに含む、実施形態1に記載の方法。

40

14. 抗がん剤が、化学療法薬、抗がん抗体、抗体-薬物コンジュゲート、免疫療法、キメラ抗原受容体細胞療法、放射線療法、アルキル化剤、植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼ阻害剤、または抗新生物薬である、実施形態13に記載の方法。

15. 抗ヘテロ-EPOR抗体を患者に投与するステップであって、患者が、がんを有し、抗ヘテロ-EPOR抗体が、ヘテロ-EPORに対するアンタゴニストである、ステップ；および抗ヘテロ-EPOR抗体をヘテロ-EPORに結合させ、それによって、ヘテロ-EPORを阻害するステップを含む、方法。

16. ヘテロ-EPORが、免疫細胞上にある、実施形態15に記載の方法。

17. 免疫細胞が、マクロファージである、実施形態16に記載の方法。

50

18. 免疫細胞が、樹状細胞である、実施形態16に記載の方法。
19. 免疫細胞が、T細胞である、実施形態16に記載の方法。
20. T細胞が、細胞傷害性T細胞である、実施形態19に記載の方法。
21. 免疫細胞が、ナチュラルキラー細胞である、実施形態16に記載の方法。
22. 免疫細胞が、B細胞である、実施形態16に記載の方法。
23. ヘテロ-E P O R が、内皮細胞上にある、実施形態15に記載の方法。
24. ヘテロ-E P O R への抗ヘテロ-E P O R 抗体の結合が、免疫寛容原性状態を克服する、実施形態15に記載の方法。
25. ヘテロ-E P O R への抗ヘテロ-E P O R 抗体の結合が、免疫抑制状態を克服する、実施形態15に記載の方法。
26. がんが、結腸がん、乳がん、肺がん、脳がん、または黒色腫である、実施形態15に記載の方法。
27. 抗がん剤を投与するステップをさらに含む、実施形態15に記載の方法。
28. 抗がん剤が、化学療法薬、抗がん抗体、抗体-薬物コンジュゲート、免疫療法、キメラ抗原受容体細胞療法、放射線療法、アルキル化剤、植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼ阻害剤、または抗新生物薬である、実施形態27に記載の方法。
29. 抗E P O 抗体を患者に投与するステップであって、患者が、がんを有し、抗E P O 抗体が、ヘテロ-E P O R へのE P O の結合を阻害する、ステップ；および抗E P O 抗体をE P O に結合させ、それによって、ヘテロ-E P O R を阻害するステップを含む、方法。
30. ヘテロ-E P O R が、免疫細胞上にある、実施形態29に記載の方法。
31. 免疫細胞が、マクロファージである、実施形態30に記載の方法。
32. 免疫細胞が、樹状細胞である、実施形態30に記載の方法。
33. 免疫細胞が、T細胞である、実施形態30に記載の方法。
34. T細胞が、細胞傷害性T細胞である、実施形態33に記載の方法。
35. 免疫細胞が、ナチュラルキラー細胞である、実施形態30に記載の方法。
36. 免疫細胞が、B細胞である、実施形態30に記載の方法。
37. ヘテロ-E P O R が、内皮細胞上にある、実施形態29に記載の方法。
38. E P O への抗E P O 抗体の結合が、免疫寛容原性状態を克服する、実施形態29に記載の方法。
39. E P O への抗E P O 抗体の結合が、免疫抑制状態を克服する、実施形態29に記載の方法。
40. がんが、結腸がん、乳がん、肺がん、または黒色腫である、実施形態29に記載の方法。
41. 抗がん剤を投与するステップをさらに含む、実施形態29に記載の方法。
42. 抗がん剤が、化学療法薬、抗がん抗体、抗体-薬物コンジュゲート、免疫療法、キメラ抗原受容体細胞療法、放射線療法、アルキル化剤、植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼ阻害剤、または抗新生物薬である、実施形態41に記載の方法。
43. E P O アナログを患者に投与するステップであって、E P O アナログが、ヘテロ-E P O R に対するアゴニストである、ステップ；およびE P O アナログをヘテロ-E P O R に結合させ、それによって、患者における負の免疫モジュレーションを促進するステップを含む、方法。
44. 負の免疫モジュレーションが、免疫抑制状態である、実施形態43に記載の方法。
45. 臓器、骨髄、または複数の循環細胞のための複数の幹細胞を移植するステップをさらに含む、実施形態44に記載の方法。
46. 特異抗原を投与するステップをさらに含み、負の免疫モジュレーションが、抗原に対する免疫寛容原性状態である、実施形態43に記載の方法。
47. 特異抗原が、組換えタンパク質、自己免疫疾患に関連する抗原、またはアレルゲン

である、実施形態 46 に記載の方法。

48. 患者が、自己免疫疾患を有する、実施形態 43 に記載の方法。

49. 自己免疫疾患が、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、または多発性硬化症である、実施形態 48 に記載の方法。

50. 患者が、全身性慢性炎症を有する、実施形態 43 に記載の方法。

51. 抗ヘテロー E P O R 抗体を患者に投与するステップであって、抗ヘテロー E P O R 抗体が、ヘテロー E P O R に対するアゴニストである、ステップ；および抗ヘテロー E P O R 抗体をヘテロー E P O R に結合させ、それによって、患者における負の免疫モジュレーションを促進するステップを含む、方法。

52. 負の免疫モジュレーションが、免疫抑制状態である、実施形態 51 に記載の方法。

53. 抗原の投与をさらに含み、負の免疫モジュレーションが、抗原に対する免疫寛容原性状態である、実施形態 51 に記載の方法。

54. 臓器、骨髄、または複数の循環細胞のための複数の幹細胞を移植するステップをさらに含む、実施形態 51 に記載の方法。

55. 特異抗原を投与するステップをさらに含み、その結果、患者が、抗原に対して免疫寛容になる、実施形態 51 に記載の方法。

56. 特異抗原が、組換えタンパク質、自己免疫疾患と関連する抗原、またはアレルゲンである、実施形態 55 に記載の方法。

57. 患者が、自己免疫疾患を有する、実施形態 51 に記載の方法。

58. 自己免疫疾患が、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、または多発性硬化症である、実施形態 58 に記載の方法。

59. 患者が、全身性慢性炎症を有する、実施形態 51 に記載の方法。

60. E P O アナログを患者に投与するステップであって、患者が、がんを有し、E P O アナログが、ホモ E P O R に対するアゴニストであり、ヘテロー E P O R を活性化しない、ステップ；および E P O アナログをホモ E P O R に結合させ、それによって、患者における赤血球生成を促進するステップを含む、方法。

61. がんが、結腸がん、乳がん、肺がん、脳がん、または黒色腫である、実施形態 60 に記載の方法。

62. 抗がん剤を投与するステップをさらに含む、実施形態 60 に記載の方法。

63. 抗がん剤が、化学療法薬、抗がん抗体、抗体-薬物コンジュゲート、免疫療法、キメラ抗原受容体細胞療法、放射線療法、アルキル化剤、植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼ阻害剤、または抗新生物薬である、実施形態 62 に記載の方法。

64. E P O アナログが、ヘテロー E P O R に対するアンタゴニストである、実施形態 60 に記載の方法。

65. E P O アナログが、ヘテロー E P O R と結合しない、実施形態 60 に記載の方法。

66. 抗ホモ E P O R 抗体を患者に投与するステップであって、患者が、がんを有し、抗ホモ E P O R 抗体が、ホモ E P O R に対するアゴニストであり、ヘテロー E P O R を活性化しない、ステップ；および抗ホモ E P O R 抗体をホモ E P O R に結合させて、それによって、患者における赤血球生成を促進するステップを含む、方法。

67. がんが、結腸がん、乳がん、肺がん、脳がん、または黒色腫である、実施形態 66 に記載の方法。

68. 抗がん剤を投与するステップをさらに含む、実施形態 66 に記載の方法。

69. 抗がん剤が、化学療法薬、抗がん抗体、抗体-薬物コンジュゲート、免疫療法、キメラ抗原受容体細胞療法、放射線療法、アルキル化剤、植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼ阻害剤、または抗新生物薬である、実施形態 68 に記載の方法。

70. 抗ホモ E P O R 抗体が、ヘテロー E P O R に対するアンタゴニストである、実施形態 66 に記載の方法。

71. 抗ホモ E P O R 抗体が、ヘテロー E P O R と結合しない、実施形態 66 に記載の

10

20

30

40

50

方法。

72. 抗EPO抗体を患者に投与するステップであって、患者が、がんを有し、抗EPO抗体が、EPOがヘテローEPORと結合するのを阻害し、抗EPO抗体に結合したEPOが、ホモEPORに結合することができる、ステップ；抗EPO抗体をEPOに結合させるステップ；ならびにEPOまたはEPOの複合体および抗EPO抗体をホモEPORに結合させ、それによって、患者における赤血球生成を促進するステップを含む、方法。

73. がんが、結腸がん、乳がん、肺がん、脳がん、または黒色腫である、実施形態72に記載の方法。

74. 抗がん剤を投与するステップをさらに含む、実施形態72に記載の方法。

75. 抗がん剤が、化学療法薬、抗がん抗体、抗体-薬物コンジュゲート、免疫療法、キメラ抗原受容体細胞療法、放射線療法、アルキル化剤、植物アルカロイド、抗腫瘍抗生物質、代謝拮抗薬、トポイソメラーゼ阻害剤、または抗新生物薬である、実施形態74に記載の方法。

76. EPOを患者に投与するステップをさらに含む、実施形態72に記載の方法。

77. EPOアナログをコードする核酸を患者に投与するステップであって、EPOアナログが、ヘテローEPORに対するアゴニストである、ステップ；細胞が核酸を取り込んだ後、患者の細胞においてEPOアナログをコードする核酸を発現させるステップ；EPOアナログを細胞から分泌させるステップ；およびEPOアナログをヘテローEPORに結合させ、それによって、患者における負の免疫モジュレーションを促進するステップを含む、方法。

78. 負の免疫モジュレーションが、免疫抑制状態である、実施形態77に記載の方法。

79. 抗原の投与をさらに含み、負の免疫モジュレーションが、抗原に対する免疫寛容原性状態である、実施形態77に記載の方法。

80. 抗原が、抗原をコードする核酸として投与される、実施形態79に記載の方法。

81. 核酸が、RNAである、実施形態80に記載の方法。

82. 臓器、骨髄、または複数の循環細胞のための複数の幹細胞を移植するステップをさらに含む、実施形態77に記載の方法。

83. 特異抗原を投与するステップをさらに含み、その結果、患者が、抗原に対して免疫寛容になる、実施形態77に記載の方法。

84. 特異抗原が、組換えタンパク質、自己免疫疾患と関連する抗原、またはアレルゲンである、実施形態83に記載の方法。

85. 患者が、自己免疫疾患を有する、実施形態77に記載の方法。

86. 自己免疫疾患が、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、または多発性硬化症である、実施形態85に記載の方法。

87. 患者が、全身性慢性炎症を有する、実施形態77に記載の方法。

88. 核酸が、脂質ナノ粒子を有する組成物の一部である、実施形態77に記載の方法。

89. siRNAを患者に投与するステップであって、siRNAが、EPOR、CD131またはEPOをコードするmRNAに結合し、患者が、がんを有する、ステップ；およびEPOR、CD131、またはEPOの発現を減少させ、それによって、ヘテローEPORの活性化を阻害するステップを含む、方法。

90. siRNAを患者に投与するステップであって、siRNAが、EPOR、CD131またはEPOをコードするmRNAに結合する、ステップ；およびEPOR、CD131、またはEPOの発現を減少させ、それによって、患者における負の免疫モジュレーションを低減するステップを含む、方法。

91. 負の免疫モジュレーションが、免疫抑制状態である、請求項90に記載の方法。

92. 抗原が、siRNAとともに投与され、負の免疫モジュレーションが、抗原についての免疫寛容原性状態である、実施形態90に記載の方法。

93. 抗原が、抗原をコードする核酸として投与される、実施形態92に記載の方法。

94. 核酸が、RNAである、実施形態93に記載の方法。

10

20

30

40

50

95. HIF阻害剤を患者に投与するステップ；およびヘテロ-EPO Rの発現を低減し、それによって、患者における負の免疫モジュレーションを低減するステップを含む、方法。

96. 負の免疫モジュレーションが、免疫抑制状態である、実施形態95に記載の方法。

97. 抗原が、PHD阻害剤とともに投与され、負の免疫モジュレーションが、抗原についての免疫寛容原性状態である、実施形態95に記載の方法。

98. PHD阻害剤を患者に投与するステップ；およびヘテロ-EPO Rの発現を増加させ、それによって、患者における負の免疫モジュレーションを促進するステップを含む、方法。

99. 負の免疫モジュレーションが、免疫抑制状態である、実施形態98に記載の方法。

100. 抗原が、PHD阻害剤とともに投与され、負の免疫モジュレーションが、抗原についての免疫寛容原性状態である、実施形態98に記載の方法。

【0439】

他の実施形態

一部の態様では、抗体またはその機能的断片を含む組成物であって、(i) 前記抗体または前記その機能的断片が、エリスロポエチン (EPO) タンパク質、EPO受容体サブユニット、CD131サブユニット、またはその組合せを含む標的に選択的に結合し；(ii) 前記標的への前記抗体または前記その機能的断片の結合が、(a) EPOタンパク質-ヘテロ-EPO受容体複合体の形成であって、前記ヘテロ-EPO受容体が前記EPO受容体サブユニットおよび前記CD131サブユニットを含む、形成を防止するか、(b) 前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間のヘテロ-EPO受容体の形成を防止するか、または(c) 前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとを含むヘテロ-EPO受容体の活性化を防止し；(iii) 前記抗体または前記その機能的断片が、抗原結合ドメインを含む、組成物が本明細書に提供される。

【0440】

一部の実施形態では、前記抗原結合ドメインは、VH相補性決定領域1 (VH-CDR1) 配列、VH-CDR2配列、およびVH-CDR3配列を含む重鎖可変領域 (VH)；ならびにVL-CDR1配列、VL-CDR2配列、およびVL-CDR3配列を含む軽鎖可変領域 (VL)；VHおよびカッパ鎖可変領域 (VK)；またはVHおよびラムダ鎖可変領域を含む。

【0441】

一部の実施形態では、前記EPOタンパク質-ヘテロ-EPO受容体複合体の形成、前記EPO受容体サブユニットと前記CD131との間の前記ヘテロ-EPO受容体の形成、またはヘテロ-EPO受容体の活性化の前記防止であって、前記ヘテロ-EPO受容体が前記EPO受容体サブユニットおよび前記CD131サブユニットを含む、前記防止は、免疫寛容を阻害する。

【0442】

一部の実施形態では、前記EPOタンパク質-ヘテロ-EPO受容体複合体の形成、前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の形成、または前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとを含むヘテロ-EPO受容体の活性化の前記防止は、複数のエフェクターT細胞への複数のナイーブT細胞の分化を促進する。一部の実施形態では、前記複数のエフェクターT細胞は、表面抗原分類45 (CD45)、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ (IFN γ)、グランザイムB、または腫瘍壊死因子アルファ (TNF α) を発現する。一部の実施形態では、前記EPOタンパク質-ヘテロ-EPO受容体複合体の形成、前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の形成、または前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとを含むヘテロ-EPO受容体の活性化の前記防止は、複数の調節性T細胞への複数のナイーブT細胞の分化を阻害する。一部の実施形態では、前記複数の調節性T細胞は、表面

抗原分類 4 (CD 4)、CD 25、CD 127、フォークヘッドボックス P3 (Fox P3)、CD 39、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体 C 型 (CD 45 RA)、インターロイキン-2 (IL-2)、または細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (CTLA-4) を発現する。一部の実施形態では、前記 EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成、前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD 131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の形成、または前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD 131 サブユニットとを含むヘテロ-EPO 受容体の活性化の前記防止は、複数の前駆消耗 T 細胞を増加させる。一部の実施形態では、前記複数の前駆消耗 T 細胞は、表面抗原分類 4 (CD 44)、シグナル伝達リンパ球活性化分子ファミリーメンバー 6 (SLAMF6) または T 細胞因子 1 (TCF1) を発現する。

10

【0443】

一部の実施形態では、前記 EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成、前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD 131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の形成、または前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD 131 サブユニットとを含むヘテロ-EPO 受容体の活性化の前記防止は、がんにおける免疫応答を刺激する。一部の実施形態では、前記 EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成、前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD 131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の形成、または前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD 131 サブユニットとを含むヘテロ-EPO 受容体の活性化の前記防止は、がん細胞を免疫チェックポイント阻害剤に対して感受性にする。一部の実施形態では、前記免疫チェックポイント阻害剤は、細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (CTLA-4) 阻害剤、プログラム細胞死 1 (PD-1) 阻害剤、またはプログラム細胞死リガンド 1 (PD-L1) 阻害剤を含む。一部の実施形態では、前記 CTLA-4 阻害剤は、抗 CTLA-4 抗体を含む。一部の実施形態では、前記 PD-1 阻害剤は、抗 PD-1 抗体を含む。一部の実施形態では、前記 PD-L1 阻害剤は、抗 PD-L1 抗体を含む。一部の実施形態では、前記 EPO タンパク質-ヘテロ-EPO 受容体複合体の形成、前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD 131 サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO 受容体の形成、または前記 EPO 受容体サブユニットと前記 CD 131 サブユニットとを含むヘテロ-EPO 受容体の活性化の前記防止は、腫瘍成長を減弱する。

20

【0444】

一部の実施形態では、前記抗体または前記その機能的断片は、IgG、IgM、IgE、IgA、IgD であるか、それに由来するか、またはその組合せである。一部の実施形態では、前記抗体または前記その機能的断片は、モノクローナル抗体、グラフト化抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはその組合せを含む。

30

【0445】

一部の実施形態では、前記抗原結合ドメインは、Fab、Fab'、(Fab')₂、可変断片 (Fv)、一本鎖可変断片 (scFv)、scFv-Fc、Fab-Fc、VHH、非抗体スキファールド、またはその組合せを含む。一部の実施形態では、前記抗原結合ドメインは、単離されているか、組換えのものか、合成のものか、またはその組合せである。

40

【0446】

一部の実施形態では、前記 VH-CDR3 は、配列番号 63~250 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記 VH-CDR3 は、配列番号 815~943 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記 VH-CDR3 は、配列番号 1331~1466 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0447】

一部の実施形態では、前記 VL-CDR3 は、配列番号 251~438 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態

50

では、前記 V L - C D R 3 は、配列番号 9 4 4 ~ 1 0 7 2 の配列に対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記 V L - C D R 3 は、配列番号 1 4 6 7 ~ 1 6 0 2 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【 0 4 4 8 】

一部の実施形態では、前記 V H は、配列番号 4 3 9 ~ 6 2 6 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記 V H は、配列番号 1 0 7 3 ~ 1 2 0 1 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記 V H は、配列番号 1 6 0 3 ~ 1 7 3 8 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記 V L は、配列番号 6 2 7 ~ 8 1 4 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記 V L は、配列番号 1 2 0 2 ~ 1 3 3 0 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記 V L は、配列番号 1 7 3 9 ~ 1 8 7 4 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

【 0 4 4 9 】

一部の態様では、本明細書に記載される組成物のいずれかの前記抗体または前記その機能的断片をコードする核酸配列を含む組成物が本明細書に提供される。一部の態様では、本明細書に記載される組成物のいずれかを含む細胞が本明細書に提供される。

20

【 0 4 5 0 】

一部の態様では、疾患または状態の処置を必要とする対象において疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に本明細書に記載される組成物のいずれかを投与するステップを含む、方法が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記方法は、前記対象における免疫寛容を阻害するステップをさらに含む。一部の実施形態では、前記免疫寛容を阻害するステップは、ワクチンが前記対象に投与された場合に、前記ワクチンに対する免疫応答を増加させることを含む。一部の実施形態では、前記免疫寛容を阻害するステップは、前記対象におけるウイルス感染または細菌感染に対する免疫応答を増加させることを含む。一部の実施形態では、前記免疫寛容を阻害するステップは、がんによって産生された抗原に対する免疫応答を増加させることを含む。一部の実施形態では、前記疾患または前記状態は、がんまたは感染症を含む。一部の実施形態では、前記がんは、肺がん、乳がん、結腸がん、脳がん、黒色腫、肝細胞癌、または肝臓がんを含む。一部の実施形態では、前記がんは、黒色腫である。一部の実施形態では、前記がんは、肝臓がんである。一部の実施形態では、前記がんは、結腸がんである。一部の実施形態では、前記がんは、乳がんである。

30

【 0 4 5 1 】

一部の態様では、がんを処置する方法であって、組成物またはその誘導体を、がんを有するか、またはがんを有するリスクがある対象に投与するステップを含み、前記組成物または前記その誘導体が、前記対象におけるヘテロ-エリスロポエチン (E P O) 受容体活性を阻害する、方法が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記ヘテロ- E P O 受容体は、骨髄性細胞において発現される。

40

【 0 4 5 2 】

一部の態様では、抗体またはその機能的断片を含む組成物であって、 (i) 前記抗体または前記その機能的断片が、エリスロポエチン (E P O) タンパク質、 E P O 受容体サブユニット、 C D 1 3 1 サブユニット、またはその組合せを含む標的に選択的に結合し ; (i i) 前記標的への前記抗体または前記その機能的断片の結合が、 (a) E P O タンパク質-ヘテロ- E P O 受容体複合体の形成であって、前記ヘテロ- E P O 受容体が前記 E P O 受容体サブユニットおよび前記 C D 1 3 1 サブユニットを含む、形成を促進するか、 (b) 前記 E P O 受容体サブユニットと前記 C D 1 3 1 サブユニットとの間のヘテロ- E P O 受容体の形成を促進するか、または (c) 前記 E P O 受容体サブユニットと前記 C D 1

50

31 サブユニットとを含むヘテロ-EPO受容体の活性化を促進し；(iii) 前記抗体または前記その機能的断片が、抗原結合ドメインを含む、組成物が本明細書に提供される。

【0453】

一部の実施形態では、前記抗原結合ドメインは、VH相補性決定領域1 (VH-CDR1) 配列、VH-CDR2 配列、およびVH-CDR3 配列を含む重鎖可変領域 (VH)；ならびにVL-CDR1 配列、VL-CDR2 配列、およびVL-CDR3 配列を含む軽鎖可変領域 (VL)；VHおよびカッパ鎖可変領域 (VK)；またはVHおよびラムダ鎖可変領域を含む。

【0454】

一部の実施形態では、前記EPOタンパク質-ヘテロ-EPO受容体複合体の形成、前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の形成、または前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の活性化の前記促進は、抗原特異的免疫寛容を誘導する。一部の実施形態では、前記EPOタンパク質-ヘテロ-EPO受容体複合体の形成、前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の形成、または前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の活性化の前記促進は、複数のエフェクターT細胞への複数のナイーブT細胞の分化を阻害する。一部の実施形態では、前記複数のエフェクターT細胞は、表面抗原分類45 (CD45)、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ (IFN γ)、グランザイムB、または腫瘍壊死因子アルファ (TNF α) を発現する。一部の実施形態では、前記EPOタンパク質-ヘテロ-EPO受容体複合体の形成、前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の形成、または前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の活性化の前記促進は、複数の調節性T細胞への複数のナイーブT細胞の分化を促進する。一部の実施形態では、前記複数の調節性T細胞は、表面抗原分類4 (CD4)、CD25、CD127、フォークヘッドボックスP3 (FoxP3)、CD39、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体C型 (CD45RA)、インターロイキン-2 (IL-2)、または細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4 (CTLA-4) を発現する。

【0455】

一部の実施形態では、前記抗体または前記その機能的断片は、ホモ-EPO受容体活性に影響を及ぼさない。一部の実施形態では、前記抗体または前記その機能的断片は、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含むホモ-EPO受容体と結合しない。

【0456】

一部の実施形態では、前記EPOタンパク質-ヘテロ-EPO受容体複合体の形成、前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の形成、または前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の活性化の前記促進は、自己免疫疾患を有する対象または移植された臓器を有する対象に投与された場合に、免疫反応を低減する。一部の実施形態では、前記移植された臓器は、骨髄、腎臓、肝臓、肺、または心臓を含む。一部の実施形態では、前記自己免疫疾患は、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、または多発性硬化症を含む。

【0457】

一部の実施形態では、前記EPOタンパク質-ヘテロ-EPO受容体複合体の形成、前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の形成、または前記EPO受容体サブユニットと前記CD131サブユニットとの間の前記ヘテロ-EPO受容体の活性化の前記促進は、全身性慢性炎症を患っている対象に投与された場合に、全身性慢性炎症を低減する。

【0458】

一部の実施形態では、前記抗体または前記その機能的断片は、IgG、IgM、IgE、IgA、IgDであるか、それに由来するか、またはその組合せである。一部の実施形態では、前記抗体または前記その機能的断片は、モノクローナル抗体、グラフト化抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはその組合せを含む。一部の実施形態では、前記抗原結合ドメインは、Fab、Fab'、(Fab')₂、可変断片(Fv)、一本鎖可変断片(scFv)、scFv-Fc、Fab-Fc、VHH、非抗体スキュフォールド、またはその組合せを含む。一部の実施形態では、前記抗原結合ドメインは、単離されているか、組換えのものか、合成のものか、またはその組合せである。

【0459】

一部の実施形態では、前記VH-CDR3は、配列番号63～250のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記VH-CDR3は、配列番号815～943のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記VH-CDR3は、配列番号1331～1466のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

【0460】

一部の実施形態では、前記VL-CDR3は、配列番号251～438のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記VL-CDR3は、配列番号944～1072のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記VL-CDR3は、配列番号1467～1602のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

20

【0461】

一部の実施形態では、前記VHは、配列番号439～626のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記VHは、配列番号1073～1201のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記VHは、配列番号1603～1738のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記VLは、配列番号627～814のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記VLは、配列番号1202～1330のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記VLは、配列番号1739～1874のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

30

【0462】

一部の実施形態では、前記抗体は、腫瘍と関連する抗原、免疫細胞と関連する細胞表面マーカー、または免疫細胞と関連するシグナル伝達分子に選択的に結合する結合ドメインをさらに含む。一部の実施形態では、前記腫瘍と関連する抗原は、PD1、HER2、EpCAM、CEA、CEACAM5、EGFR、CD33、CD19、CD20、CD22、およびその任意の組合せからなる群より選択される。一部の実施形態では、前記細胞表面マーカーは、DEC205、XCR1、またはXCL1である。一部の実施形態では、前記シグナル伝達分子は、PD-L1、Tim3、またはTREM2である。

40

【0463】

一部の態様では、本明細書に記載される組成物のいずれかの前記抗体または前記その機能的断片をコードする核酸配列を含む組成物が本明細書に提供される。一部の態様では、本明細書に記載される組成物のいずれかを含む細胞が本明細書に提供される。

【0464】

一部の態様では、疾患または状態の処置を必要とする対象において疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に本明細書に記載される組成物のいずれかを投与するステップを含む、方法が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記疾患または前記状

50

態は、自己免疫疾患を含む。一部の実施形態では、前記対象は、臓器移植または外来治療用タンパク質を受けたか、または受ける予定である。

【0465】

一部の態様では、がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与するための組成物であって、前記組成物またはその誘導体が、前記対象の骨髄性細胞におけるエリスロポエチン（EPO）受容体活性を阻害する、組成物が本明細書に提供される。

【0466】

一部の実施形態では、前記組成物は、抗体またはその機能的断片である。一部の実施形態では、前記骨髄性細胞は、マクロファージ、単球、樹状細胞、好塩基球、好中球、および好酸球からなる群より選択される。一部の実施形態では、前記EPO受容体は、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含むホモ-EPO受容体、またはEPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含むヘテロ-EPO受容体を含む。一部の実施形態では、前記EPO受容体は、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含むヘテロ-EPO受容体である。一部の実施形態では、前記組成物は、抗体またはその機能的断片である。一部の実施形態では、前記組成物は、EPO受容体の可溶性断片である。一部の実施形態では、前記可溶性断片は、EPOに結合して、複合体を形成することができる。一部の実施形態では、前記複合体は、EPO受容体活性を防止することができる。一部の実施形態では、前記組成物またはその誘導体は、操作されたエリスロポエチン（EPO）タンパク質を含み、前記操作されたEPOタンパク質は、骨髄性細胞におけるヘテロ-EPO受容体活性を阻害する。

【0467】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン（EPO）タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、骨髄性細胞におけるヘテロ-EPO受容体活性を阻害する、組成物が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、またはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。

【0468】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン（EPO）タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、またはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含み、前記操作されたEPOタンパク質が、骨髄性細胞におけるヘテロ-EPO受容体活性を阻害する、組成物が本明細書に提供される。

【0469】

一部の実施形態では、前記組成物またはその誘導体は、免疫寛容を阻害する。一部の実施形態では、前記組成物またはその誘導体は、免疫応答を促進する。一部の実施形態では、前記組成物またはその誘導体は、複数のエフェクターT細胞への複数のナイーブT細胞の分化を促進する。一部の実施形態では、前記複数のエフェクターT細胞は、表面抗原分類45（CD45）、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ（IFN γ ）、グランザイムB、または腫瘍壊死因子アルファ（TNF α ）を発現する。一部の実施形態では、前記組成物またはその誘導体は、複数の調節性T細胞への複数のナイーブT細胞の分化を阻害する。一部の実施形態では、前記複数の調節性T細胞は、表面抗原分類4（CD4）、CD25、CD127、フォークヘッドボックスP3（FoxP3）、C

10

20

30

40

50

D 3 9、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体 C 型 (C D 4 5 R A)、インターロイキン-2 (I L-2)、または細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (C T L A-4) を発現する。

【0 4 7 0】

一部の実施形態では、前記組成物またはその誘導体は、複数の前駆消耗 T 細胞を増加させる。一部の実施形態では、前記複数の前駆消耗 T 細胞は、表面抗原分類 4 4 (C D 4 4)、シグナル伝達リンパ球活性化分子ファミリーメンバー 6 (S L A M F 6) または T 細胞因子 1 (T C F 1) を発現する。

【0 4 7 1】

一部の実施形態では、前記組成物またはその誘導体は、がんにおける免疫応答を刺激する。一部の実施形態では、前記組成物またはその誘導体は、がん細胞を免疫チェックポイント阻害剤に対して感受性にする。一部の実施形態では、前記免疫チェックポイント阻害剤は、細胞傷害性 T リンパ球関連タンパク質 4 (C T L A-4) 阻害剤、プログラム細胞死 1 (P D-1) 阻害剤、またはプログラム細胞死リガンド 1 (P D-L 1) 阻害剤を含む。一部の実施形態では、前記 C T L A-4 阻害剤は、抗 C T L A-4 抗体を含む。一部の実施形態では、前記 P D-1 阻害剤は、抗 P D-1 抗体を含む。一部の実施形態では、前記 P D-L 1 阻害剤は、抗 P D-L 1 抗体を含む。一部の実施形態では、前記組成物またはその誘導体は、前記がんのサイズを低減するか、または前記がんの成長を減弱する。

【0 4 7 2】

一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、R 1 0 3 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、E 7 2 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、Q 5 8 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、L 6 9 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、L 8 0 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、N 1 4 7 K または R 1 0 3 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、R 1 5 0 E または R 1 0 3 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、Q 6 5 A または E 7 2 R を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、Q 6 5 A、E 7 2 R、または N 8 3 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、K 2 0 A、K 4 5 A、または K 5 2 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、K 1 4 0 A または K 1 5 2 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、K 1 4 0 A、K 1 5 2 A、または K 1 5 4 A を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換は、K 2 0 A、K 4 5 A、K 5 2 A、K 1 4 0 A、K 1 5 2 A、または K 1 5 4 A を含む。一部の実施形態では、位置は、配列番号 1 とのアライメントによって決定される。

【0 4 7 3】

一部の実施形態では、前記操作された E P O は、カルバミル化または P E G 化を含むアミノ酸改変をさらに含む。一部の実施形態では、前記アミノ酸改変は、1 つまたは複数のリシン残基のカルバミル化を含む。

【0 4 7 4】

一部の実施形態では、前記操作された E P O タンパク質は、前記少なくとも 1 つのアミノ酸置換なしの対応する野生型 E P O タンパク質と比較して、ヘテロ-E P O 受容体に対するより低い結合親和性を有する。一部の実施形態では、前記ヘテロ-E P O 受容体活性は、前記ヘテロ-E P O 受容体の細胞内ドメインのリン酸化、またはヤヌスチロシンキナーゼ 2 (J a k 2)、シグナル伝達および転写活性化因子 5 (S t a t 5)、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (M A P K)、細胞外シグナル調節キナーゼ (E R K)、ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (P I 3 K)、v-A k t マウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子/プロテインキナーゼ-B (A k t / P K B)、もしくはラパマイシンの哺乳動物標的 (m T O R) の活性化を含む。一部の実施形態では、前記ヘテロ-E P O 受容体活性は、ウエスタンブロット、酵素結合免疫吸着検定法 (E L I S A)、フローサイトメト

10

20

30

40

50

リーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、またはその組合せによって測定される。

【0475】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、ホモ-EPO受容体に対するより高い結合親和性を有する。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、ホモ-EPO受容体に対する同じレベルの結合親和性を有する。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、ヘテロ-EPO受容体に対する結合親和性よりも低い結合親和性で、ホモ-EPO受容体に結合する。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、ホモ-EPO受容体活性に影響を及ぼさず、それを阻害しない。

10

【0476】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOは、少なくとも5時間の半減期を有する。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、配列番号1973～2019のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記骨髄性細胞は、顆粒球、単球、マクロファージ、または樹状細胞を含む。

【0477】

一部の態様では、本明細書に記載される組成物のいずれかの前記EPOタンパク質をコードする核酸配列を含む組成物が本明細書に提供される。一部の態様では、本明細書に記載される組成物のいずれかを含む細胞が本明細書に提供される。

20

【0478】

一部の態様では、疾患または状態の処置を必要とする対象において疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に本明細書に記載される組成物のいずれかまたは本明細書に記載される細胞のいずれかを投与するステップを含む、方法が本明細書に提供される。

【0479】

一部の態様では、貧血の処置を必要とする対象において貧血を処置する方法であって、前記対象に本明細書に記載される組成物のいずれかまたは本明細書に記載される細胞のいずれかを投与するステップを含み、前記対象が、がんを有する、方法が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記がんは、肺がん、乳がん、結腸がん、脳がん、黒色腫、肝細胞癌、または肝臓がんを含む。一部の実施形態では、前記がんは、黒色腫である。一部の実施形態では、前記がんは、肝臓がんである。一部の実施形態では、前記がんは、結腸がんである。一部の実施形態では、前記がんは、乳がんである。

30

【0480】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン(EPO)タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、ヘテロ-Eリスロポエチン(EPO)受容体活性を促進して、免疫応答を低減し、前記ヘテロ-EPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、少なくとも1つのアミノ酸改変および／またはK20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、もしくはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。

40

【0481】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン(EPO)タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、少なくとも1つのアミノ酸改変および／またはK20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E

50

、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、もしくはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含み、前記操作されたEPOタンパク質が、ヘテロ-エリスロポエチン(EPO)受容体活性を促進し、前記ヘテロ-EPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物が本明細書に提供される。

【0482】

一部の実施形態では、前記ヘテロ-EPO受容体活性の前記促進は、自己免疫疾患を有する対象または移植された臓器を有する対象に投与された場合に、免疫反応を低減する。一部の実施形態では、前記移植された臓器は、骨髄、腎臓、肝臓、肺、または心臓を含む。一部の実施形態では、前記自己免疫疾患は、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、または多発性硬化症を含む。一部の実施形態では、前記ヘテロ-EPO受容体活性の前記促進は、全身性慢性炎症を患っている対象に投与された場合に、全身性慢性炎症を低減する。

10

【0483】

一部の実施形態では、前記ヘテロ-EPO受容体活性の前記促進は、抗原特異的免疫寛容を誘導する。一部の実施形態では、前記ヘテロ-EPO受容体活性の前記促進は、複数のエフェクターT細胞への複数のナイーブT細胞の分化を阻害する。一部の実施形態では、前記複数のエフェクターT細胞は、表面抗原分類45(CD45)、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロングamma(IFN γ)、グランザイムB、または腫瘍壊死因子アルファ(TNF α)を発現する。一部の実施形態では、前記ヘテロ-EPO受容体活性の前記促進は、複数の調節性T細胞への複数のナイーブT細胞の分化を促進する。一部の実施形態では、前記複数の調節性T細胞は、表面抗原分類4(CD4)、CD25、CD127、フォークヘッドボックスP3(FoxP3)、CD39、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体C型(CD45RA)、インターロイキン-2(IL-2)、または細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4(CTLA-4)を発現する。

20

【0484】

一部の実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸置換は、Q65Aを含む。一部の実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸置換は、N83Aを含む。一部の実施形態では、アミノ酸残基位置は、配列番号1とのアライメントによって決定される。

30

【0485】

一部の実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸改変は、カルバミル化またはPEG化を含む化学的改変を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸改変は、1つまたは複数のリシン残基のカルバミル化を含む。一部の実施形態では、前記少なくとも1つのアミノ酸改変は、すべてのリシン残基のカルバミル化を含む。

【0486】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、前記ヘテロ-EPO受容体に対するより高い結合親和性を有する。

【0487】

一部の実施形態では、前記ヘテロ-EPO受容体活性は、前記ヘテロ-EPO受容体の細胞内ドメインのリン酸化、またはヤヌスチロシンキナーゼ2(Jak2)、シグナル伝達および転写活性化因子5(Stat5)、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ(MAPK)、細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3K)、v-Aktマウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子/プロテインキナーゼB(Akt/PKB)、もしくはラパマイシンの哺乳動物標的(mTOR)の活性化を含む。一部の実施形態では、前記ヘテロ-EPO受容体活性は、ウエスタンブロット、酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)、フローサイトメトリーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、またはその組合せによって測定される。

40

【0488】

50

一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含むホモ-EPO受容体に対するより低い結合親和性を有する。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、ホモ-EPO受容体に対する同じレベルの結合親和性を有する。

【0489】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、前記ホモ-EPO受容体活性に影響を及ぼさず、それを阻害しない。一部の実施形態では、前記ホモ-EPO受容体活性は、前記ホモ-EPO受容体の細胞内ドメインのリン酸化、またはヤヌスチロシンキナーゼ2 (Jak2)、シグナル伝達および転写活性化因子5 (Stat5)、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPK)、細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK)、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ (PI3K)、v-Aktマウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子/プロテインキナーゼ-B (Akt/PKB)、もしくはラパマイシンの哺乳動物標的 (mTOR) の活性化を含む。一部の実施形態では、前記ホモ-EPO受容体活性は、ウエスタンブロット、酵素結合免疫吸着検定法 (ELISA)、フローサイトメトリアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、またはその組合せによって測定される。

10

【0490】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOは、少なくとも5時間の半減期を有する。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、配列番号1973~2019のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

20

【0491】

一部の実施形態では、前記ヘテロ-EPORは、免疫細胞上にある。一部の実施形態では、前記免疫細胞は、マクロファージ、樹状細胞、T細胞、ナチュラルキラー細胞、またはB細胞を含む。一部の実施形態では、前記T細胞は、細胞傷害性T細胞を含む。一部の実施形態では、前記ヘテロ-EPORは、内皮細胞上にある。

【0492】

一部の態様では、本明細書に記載される組成物のいずれかの前記EPOタンパク質をコードする核酸配列を含む組成物が本明細書に提供される。一部の態様では、本明細書に記載される組成物のいずれかを含有する細胞が本明細書に提供される。

30

【0493】

一部の態様では、疾患または状態の処置を必要とする対象において疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に本明細書に記載される組成物のいずれかまたは本明細書に記載される細胞のいずれかを投与するステップを含む、方法が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記疾患または前記状態は、自己免疫疾患を含む。一部の実施形態では、前記対象は、臓器移植または外来治療用タンパク質を受けたか、または受ける予定である。

【0494】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン (EPO) タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、ホモ-エリスロポエチン (EPO) 受容体活性を促進し、ヘテロ-EPO受容体活性に対して低減された効果を有し、前記ホモ-EPO受容体が、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含み、前記ヘテロ-EPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、またはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ

40

50

酸置換を含む。

【0495】

一部の態様では、操作されたエリスロポエチン（EPO）タンパク質を含む組成物であって、前記操作されたEPOタンパク質が、K20A、N24Q、N24A、N24S、N38Q、N38A、N38S、K45A、K52A、Q58A、E62R、E62A、Q65A、L69A、E72A、R76E、R76A、L80A、N83Q、N83A、N83S、S84A、S85A、K97A、K116A、G151A、R103A、K45D、N147K、R150E、Q65A、E72R、N83A、K140A、K152A、またはK154Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含み、前記操作されたEPOタンパク質が、ホモエリスロポエチン（EPO）受容体活性を促進し、ヘテロEPO受容体活性に対して低減された効果を有するか、またはヘテロEPO受容体活性を減少させ、前記ホモEPO受容体が、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含み、前記ヘテロEPO受容体が、EPO受容体サブユニットおよびCD131サブユニットを含む、組成物が本明細書に提供される。

10

【0496】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOは、前記ヘテロEPO受容体活性に対して実質的な効果を有さない。一部の実施形態では、前記操作されたEPOは、前記ヘテロEPO受容体活性を阻害する。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、E72A、Q58A、L69A、またはL80Aを含む少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、Q65A、E72R、およびN83Aアミノ酸置換を含む。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、K20A、K45A、およびK52Aアミノ酸置換を含む。一部の実施形態では、位置は、配列番号1とのアライメントによって決定される。

20

【0497】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOは、カルバミル化またはPEG化を含むアミノ酸改変をさらに含む。一部の実施形態では、前記アミノ酸改変は、1つまたは複数のリシン残基のカルバミル化を含む。

【0498】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、前記ホモEPO受容体に対するより高い結合親和性を有する。

30

【0499】

一部の実施形態では、前記ホモEPO受容体活性は、前記ホモEPO受容体の細胞内ドメインのリン酸化、またはヤヌスチロシンキナーゼ2（Jak2）、シグナル伝達および転写活性化因子5（Stat5）、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ（MAPK）、細胞外シグナル調節キナーゼ（ERK）、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ（PI3K）、v-Aktマウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子／プロテインキナーゼ-B（Akt／PKB）、もしくはラパマイシンの哺乳動物標的（mTOR）の活性化を含む。一部の実施形態では、前記ホモEPO受容体活性は、ウエスタンブロット、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）、フローサイトメトリーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、またはその組合せによって測定される。

40

【0500】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、前記少なくとも1つのアミノ酸置換なしの対応する野生型EPOタンパク質と比較して、前記ヘテロEPO受容体に対する同じレベルの結合親和性を有する。

【0501】

一部の実施形態では、前記ヘテロEPO受容体活性は、前記ホモEPO受容体の細胞内ドメインのリン酸化、またはヤヌスチロシンキナーゼ2（Jak2）、シグナル伝達および転写活性化因子5（Stat5）、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ（MAPK）、細胞外シグナル調節キナーゼ（ERK）、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ

50

(PI3K)、v-Aktマウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子／プロテインキナーゼB (Akt／PKB)、もしくはラパマイシンの哺乳動物標的 (mTOR) の活性化を含む。一部の実施形態では、前記ヘテロ-EPO受容体活性は、ウェスタンブロット、酵素結合免疫吸着検定法 (ELISA)、フローサイトメトリーアッセイ、細胞増殖アッセイ、アポトーシスアッセイ、またはその組合せによって測定される。

【0502】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、免疫寛容に影響を及ぼさない。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、複数のエフェクターT細胞への複数のナイーブT細胞の分化に影響を及ぼさない。一部の実施形態では、前記複数のエフェクターT細胞は、表面抗原分類45 (CD45)、CD3、CD8、パーフォリン、インターフェロンガンマ (IFN γ)、グランザイムB、または腫瘍壊死因子アルファ (TNF α) を発現する。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、複数の調節性T細胞への複数のナイーブT細胞の分化に影響を及ぼさない。一部の実施形態では、前記複数の調節性T細胞は、表面抗原分類4 (CD4)、CD25、CD127、フォークヘッドボックスP3 (FoxP3)、CD39、タンパク質チロシンホスファターゼ受容体C型 (CD45RA)、インターロイキン-2 (IL-2)、または細胞傷害性Tリンパ球関連タンパク質4 (CTLA-4) を発現する。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、免疫応答に影響を及ぼさない。

【0503】

一部の実施形態では、前記操作されたEPOは、少なくとも5時間の半減期を有する。一部の実施形態では、前記操作されたEPOタンパク質は、配列番号1973～2019のいずれか1つに対して、少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、前記ホモ-EPORは、赤血球前駆細胞上にある。

【0504】

一部の態様では、本明細書に記載される組成物のいずれかの前記EPOタンパク質をコードする核酸配列を含む組成物が本明細書に提供される。一部の態様では、本明細書に記載される組成物のいずれかを含む細胞が本明細書に提供される。

【0505】

一部の態様では、疾患または状態の処置を必要とする対象において疾患または状態を処置する方法であって、前記対象に本明細書に記載される組成物のいずれかまたは本明細書に記載される細胞のいずれかを投与するステップを含む、方法が本明細書に提供される。一部の実施形態では、疾患または状態は、がんを含む。

【0506】

一部の態様では、貧血の処置を必要とする対象において貧血を処置する方法であって、前記対象に本明細書に記載される組成物のいずれかまたは本明細書に記載される細胞のいずれかを投与するステップを含む、方法が本明細書に提供される。一部の実施形態では、前記がんは、肺がん、乳がん、結腸がん、脳がん、黒色腫、または肝臓がんを含む。一部の実施形態では、前記がんは、黒色腫である。一部の実施形態では、前記がんは、肝臓がんである。一部の実施形態では、前記がんは、結腸がんである。一部の実施形態では、前記がんは、乳がんである。

【0507】

一部の態様では、がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与するための組成物であって、前記対象の骨髄性細胞におけるエリスロポエチン (EPO) 受容体活性を阻害する化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含む、組成物が本明細書に提供される。

【0508】

一部の実施形態では、EPO受容体は、ヘテロ-EPO受容体である。一部の実施形態では、ヘテロ-EPO受容体は、EPOサブユニットおよびCD131サブユニットを含む。一部の実施形態では、ヘテロ-EPO受容体は、マクロファージ、単球、樹状細胞、好塩基球、好中球、または好酸球上にある。一部の実施形態では、化合物は、低酸素誘導

10

20

30

40

50

因子（HIF）、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、エストロゲン受容体、ホスホリパーゼC- γ 1、またはCbl/p85/Epislin-1経路の促進の阻害剤である。一部の実施形態では、化合物は、低酸素誘導因子（HIF）、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、またはエストロゲン受容体の阻害剤である。一部の実施形態では、化合物は、低酸素誘導因子（HIF）の阻害剤である。

【0509】

一部の実施形態では、化合物は、CAY10585（LW6）、ケトミン、クリシン、ジメチルビスフェノールA、エチノマイシン、2-メトキシエストラジオール（2ME2）、SYP-5、PX-478 2HCl、KC7F2、GN44028、ベルコペプチン、FM19G11、PT2399、PT2385、ベルズチファン、HIF-2 α -IN-1、HIF-2 α -IN-2、HIF-2 α -IN-3、HIF-2 α -IN-4、TC-S 700、IDF-11774、ペオニフロリン、エメチン塩酸塩、グルコサミン、PX12、ピテキシン、BAY 87-2243、リフィシグアト（YC-1）、ポリノスタット、タネスピマイシン、シリビニン、ジアリルトリスルフィド（DATS）、ヘルボキシジエン（GEX1A）、セラストロール、フェネチルイソチオシアネート（PEITC）、グリオトキシシン、スルフォラファン、アクリフラビン、エモジン、カルデノリド、3,3'-ジインドリルメタン（DIM）、シュードラル酸-B（PAB）、ババキニン、アンドログラホリド、イソリキリチゲニン、ウォンドニン、チモキノン、またはクルクミンである。

【0510】

化合物が、CAY10585（LW6）、ケトミン、クリシン、ジメチルビスフェノールA、エチノマイシン、2-メトキシエストラジオール（2ME2）、SYP-5、PX-478 2HCl、KC7F2、GN44028、ベルコペプチン、FM19G11、PT2399、PT2385、ベルズチファン、HIF-2 α -IN-1、HIF-2 α -IN-2、HIF-2 α -IN-3、HIF-2 α -IN-4、TC-S 700、IDF-11774、ペオニフロリン、エメチン塩酸塩、グルコサミン、PX12、ピテキシン、BAY 87-2243、リフィシグアト（YC-1）、ポリノスタット、またはタネスピマイシンである、請求項224～231のいずれか一項に記載の組成物。一部の実施形態では、化合物は、ケトミン、エチノマイシン、PT2399、ベルズチファン、ポリノスタット、またはタネスピマイシンである。一部の実施形態では、化合物は、シリビニン、ジアリルトリスルフィド（DATS）、ヘルボキシジエン（GEX1A）、セラストロール、フェネチルイソチオシアネート（PEITC）、グリオトキシシン、スルフォラファン、アクリフラビン、エモジン、カルデノリド、3,3'-ジインドリルメタン（DIM）、シュードラル酸-B（PAB）、ババキニン、アンドログラホリド、イソリキリチゲニン、ウォンドニン、チモキノン、またはクルクミンである。

【0511】

一部の態様では、がんまたは慢性感染症状態を有する対象に投与するための組成物であって、免疫チェックポイント遮断抵抗性が前記対象において逆転されるようにエリスロポエチン（EPO）受容体活性を阻害する化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含む、組成物が本明細書に提供される。

【0512】

一部の実施形態では、EPO受容体は、ヘテロ-EPO受容体である。一部の実施形態では、ヘテロ-EPO受容体は、EPOサブユニットおよびCD131サブユニットを含む。一部の実施形態では、免疫チェックポイント遮断は、CTLA-4、PD-1、またはPD-L1の阻害剤である。一部の実施形態では、CTLA-4、PD-1、またはPD-L1の阻害剤は、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、セミプリマブ、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、イピリムマブ、リリルマブ、およびBMS-986016である。一部の実施形態では、ヘテロ-EPO受容体は、マクロファージ、単球、樹状細胞、好塩基球、好中球、または好酸球上にある。一部の実施形態では、化合物は、低酸素誘導因子（HIF）、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、エストロゲン受

10

20

30

40

50

容体、ホスホリパーゼC- γ 1、またはCbl/p85/Episn-1経路の阻害剤である。一部の実施形態では、化合物は、低酸素誘導因子(HIF)、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 、またはIL-6の阻害剤である。一部の実施形態では、化合物は、低酸素誘導因子(HIF)の阻害剤である。

【0513】

一部の実施形態では、化合物は、CAY10585(LW6)、ケトミン、クリシン、ジメチル-ビスフェノールA、エチノマイシン、2-メトキシエストラジオール(2ME2)、SYP-5、PX-478 2HCl、KC7F2、GN44028、ベルコペプチン、FM19G11、PT2399、PT2385、ベルズチファン、HIF-2 α -IN-1、HIF-2 α -IN-2、HIF-2 α -IN-3、HIF-2 α -IN-4、TC-S700、IDF-11774、ペオニフロリン、エメチン塩酸塩、グルコサミン、PX12、ピテキシン、BAY87-2243、リフィシグアト(YC-1)、ポリノスタット、タネスピマイシン、シリビニン、ジアリルトリスルフィド(DATS)、ヘルボキシジエン(GEX1A)、セラストロール、フェネチルイソチオシアネート(PEITC)、グリオトキシン、スルフォラファン、アクリフラビン、エモジン、カルデノリド、3,3'-ジインドリルメタン(DIM)、シュードラル酸-B(PAB)、ババキニン、アンドログラホリド、イソリキリチゲニン、ウォンドニン、チモキノン、またはクルクミンである。

10

【0514】

一部の実施形態では、化合物は、CAY10585(LW6)、ケトミン、クリシン、ジメチル-ビスフェノールA、エチノマイシン、2-メトキシエストラジオール(2ME2)、SYP-5、PX-478 2HCl、KC7F2、GN44028、ベルコペプチン、FM19G11、PT2399、PT2385、ベルズチファン、HIF-2 α -IN-1、HIF-2 α -IN-2、HIF-2 α -IN-3、HIF-2 α -IN-4、TC-S700、IDF-11774、ペオニフロリン、エメチン塩酸塩、グルコサミン、PX12、ピテキシン、BAY87-2243、リフィシグアト(YC-1)、ポリノスタット、またはタネスピマイシンである。一部の実施形態では、化合物は、ケトミン、エチノマイシン、PT2399、ベルズチファン、ポリノスタット、またはタネスピマイシンである。一部の実施形態では、化合物は、シリビニン、ジアリルトリスルフィド(DATS)、ヘルボキシジエン(GEX1A)、セラストロール、フェネチルイソチオシアネート(PEITC)、グリオトキシン、スルフォラファン、アクリフラビン、エモジン、カルデノリド、3,3'-ジインドリルメタン(DIM)、シュードラル酸-B(PAB)、ババキニン、アンドログラホリド、イソリキリチゲニン、ウォンドニン、チモキノン、またはクルクミンである。

20

30

【0515】

一部の態様では、対象に投与するための組成物であって、ヘテロ-エリスロポエチン(EPO)受容体活性を促進する化合物、薬学的に許容されるその塩、溶媒和物、または立体異性体を含み、前記ヘテロ-EPO受容体が、抗原に対する免疫寛容が前記対象において増加するようにEpoRサブユニットおよびCD131サブユニットを含み、前記化合物が、ホモ-EPO受容体活性に対して実質的な効果を有さず、前記ホモ-EPO受容体が、少なくとも2つのEPO受容体サブユニットを含む、組成物が本明細書に提供される。

40

【0516】

一部の実施形態では、ヘテロ-EPO受容体は、マクロファージ、単球、樹状細胞、好塩基球、好中球、または好酸球上にある。一部の実施形態では、化合物は、HIF-プロリルヒドロキシラーゼ(PHD)、NHF-4、GATA因子、IL-17、AKT/NFkB/HIF1経路、エストロゲン受容体、上皮膜タンパク質1(EMP-1)の阻害剤である。一部の実施形態では、化合物は、HIF-プロリルヒドロキシラーゼ(PHD)、NHF-4、GATA因子、またはIL-17の阻害剤である。一部の実施形態では、化合物は、HIF-プロリルヒドロキシラーゼ(PHD)の阻害剤である。一部の実施

50

形態では、化合物は、ロキサデュスタット、バダデュスタット、エナロデュスタット、デシデュスタット、モリデュスタット、ジメチルオキサロイルグリシン、ダプロデュスタット、プロリルヒドロキシラーゼ阻害剤1、TM6089、TRC160334、PHD-1-IN-1、MK-8617、JNJ-42041935、TP0463518、IOX(JICL38)、IOX4、IOX3(FG-2216)、デンシチン、HIF-PHD-IN-1、AKB-6899、VH298、M1001、ML228、ジメチルオキサリルグリシン(DMOG)、ミトキサントロン、アンジオテンシンII(Ang II)、または17β-エストラジオールである。

【0517】

一部の実施形態では、化合物は、ロキサデュスタット、バダデュスタット、エナロデュスタット、デシデュスタット、モリデュスタット、ジメチルオキサロイルグリシン、ダプロデュスタット、プロリルヒドロキシラーゼ阻害剤1、TM6089、TRC160334、PHD-1-IN-1、MK-8617、JNJ-42041935、TP0463518、IOX(JICL38)、IOX4、IOX3(FG-2216)、デンシチン、HIF-PHD-IN-1、AKB-6899、VH298、M1001、ML228、またはジメチルオキサリルグリシン(DMOG)である。

【0518】

一部の実施形態では、化合物は、ミトキサントロン、アンジオテンシンII(Ang II)、または17β-エストラジオールである。一部の実施形態では、化合物は、EPOアゴニストである。一部の実施形態では、化合物は、LG5640である。一部の実施形態では、免疫寛容は、移植臓器または自己抗原に対するものである。一部の実施形態では、免疫寛容は、移植臓器に対するものである。一部の実施形態では、免疫寛容は、免疫抑制状態に対するものである。一部の実施形態では、免疫寛容は、自己抗原に対するものである。一部の実施形態では、免疫寛容は、自己抗原に対するものである。

【0519】

一部の態様では、がんを有する対象に投与するための組成物であって、RNA干渉(RNAi)分子を含み、前記RNAiが、エリスロポエチン(EPO)タンパク質をコードするmRNA分子、EPO受容体サブユニットをコードするmRNA分子、CD131サブユニットをコードするmRNA分子、およびその任意の組合せからなる群より選択されるRNA分子に結合し、前記RNAiを前記対象に投与する際に、前記対象の腫瘍量が、低減される、組成物が本明細書に提供される。

【0520】

一部の実施形態では、腫瘍量は、0.5 cm³未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、0.2 cm³未満に低減される。一部の実施形態では、腫瘍量は、約0.2 cm³に低減される。

【0521】

一部の態様では、がんを有する対象に投与するための組成物であって、RNA干渉(RNAi)分子を含み、前記RNAiが、エリスロポエチン(EPO)タンパク質をコードするmRNA分子、EPO受容体サブユニットをコードするmRNA分子、CD131サブユニットをコードするmRNA分子、およびその任意の組合せからなる群より選択されるRNA分子に結合し、前記RNAiを前記対象に投与する際に、前記対象の免疫応答が、より多くのエフェクターT(Teff)細胞を誘導することによって、増加する、組成物が本明細書に提供される。

【0522】

一部の実施形態では、がんは、肝細胞癌である。一部の実施形態では、RNAiは、対象におけるEPO半減期を低減する。一部の実施形態では、RNAiは、対象におけるEPOレベルを低減する。

【0523】

一部の実施形態では、低減されたEPO半減期は、生存率を増加させる。一部の実施形態では、生存率は、2倍に増加する。一部の実施形態では、RNAiは、ナノ粒子中にあ

10

20

30

40

50

る。一部の実施形態では、ナノ粒子は、脂質ナノ粒子である。一部の実施形態では、RNAi分子は、siRNA分子、miRNA分子、アンチセンスRNA分子、またはlncRNA分子である。

【0524】

一部の実施形態では、RNAiは、siRNA分子である。一部の実施形態では、siRNA分子は、約15～約30ヌクレオチドの配列の長さを有する。一部の実施形態では、siRNA分子は、約21～約30ヌクレオチドの配列の長さを有する。一部の実施形態では、siRNA分子は、二本鎖または一本鎖である。

【0525】

一部の実施形態では、一本鎖siRNA分子は、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39、配列番号40、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号50、配列番号51、配列番号52、配列番号53、配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、配列番号60、配列番号61、および配列番号62の少なくとも1つと少なくとも80%、85%、90%、または95%同一である核酸配列を含む。

【0526】

一部の実施形態では、一本鎖siRNA分子は、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号21、配列番号22、配列番号23、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号31、配列番号32、配列番号33、配列番号34、配列番号35、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39、配列番号40、配列番号42、配列番号43、配列番号44、配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、配列番号50、配列番号51、配列番号52、配列番号53、配列番号54、配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、配列番号60、配列番号61、および配列番号62の少なくとも1つと100%同一である核酸配列を含む。

一部の態様では、対象におけるがんを処置するための方法であって、本明細書に記載される一本鎖siRNAのいずれか1つを含む治療有効量の医薬組成物を、エリスロポエチン（EPO）タンパク質、EPO受容体サブユニット、またはCD131サブユニットの発現レベルを低減するのに十分な用量およびスケジュールで、前記対象に投与するステップを含む、方法が本明細書に提供される。

【0527】

本明細書に引用されたすべての刊行物および特許は、それぞれ個々の刊行物または特許が、参照により組み込まれることが具体的におよび個々に示されたかのように、参照によって本明細書に組み込まれ、刊行物が引用されるものに関連して方法および／または材料を開示および説明するために参照によって本明細書に組み込まれる。

【0528】

以下の実施例は、本開示を説明することを単に意図する。他のアッセイ、研究、プロセス、プロトコル、手順、方法論、試薬および条件が、必要に応じて、代替的に使用されてもよい。

【実施例】

【0529】

(実施例 1)

EPOアナログ／操作されたEPO

8種類のEPOアナログを操作することができる。EPOアナログは、ヘテロ-EPORと結合することができ、ホモ-EPORと結合することができず、ヘテロ-EPORのアゴニストまたはアンタゴニストのいずれかであり得る。他のEPOアナログは、ホモ-EPORと結合することができ、ヘテロ-EPORと結合することができず、ホモ-EPORのアゴニストまたはアンタゴニストのいずれかであり得る。EPOアナログは、ホモ-EPORおよびヘテロ-EPORの両方と結合することができ、両方のアゴニスト、両方のアンタゴニスト、または一方のアゴニストかつ他方のアンタゴニストであり得る。

【0530】

ヘテロ-EPORと結合し（アゴニストとして）、ホモ-EPORと結合しないヒトEPOアナログを操作する。これらのEPOアナログは、Fc融合タンパク質として発現させることができる。部位1におけるK20E、T44I、K45I、V46A、F48G、R143A、R150A、R150Q、L155A、およびL155NのEPO変異は、ホモ-EPORに対する*in vitro*生物活性が1/5未満になったことが示されたが、部位1におけるK45I、N147K、R150E、およびG151Aの変異は、活性が1/50未満になったことが示された。これらの変異は、ホモ-EPORに対する親和性のかなりの低減をもたらす。これらの変異は、ヘリックスBに影響を及ぼさず、依然として、ヘテロ-EPORに結合し得る。

【0531】

ヘテロ-EPORと結合し（アゴニストとして）、ホモ-EPORと結合する（アンタゴニストとして）EPOアナログを操作する。ホモ-EPORの活性化を低減する変異を有するEPOアナログは、結合を許容し得る。例えば、部位2におけるV11S、R14A、R14E、Y15I、K97A、K97E、S104A、L108A、およびR110EのEPO変異は、ホモ-EPORの*in vitro*生物活性が1/5未満になったことが示されたが、部位2におけるR14Q、S100E、S100T、R103A、R103E、R103H、R103N、R103Q、S104I、およびL108Kの変異は、活性が1/50未満になったことが示された。これらの変異は、ヘリックスBに影響を及ぼさず、その結果、これらの変異体は、ヘテロ-EPORに結合し、ホモ-EPORのアンタゴニストとして作用するはずである。

【0532】

部位1および2における変異は、組み合わせられて、ホモ-EPORへの結合（アンタゴニストとして）ありまたはなしで、ヘテロ-EPORと結合する（アゴニストとして）ヒトEPOアナログが作製され得る。ヘテロ-EPORと結合し（アゴニストとして）、およびホモ-EPORの結合が低減されたか、またはそれと結合しないEPOアナログの他の例は、上記に記載されたヘリックスBペプチドである。

【0533】

ヘテロ-EPORと結合し（アンタゴニストとして）、ホモ-EPORと結合しないヒトEPOアナログを操作する。これらのEPOアナログは、Fc融合タンパク質として発現させることができる。ヘリックスBにおける表面残基（Q58、E62、Q65、L69、E72、R76、A79、L80、N83、S84、およびS85）は、ヘテロ-EPORとの相互作用において重要な役割を果たすと予想され、変異される。例えば、ヘリックスBをコードする核酸は、アラニンスキャニングおよび／または飽和変異誘発を使用して変異させることができる。ヘテロ-EPORと結合し、ヘテロ-EPORの活性化について低減された（しかし、依然としてヘテロ-EPORと結合する）変異を、ホモ-EPORへのEPOアナログ結合を低減する上記に記載された変異と組み合わせることができる。得られたEPOアナログは、ヘテロ-EPORをアンタゴナイズし、ホモ-EPORへの結合が低減されているか、またはそれに結合しない。

【0534】

ホモ-EPORと結合し（アゴニストとして）、ヘテロ-EPORと結合しないEPO

10

20

30

40

50

アナログを操作する。上記に記載されたヘリックスB変異は、ヘテローEPORへの結合を低減する変異についてスクリーニングされる。これらのEPOアナログは、ホモEPORに対するアゴニストであり、ヘテローEPORへの結合が低減されているか、またはそれに結合しない。

【0535】

ホモEPORと結合し（アンタゴニストとして）、ヘテローEPORと結合しないEPOアナログを操作する。これらのEPOアナログは、Fc融合タンパク質として発現させることができる。上記に記載されたヘリックスB変異は、ヘテローEPORへの結合を低減する変異についてスクリーニングされる。これらのヘリックスB変異は、ホモEPORの活性化を低減するが、結合を許容するEPO変異と組み合わせられる。例えば、部位2におけるV11S、R14A、R14E、Y15I、K97A、K97E、S104A、L108A、およびR110EのEPO変異は、*in vitro*生物活性が1/5未満になったことが示されたが、部位2におけるR14Q、S100E、S100T、R103A、R103E、R103H、R103N、R103Q、S104I、およびL108Kの変異は、活性が1/50未満になったことが示された。これらのEPOアナログは、ホモEPORに結合する親和性を維持しているが、シグナル伝達活性を失い、その結果、ホモEPORのアンタゴニストであり得、ヘリックスB変異は、ヘテローEPORへの結合を低減する。

10

【0536】

ホモEPOR（アゴニストとして）およびヘテローEPOR（アンタゴニストとして）と結合するヒトEPOアナログを操作する。これらのEPOアナログは、Fc融合タンパク質として発現させることができる。活性を低減するが、結合を許容する、ヘリックスBにおける変異を有するEPOアナログは、ヘテローEPORのアンタゴニストであり得る。EPOヘリックスA、CおよびDは、変更されず、その結果、ホモEPORで、アゴニストとして作用することができる。

20

【0537】

ホモEPOR（アンタゴニストとして）およびヘテローEPOR（アンタゴニストとして）と結合するヒトEPOアナログを操作する。活性を低減するが、結合を許容する、ヘリックスBにおける変異を有するEPOアナログは、ヘテローEPORのアンタゴニストであり得る。これらの変異は、ホモEPORに対するアンタゴニストをもたらすEPO変異と組み合わせられる。例えば、部位2におけるV11S、R14A、R14E、Y15I、K97A、K97E、S104A、L108A、およびR110EのEPO変異は、*in vitro*生物活性が1/5未満になったことが示されたが、部位2におけるR14Q、S100E、S100T、R103A、R103E、R103H、R103N、R103Q、S104I、およびL108Kの変異は、活性が1/50未満になったことが示された。これらの変異は、ヘテローEPORアンタゴニストを作製するヘリックスB変異と組み合わせられ、その結果、これらのEPOアナログは、ヘテローEPORおよびホモEPORの両方をアンタゴナイズするはずである。

30

【0538】

（実施例2）

ヒトEPOアナログ／操作されたEPOの発現

それぞれのヒトEPOアナログについてのcDNAを合成し、ヒト免疫グロブリンFcドメインまたはアルブミンと融合する。融合タンパク質を、hEF1αプロモーターの制御下の哺乳動物発現ベクターにクローニングする。リンカーは、ドメイン間に挿入される。ベクターは、哺乳動物細胞選択のためのピューロマイシン耐性遺伝子、およびE. coli繁殖のためのアンピシリン耐性遺伝子を含む。すべての融合タンパク質は、細胞外への分泌のために、N末端にシグナルペプチドを含む。発現ベクタープラスミドを使用して、100mlの293細胞を一過性にトランスフェクトする。培養培地を72時間後に回収し、融合タンパク質を精製する。

40

【0539】

50

(実施例 3)

EPOアナログ／操作されたEPOによる *in vitro* 結合

ホモ-EPOR、ヘテロ-EPOR、またはCD131／CD131の細胞外ドメインに結合するEPOアナログの能力を、機能的ELISAにおいて決定する。可溶性ホモ-EPOR、CD131／CD131、およびヘテロ-EPOR (Sino Biological) を、標準ELISAにコーティングする。ウェルを2%のBSAでブロッキングする。EPOアナログの希釈物を、プレートに添加し、インキュベートする。洗浄後、結合したEPOアナログを、ビオチン化ポリクローナル抗EPO (R&D Systems)、それに続いて、ストレプトアビジンHRPコンジュゲートまたは他の適切な二次抗体を使用して、検出する。洗浄後、TMB試薬 (Sigma) を添加し、450nmでのOD吸収を、プレートリーダーにおいて測定する。

10

【0540】

(実施例 4)

EPOアナログ／操作されたEPOによる細胞結合

EPOアナログを使用して、ホモ-EPOR、ヘテロ-EPOR、および／またはCD131／CD131の1つ（またはそれより多く）を発現する細胞を染色する。EPOR、CD131、またはEPORおよびCD131を発現する293細胞を、レンチウイルス形質導入によって作成する。ホモ-EPORもしくはCD131／CD131、および／またはヘテロ-EPORの発現を、市販の抗EPORおよび抗CD131抗体による染色によって確認する。ヒト白血病UT-7細胞、赤白血病TF-1細胞、単球性THP-1細胞は、EPORおよびCD131を発現することが公知であり、EPOアナログの結合を確認するために使用される。ホモ-EPORを発現するマウス赤血球前駆細胞およびヘテロ-EPORを発現する骨髓性細胞も、EPOアナログの結合を確認するために使用することができる。染色実験のために、細胞を、EPOアナログとともにインキュベートする。洗浄後、結合したEPOバリエーションを、ビオチン化ポリクローナル抗EPO (R&D Systems)、それに続いて、ストレプトアビジンPEコンジュゲートまたは他の適切な二次抗体を使用して、検出する。EPOアナログの染色を定量化する。

20

【0541】

(実施例 5)

ホモ-EPORおよびヘテロ-EPORの活性化

受容体を発現する細胞（ホモ-EPOR、ヘテロ-EPOR、またはCD131／CD131）を、24時間血清欠乏させ、次いで、EPOアナログを含有する培養培地中でインキュベートする。細胞溶解物をこれらの細胞から作製し、次いで、溶解物を、リン酸化EPOR、CD131、JAK2、およびSTAT5に対する抗体を用いるウェスタンブロット分析に付す。あるいは、受容体の活性化を、STAT5-ルシフェラーゼレポーターを用いて評価することができる。リガンド結合によるホモ-EPOR、ヘテロ-EPOR、またはCD131／CD131の活性化は、受容体の細胞内ドメイン、ならびに下流のJAK2およびSTAT5のリン酸化をもたらす。

30

【0542】

(実施例 6)

EPOアナログの赤血球生成刺激活性および／または抗原特異的寛容活性

ヒト赤白血病TF-1細胞の増殖は、ホモ-EPORの活性化に依存する。TF-1細胞を、異なる濃度のEPOアナログで処置し、TF-1細胞増殖を特徴付ける。

40

【0543】

FoxP3⁺Tregの誘導は、抗原提示細胞におけるヘテロ-EPORの活性化によって媒介される。ヒト末梢血CD4⁺T細胞を、抗CD3刺激下で、CD14⁺単球と共培養する。IL-2およびEPOアナログ両方の存在下で、FoxP3⁺Tregの誘導を特徴付ける。

【0544】

別々に、マウス骨髓由来EpoR⁺およびEpoR-cDC1細胞に、*in vitro*

50

oでOVAを負荷し、EPOアナログの存在下で、ナイーブOTII細胞と共培養する。FoxP3 T細胞のデノボ誘導を使用して、EPOアナログの活性化を促進する抗原特異的寛容を示す。

【0545】

(実施例7)

EPOアナログの薬物動態評価

EPOアナログを、マウスに皮下(s.c.)または腹腔内(i.p.)注射する。血清試料を、注射後最大で10日間、異なる時点で取得する。血清試料中の融合タンパク質の濃度を、サンドイッチELISAアッセイを使用して決定する。

【0546】

(実施例8)

EPOアナログの赤血球生成活性

正常赤血球マウス(normocyt hemic mouse)に、EPOアナログをs.c.またはi.p.注射する。マウスを、前駆赤血球において、ヒトホモ-EPORを発現するように操作することができる。血液試料を、さまざまな時に取得する。ヘモグロビンレベル、ヘマトクリットおよび網状赤血球カウントを決定する。骨髄および脾臓における赤血球前駆細胞の頻度を測定し、髄質および髄外赤血球生成に対する異なるEPOアナログの効果を、それぞれ、決定する。脾臓EPOR+cDC1および赤脾髄MΦの拡大増殖を使用して、ヘテロ-EPORの活性化を評価する。

【0547】

(実施例9)

移植におけるEPOアナログによる免疫寛容の誘導

C57BL/6J心臓移植のBALB/cレシピエントを、単回周術期用量のCTLA4-Igありまたはなしで、移植後最初の3日間、ヘテロ-EPOR/CD131に対するアゴニストであるEPOアナログまたはビヒクル対照で処置する。ビヒクル処置レシピエントは、約1週間で移植片を拒絶するが、免疫寛容原性EPOアナログは、移植片の生着を>14日間延長する。CTLA4-Igは、移植片の生着を約6週間に延長し、CTLA4-Igと免疫寛容原性EPOアナログによる併用療法は、移植片の生着を、10週間を超えるまで延長するように、相乗的に作用する。

【0548】

加えて、移植に先行する自己アポトーシス細胞は、致死性マウス移植片対宿主(GvHD)モデルにおいて生存を増強するので、免疫寛容原性EPOアナログを、体外フォトフェレーシス(ECP)誘導アポトーシス細胞と一緒に投与して、GvHDを防止し、生存を増強する。BALB/cマウスに、C57BL/6J T細胞枯渇BM(TCD-BM)と従来のT細胞のみ、または注射前のECP処置BALB/c細胞を注射する。C57BL/6→BALB/cマウスにおける骨髄移植(BMT)48時間前のECP処置は、生存を改善する。免疫寛容原性EPOアナログを、ECP誘導アポトーシス細胞の投与と同じ日から開始して、10日間与える。ECPで処置された群のみ、生存しているマウスがGvHDの徴候を示さずに、生存の有意な改善(約5週間のメジアン生存 対 約1週間のメジアン生存)を示すと予想される。免疫寛容原性EPOアナログの共投与は、生存をさらに改善すると予想される。

【0549】

(実施例10)

EPOアナログによる抗原特異的寛容の増強

特異抗原を、DCを特異的に認識し、それと結合する抗DEC205(Bonifaz, 2002)による抗体媒介抗原送達によって、樹状細胞(DC)、例えば、1型通常型樹状細胞(cDC1)に送達することができる。オボアルブミン(OVA)またはMOG(ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質)を、cDC1への送達のために、抗マウスDEC205(DEC205、Bio X Cell)にコンジュゲートする。

【0550】

10

20

30

40

50

C57BL/6Jマウスを、OVA (0.3~30 µg) とコンジュゲートされた抗DEC205で、足蹠においてs.c.で免疫化し、同時に、ヘテロ-EPORのアゴニストであるEPOアナログ、またはPBS (対照) を、s.c. またはi.p. 注射する。流入領域リンパ節および脾臓における養子移入されたナイーブ細胞におけるFoxp3 T細胞のデノボ誘導を使用して、CD4+T細胞に対する抗原特異的寛容効果、すなわち、Foxp3+Tregの誘導の増加を示す。同様に、養子移入されたOTI細胞の運命をモニターして、CD8+T細胞に対する抗原特異的寛容を促進する効果、すなわち、抗原特異的CD8+T細胞のより強力な欠失をチェックする。

【0551】

加えて、動物を、8日目に、フロイント完全アジュバント (CFA) 中のOVAで再負荷する。血清試料を、15日目および30日目に取得し、抗OVA IgG力価を、ELISAによって決定する。無関係の抗原、例えば、キーホールリンペットヘモシアニン (KLH) によるマウスの負荷および抗KLH特異的IgG抗体力価の測定は、抗DEC205特異的OVA送達によって達成されたOVA特異的寛容に対する対照としての役割を果たす。

【0552】

加えて、MOGとコンジュゲートされた抗DEC205を、ヘテロ-EPORのアゴニストであるEPOアナログと一緒に、C57BL/6Jマウスの足蹠にs.c.投与する。他のAg送達部位、例えば、肺も試験する。MOG特異的2D2 TCRトランスジェニックナイーブCD4+T細胞を、EPOアナログの共投与による抗原免疫化の1日前に養子移入する。養子移入されたコンジュゲート2D2細胞からのデノボFoxp3 T細胞誘導を分析して、抗原特異的寛容を誘導する活性を示す。抗DEC205送達抗原およびEPOアナログのin vivo抑制機能を評価するために、抗原特異的Foxp3+2D2細胞を、in vitro抗原特異的T細胞免疫抑制アッセイにおける試験のために、フローサイトメトリーによって選別する。

【0553】

また、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) を、ヘテロ-EPORに対するアゴニストであるEPOアナログありまたはなしで、抗DEC205-MOGで免疫化されたマウスにおいて誘導する。EAEの重症度スコアを、経時的に決定する。EPOアナログは、抗原特異的寛容を促進し、EAEを好転させる。

【0554】

(実施例11)

抗原をコードするmRNAを封入している脂質ナノ粒子 (LNP) でin vivoで誘導された抗原特異的寛容

循環またはリンパ系に注射されたナノ粒子は、細網内皮系における (例えば、肝臓、脾臓における) マクロファージによって主に捕捉され、血液中に存在する前駆DC、および末梢組織に常在する未成熟DCによっても捕捉され得る (Cifuentes-Rius et al, Nat Nanotechnol, 2021;16(1):37-46)。特異抗原、例えば、オボアルブミンまたはMOGをコードするmRNAを、LNP中に封入する。ヘテロ-EPORのアゴニストであるEPOアナログを、組換えタンパク質として投与するか、または抗原をコードするmRNAと共封入する。in vivo抗原特異的寛容を増強する効果を、実施例10に記載されたようにしてモニターする。

【0555】

あるいは、ヘテロ-EPORのアゴニストであるEPOアナログをコードするmRNAを、EPOアナログの代わりに使用して、抗原特異的寛容を誘導するLNPを作成する。

【0556】

(実施例12)

ヘテロ-EPORに対する抗体

ヘテロ-EPORに対する抗体を、動物の免疫化により作成する。EPOR、CD131、または可溶性ヘテロ二量体EPOR/CD131の細胞外ドメインを使用して、動物

10

20

30

40

50

を免疫化する。抗原特異的B細胞またはハイブリドーマ細胞を単離し、免疫グロブリン遺伝子を配列決定する。組換え抗体を、ホモ-E P O R、C D 1 3 1 / C D 1 3 1、または可溶性ヘテロ-E P O Rの細胞外ドメインとの抗原結合アッセイ、ならびにE P O Rのみ、C D 1 3 1のみ、またはE P O RおよびC D 1 3 1の両方を発現する細胞における染色アッセイに付すことができる。ヘテロ-E P O Rに特異的な抗体による細胞染色を、受容体発現細胞をE P Oありまたはなしで抗体で処置した後に、この受容体、J A K 2およびS T A T 5のリン酸化を分析することによって、受容体の活性化についてさらに特徴付ける。

【0557】

あるいは、ヘテロ-E P O R特異的抗体を、抗体発現ライブラリー、例えば、ファージディスプレイ、酵母ディスプレイ、リボソームディスプレイ、または細胞ディスプレイのスクリーニングによって単離することができる。

【0558】

抗ヘテロ-E P O R抗体は、ヘテロ-E P O Rに対するアゴニストまたはアンタゴニストであり得る。一部の抗ヘテロ-E P O R抗体は、ホモ-E P O RまたはC D 1 3 1 / C D 1 3 1受容体に対するアゴニストまたはアンタゴニストであり得る。

【0559】

ヘテロ-E P O R、またはC D 1 3 1 / C D 1 3 1の細胞外ドメインに対するヘテロ-E P O R抗体の結合親和性を、機能的E L I S Aを使用して決定する。可溶性C D 1 3 1 / C D 1 3 1、およびヘテロ-E P O R (S i n o B i o l o g i c a l)を、標準E L I S Aにコーティングする。ウェルを2%のB S Aでブロッキングする。抗ヘテロ-E P O R抗体の希釈物を、プレートに添加し、インキュベートする。洗浄後、結合した抗ヘテロ-E P O R抗体を、ビオチン化ポリクローマル抗E P O (R & D S y s t e m s)、それに続いて、ストレプトアビジンH R Pコンジュゲートまたは他の適切な二次抗体を使用して、検出する。洗浄後、T M B試薬 (S i g m a)を添加し、450nmでのOD吸収を、プレートリーダーにおいて測定する。

【0560】

(実施例13)

ヒトE P Oに対する抗体の特徴付け

E P Oとヘテロ-E P O Rとの間の相互作用を遮断するヒトE P Oに対する抗体を、動物の免疫化により作成する。抗原特異的B細胞またはハイブリドーマ細胞を単離し、配列決定する。組換え抗体を、抗原結合アッセイおよび受容体活性化アッセイにおいてアッセイする。抗E P O抗体を、ホモ-E P O Rおよび／またはヘテロ-E P O Rに対するアンタゴニスト活性について試験する。抗E P O抗体は、ヘテロ-E P O RのE P O媒介活性化を遮断することができるが、ホモ-E P O RのE P O媒介活性化を遮断できず、またはホモ-E P O Rの活性化を遮断することができ、かつヘテロ-E P O Rの活性化を遮断できず、またはホモ-E P O Rおよびヘテロ-E P O Rの両方の活性化を遮断することができる。

【0561】

ホモ-E P O R、ヘテロ-E P O R、またはC D 1 3 1 / C D 1 3 1の細胞外ドメインに対する抗E P O抗体の結合親和性を、機能的E L I S Aを使用して決定する。可溶性ホモ-E P O R、C D 1 3 1 / C D 1 3 1、およびヘテロ-E P O R (S i n o B i o l o g i c a l)を、標準E L I S Aにコーティングする。ウェルを2%のB S Aでブロッキングする。抗E P O抗体の希釈物を、プレートに添加し、インキュベートする。洗浄後、結合した抗E P O抗体を、ビオチン化ポリクローマル抗E P O (R & D S y s t e m s)、それに続いて、ストレプトアビジンH R Pコンジュゲートまたは他の適切な二次抗体を使用して、検出する。洗浄後、T M B試薬 (S i g m a)を添加し、450nmでのOD吸収を、プレートリーダーにおいて測定する。

【0562】

(実施例14)

in vivo 腫瘍モデルにおけるアンタゴニスト性抗ヘテロ-EPO-Rおよび抗EPO抗体の免疫刺激の役割の特徴付け

マウス結腸腺癌MC38を使用して、アンタゴニスト性抗ヘテロ-EPO-R抗体、および中和性抗EPO抗体（ヘテロ-EPO-Rによる活性について中和する）を試験する。MC38細胞を、C57BL/6マウスの右脇腹に移植する（*s.c.*）。マウスを、週に2回、抗体単独で、または抗PD1（Bio X Cell）と組み合わせて処置する（*i.p.*）。腫瘍体積を、毎日測定する。

【0563】

同様に、EO771乳房腫瘍細胞を、乳房脂肪体に移植し、腫瘍サイズを、アンタゴニスト抗体処置後、経時的にモニターする。各種の他の腫瘍細胞系、例えば、B6-F10黒色腫、またはLLC Lewis肺癌を、同じ目的のために使用することができる。

【0564】

ハイドロダイナミック尾静脈（HDTV）注射を介して肝細胞に特異的に送達される、C-Mycを発現するトランスポゾンシステムおよびTrp53標的化sgRNAを発現するCRISPR-Cas9システムに基づく自発的HCC腫瘍モデルを研究する。HDTVの3～5週間後、C-Myc過剰発現（C-MycOE）およびTrp53欠失（Trp53KO）に由来する自発的HCC腫瘍が、これらのマウスにおいて発生する。アンタゴニスト性抗ヘテロ-EPO-Rおよび中和性抗EPO抗体（ヘテロ-EPO-Rによる活性について中和する）を投与する。ルシフェラーゼを共発現するトランスポゾンを利用して、抗体処置による自発的HCC成長を経時的にモニターする。

【0565】

MC38結腸腫瘍細胞の*s.c.*または肝臓内接種によって確立された肝臓転移の前臨床モデルを使用して、アンタゴニスト性抗ヘテロ-EPO-R抗体、および中和性抗EPO抗体（ヘテロ-EPO-Rの活性について中和する）の効果を阻害する、肝臓転移誘導全身性寛容を検証する。*s.c.*埋め込みMC38および肝臓腫瘍の両方を保持するマウスにおける抗PD-L1に対する治療応答の完全な抑止が存在するので、抗PD-L1応答性を、これらの抗体の寛容を抑止する有効性についての読み取りとして使用する。

【0566】

他の遺伝子操作された前臨床自発的腫瘍モデル、例えば、黒色腫（BRAF V600E変異体マウス）、乳がん（MMTV-PyMTマウス）、肺がん（Kras^{LSL-G12D/+}; p53^{fl/fl}マウス）も、治療的アンタゴニスト抗体の有効性を試験するために使用される。

【0567】

（実施例15）

in vivo 移植モデルにおけるアゴニスト性抗ヘテロ-EPO-R抗体の免疫抑制の役割の特徴付け

ヘテロ-EPO-Rに特異的なアゴニスト性抗体を、実施例9に記載されるものと同様に試験する。

【0568】

（実施例16）

アゴニスト性抗ヘテロ-EPO-R抗体による*in vivo*での抗原特異的寛容の誘導

ヘテロ-EPO-Rに特異的なアゴニスト性抗体を、実施例10に記載されるものと同様に試験する。

【0569】

（実施例17）

PHD阻害剤による*in vivo*での抗原特異的寛容の誘導

PHD阻害剤、例えば、ロキサデュスタット、バダデュスタット、ダプロデュスタット、およびモリデュスタットは、HIFレベルの上昇、ならびにEPOおよびEPO-Rの上方調節をもたらす、実施例10に記載されるものと同様に試験する。

【0570】

10

20

30

40

50

(実施例 18)

E P O R による免疫寛容原性効果の誘導

同種 (a l l o) 骨髄および心臓移植に対する T L I / A T S 誘導寛容

【0571】

C 5 7 B L / 6 マウスを、寛容誘導レジメンとして、10 用量の全身リンパ節照射 (T L I ; それぞれ 250 センチグレイ (c G y)) と 5 用量の抗胸腺細胞血清 (A T S) で処置した。照射は、リンパ節、脾臓、および胸腺を標的にし、他の組織を、鉛で遮蔽した。B A L B / c ドナーからの骨髄 (B M) 細胞 (50×10^6 個) を、最後の T L I 用量後に、静脈内 (i . v .) 注射した。B A L B / c ドナーからの心臓を、0 日目に移植した。実験スキームを、図 18 A に示す。レシピエントマウスを、T L I / A T S で条件付けて、同種 (a l l o) 造血細胞移植 (H C T) および固形臓器同種移植の両方に対する持続的な抗原 (A g) 特異的寛容を誘導した (図 18 A)。このモデルにおける長期寛容は、調節性 T 細胞 (T r e g)、ナチュラルキラー T (N K T) 細胞、および骨髄由来サプレッサー細胞を含む、いくつかの細胞型に依存し得る。加えて、移植片が、野生型 (W T) マウスと比較して、c D C 1 の発生に必要な転写因子である B a t f 3 を欠くマウス (B a f t 3 - / -) において拒絶されたので、C D 8 α + I 型通常型樹状細胞 (c D C 1) が、T L I / A T S 寛容誘導のために不可欠であることが見出された (図 18 B)。例えば、図 18 B に示されるように、W T よりも心臓移植 (T X) 後により少ない B a f t 3 - / - マウスが生存し、W T よりもドナー型細胞のパーセンテージの減少を示した。T L I / A T S は、未処置 (U N T) マウスと比較して、T L I / A T S ありのマウスの脾臓における T U N E L 染色の増加によって示されるように (図 19 A)、p 5 3 依存性アポトーシスによるリンパ臓器における T 細胞および B 細胞の重度枯渇を誘導した (図 19 A ~ 19 B)。フローサイトメトリーを介して C D 7 1 および T E R 1 1 9 発現のパーセンテージによって測定される高レベルの髄外赤血球生成が、U N T マウスと比較して、T L I ありのマウスにおいて観察された (図 19 B ~ 19 C)。T L I はまた、時間の経過にわたって、T L I で処置されたマウスにおいて、酵素免疫測定法 (E L I S A) アッセイによって検出されるように、血清における、C D 7 1 + および T E R 1 1 9 + (図 19 D) のパーセンテージを増加させ、E P O レベルを増加させた (図 19 E)。C D 8 α + c D C 1 がアポトーシス細胞を優先的に取り込み、E P O レベルが増加するので、データは、E P O - E P O R シグナル伝達が、T L I / A T S 後の C D 8 α + c D C 1 媒介寛容に参与し得ることを示唆した。そのため、C D 8 α + c D C 1 を、T L I / A T S 条件付けマウスおよび U N T マウスから、さらに分析した。U N T マウスと比べて、図 20 B に示されるように、T L I / A T S による条件付けは、脾臓細胞の総数を減少させたが (図 20 A)、C D 1 1 c ^{h i g h} M H C I I ^{h i g h} 細胞として定義される c D C の頻度を増加させた (U N T における 1 . 5 % 対 T L I / A T S における 3 . 0 1 %)。また、T L I / A T S による条件付けの際に、C D 8 α + を発現する c D C 1 の割合は増加した (25 . 2 %、C D 8 α + C D 1 1 b -) が、C D 1 1 b + を発現する I I 型通常型樹状細胞 (c D C 2) の割合は増加しなかった (59 . 5 %、C D 1 1 b + C D 8 α -) (図 20 C)。C D 8 α + c D C 1 サブセットにおける T L I / A T S 条件付けと関連する遺伝子発現の変化を特定するために、U N T マウスまたは T L I / A T 条件付けマウスの脾臓から単離された細胞のこのサブセットからの R N A を、R N A 配列決定に付した。T L I / A T S 条件付けマウス対 U N T 対照マウスにおける脾臓 C D 8 α + c D C 1 に由来するトランスクリプトームは、主成分分析 (P C A) によって別個にクラスター化され (図 20 D)、T L I / A T S 条件付けマウス対 U N T 対照マウスにおける遺伝子発現の相違を示した。加えて、T L I / A T S 条件付けマウス対 U N T マウスからの C D 8 α + c D C 1 における 30 の最も上方調節された遺伝子の比較は、エリスロポエチン受容体 (E P O R) が、最も異なって上方調節された遺伝子であったことを明らかにした (図 20 E)。さらにまた、分子シグネチャデータベース (M S i g D B) 分析は、細胞代謝の多様な態様に関連する遺伝子セットが、正に濃縮されたが、同種移植片拒絶、N F κ B を介した T N F α シグナル伝達、および炎症応答に関連するものは、T L I / A T S での条件付

10

20

30

40

50

けの際に、 $CD8\alpha^+cDC1$ において負に濃縮されたことを確認した（図20F）。リアルタイムPCRを、選択された遺伝子に対して行い、脾臓 $CD8\alpha^+cDC1$ および $CD11b^+cDC2$ において図20Eに示されるRNAseqデータによって特定し（図20G）、EPOR発現が、 $cDC1$ において上方調節され（図20G、上）、RNA配列決定データを確認したことを示した。具体的には、 $CD8\alpha^+cDC1$ におけるEPOR発現は、(i) UNTと比較して、(iii) TLI単独または(iv) TLI/ATSにより20倍を超えて増加し、(ii) ATS単独は、(i) UNTと比較して、わずかな効果を有していたか、または効果がなかった（図20G）。類似のパターンが、Mertk、FcγR1、Axl、C1qa、およびC1qbについて観察された（図20G、上）。対照的に、EPORの発現は、 $CD11b^+cDC2$ において増加しなかった（図20G、下）。EPOR発現はまた、TLI、TLI/ATSで処置されたか、または未処置のEPOR-tdTレポーターマウスを使用することによって評価した（図20H）。TLI後のEPOR $^+CD8\alpha^+cDC1$ の頻度の選択的な増加（24.5%）が、UNTマウス（14.1%）と比較して観察され、これは、ATS（31.9%）によって増大した（図20H）。まとめると、TLI/ATSまたはTLIによる条件付けは、 $CD8\alpha^+cDC1$ の頻度を実質的に変更し、EPORおよびこのサブセット内の関連遺伝子の発現を誘導した。

10

【0572】

EPOR $^+$ DCにおける免疫寛容原性表現型

20

【0573】

EPORシグナル伝達が、免疫細胞の免疫モジュレート機能において役割を果たすかどうかを理解するために、RNA配列決定を、EPOR $^+$ およびEPOR $^-XCR1^+CD8\alpha^+CD11c^{high}MHCII^{high}cDC1$ （XCR1：XCR1受容体1）において行った。EPOR-tdTomatoレポーターマウスの脾臓からのEPOR $^+$ およびEPOR $^-cDC1$ （ $n=2$ 、15匹のマウスからそれぞれプール）を、最初に、フローサイトメトリーによって選別した後、EPOR $^+$ およびEPOR $^-cDC1$ を、RNA配列決定に付した。次に、遺伝子差次的発現分析を、Rプログラミングに基づくDESeq2を使用して、RNA配列決定データを用いて行った。差次的発現分析を、ボルケーノプロットとして提示し、これは、EPOR $^-cDC1$ と比較して、EPOR $^+cDC1$ において下方調節（グラフの左半分）および上方調節（グラフの右半分）された差次的発現した遺伝子を明らかにした（図3Aを参照されたい）。ヒートマップを、代替方法として、DESeq2を使用して作成して、図3Bに示されるように、EPOR $^+$ およびEPOR $^-cDC1$ において上方調節および下方調節された遺伝子を表した。ヒートマップは、免疫寛容原性機能群に分類された目的の遺伝子を明らかにし、免疫寛容と関連する遺伝子が、EPOR $^+cDC1$ において上方調節されていることを示した。

30

【0574】

BMキメラ現象におけるEPOR

【0575】

EPORの免疫寛容原性表現型を調べるために、BMキメラ現象を、 $CD8\alpha^+$ 樹状細胞にヘテロ-EPOR欠失を有するマウス（EPOR $\Delta CD11c$ マウス）において分析した。EPOR $\Delta CD11c$ （ $CD11c^{cre+}$ ；EPOR $^{flox/flox}$ ）マウスを、LoxPが導入されたEPORを保持するマウスを $CD11c-Cre$ 系統のEPOR $\Delta CD11c$ （ $CD11c^{cre+}$ ；EPOR $^{flox/ed(flox/flox)}$ ）と交配することによって作成した。EPOR $\Delta CD11c$ （ $H-2b^+$ ）レシピエントマウスは、MHC不一致BALB/c（ $H-2d^+$ ）ドナー由来のBMを与えられた。野生型C57BL/6（WT）、C57BL/6バックグラウンド（ $H-2b^+$ ）におけるBatf3 $^{-/-}$ およびEPOR $^{flox/flox}$ マウスを、対照レシピエントとして使用した。同種BM細胞を、TLIの最終用量の直後に注入し、キメラ現象を、その後14日目という早期に評価した。図21に示されるように、EPOR $^{flox/flox}$ マウスは、WTマウスと、B細胞、T細胞、および顆粒球において類似のレベルのBMキメラ現象を示した

40

50

。対照的に、および $Batf3^{-/-}$ マウスと類似して、 $EPOR^{\Delta CD11c}$ マウスは、ドナーB細胞、T細胞および顆粒球のパーセンテージの減少によって示されるように、BMキメラ現象を達成しなかった。重要なことには、 $CD8\alpha^{+}cDC1$ 特異的EPOR発現は、EPOR発現がこれらの細胞において消失した場合に、キメラ現象の抑止によって反映されるように、BMキメラ現象および寛容の誘導のために不可欠であることが見出された。まとめると、これらのデータは、EPORを発現するcDC1が免疫寛容原性であることを実証する。それらはまた、細胞関連Ag特異的寛容におけるEPO-EPORシグナル伝達依存性免疫寛容原性 $CD8\alpha^{+}cDC1$ の役割を調べるための理想的なモデルとしてのTLI/ATS誘導寛容の使用を支持する。

【0576】

次に、 $CD4^{+}FoxP3^{+}Treg$ が、TLIまたはTLI/ATS後に $CD8\alpha^{+}cDC1$ によって活性化および拡大増殖されるかどうか、ならびに移植からのallo-BM「負荷」の程度が、混合キメラ現象の確立（生着）における重要な因子であるかどうかを試験した。allo-BM細胞に対する免疫寛容の誘導および維持における $FoxP3^{+}Treg$ の相対的な重要性を調べるために、図22Aに示されるように、ジフテリア毒素（DT）および $FoxP3-DTR$ システムを使用して、それぞれ、0～14日目（群A、上）または29～41日目（群B、下）のallo-BM注射後の異なる時間ウィンドウの間に、レシピエントマウスにおいて、 $FoxP3^{+}Treg$ を枯渇させた。簡潔には、 $FoxP3-DTR$ レシピエントマウスは、未処置（UNT）であったか、10回の1日用量のTLI（それぞれ240cGy）およびATS（5用量、1日おき）で、週末を除き、14日間処置した（TLI/ATS）。0日目に、alloドナー（MHC I-H2Kb）からのBM細胞を、静脈内（i.v.）注射し、キメラ現象を、14日目に開始する採血によってモニターした（図22A）。BM注射後1日目のDT処置（Tx）で開始した群A（4つのグラフのすべてにおいて左の3つのバー）は、図22Bに示されるように、14日目、28日目、または55日目に任意の検出可能なキメラ現象を有していなかった。対照的に、野生型マウスと類似して（図21）、キメラ現象が、群Bマウスにおいて14日目に検出され（4つのグラフのすべてにおいて右の3つのバー）、（w/o）DTの非存在下で、28日目まで増加し続けた。しかしながら、DTが、15日目～28日目に投与された場合、さらなる増加はなく、代わりに、すでに確立されたキメラ現象の低下が観察された（図22B）。これらのデータは、allo-BM遭遇後のキメラ現象の確立および維持における $CD4^{+}FoxP3^{+}Treg$ の重要性を検証した。

【0577】

次に、 $CD8\alpha^{+}cDC1$ 依存性Ag特異的 $FoxP3^{+}Treg$ 誘導および拡大増殖を調べ、残ったT細胞に対するTLIおよび/またはATSの選択効果を回避するために、OTII細胞（オボアルブミン（Ova）特異的 $\alpha\beta$ TCRを発現する細胞）を養子移入し、allo-BMを、Ova発現BMで置換した。Ova特異的TCRトランスジェニックOTII T細胞の養子移入は、Ag特異的 $CD4^{+}T$ 細胞応答のモニタリングを可能にした。予想されるように、OTII細胞における $CD4^{+}FoxP3^{+}OTII Treg$ 頻度（図23A）および $FoxP3$ の平均蛍光強度（MFI）（図23B）は、未処置マウスと比較して、TLI条件付けレシピエントにおいて、5日後に劇的に増加した。この効果は、 $Batf3^{-/-}$ （図23A～23B）および $EPOR^{\Delta CD11c}$ レシピエントマウス（図23C～23D）に存在せず、 $CD8\alpha^{+}cDC1$ およびEPORが、Ag特異的 $CD4^{+}FoxP3^{+}Treg$ 誘導および拡大増殖のために不可欠であることを確認した。興味深いことに、TLI条件付け $EPOR^{\Delta CD11c}$ レシピエントマウスにおいて、OTII細胞における $Foxp3^{+}OTII$ パーセンテージおよび $FoxP3$ のMFIはどちらも、UNTと比較して減少した（図23C～23D）。 $FoxP3-DTR$ マウスを、TLI/ATSで14日間処置した。同種Balb/C骨髓細胞を、TLI/ATS処置（0日目）後の翌日にすぐにi.v.注入した。100ngのジフテリア毒素（DT）を、-1日目、0日目、および1日目にi.p.で与えた。図24Aに示されるように、骨髓キメラ現象を、DTありまたはなしで、宿主血液中のドナー由来の個

10

20

30

40

50

々の免疫細胞サブセットによって分析した。図 2 4 B に示されるように、宿主 $CD4^+T$ 細胞を、5 日目にフローサイトメトリーによって分析し、 $FoxP3^+Treg$ 、および $FoxP3^-CD73^+FR4^+$ アネルギー性 T 細胞のパーセンテージを定量化した。IFN γ 発現が、宿主 $CD4^+FoxP3^-T$ 細胞において見られた。図 2 4 C に示されるように、宿主 $CD4^+T$ 細胞、宿主 $CD4^+T$ 細胞における $FoxP3^+Treg$ 細胞、宿主 $CD4^+T$ 細胞における $FoxP3^-CD73^+FR4^+$ アネルギー性細胞、および宿主 $CD4^+FoxP3^-$ 細胞における IFN γ 細胞の頻度の統計分析を行った。図 2 4 D に示されるように、宿主 $CD4^+T$ 細胞における $FoxP3^+Treg$ 細胞頻度と宿主 $CD4^+T$ 細胞における $FoxP3^-FR4^+CD73^+$ アネルギー性細胞の相関を分析した。DT による $CD4^+FoxP3^+Treg$ の欠失は、インターフェロンガンマ (IFN γ) エフェクター T 細胞の著しい拡大増殖によって示されるように、 $CD4^+FoxP3^-CD44^+CD73^+$ 葉酸受容体 4 + ($FR4^+$) アネルギー性 T 細胞のアネルギー逆転、および無制御の $CD4^+FoxP3^-T$ 細胞免疫応答をもたらし、寛容逃避 (tolerance escape) を示唆した (図 2 4 A ~ 2 4 D)。TLI 条件付けが、 $CD8\alpha^+cDC1$ に依存性であった $allo-BM$ に応答して、レシピエント $CD4^+FoxP3^+Treg$ の動的な拡大増殖および活性化を刷り込むことがさらに観察された。総合すれば、これらのデータは、EPO シグナル伝達が、主に、調節性およびアネルギー性 Ag 特異的 $CD4^+T$ 細胞の両方を誘導する $CD8\alpha^+cDC1$ における EPOR 発現の上方調節により、Ag 特異的寛容の誘導および維持に寄与することを示唆する。

10

20

【0578】

TLI / AT 前および後の EPOR + cDC1 の免疫寛容原性表現型、機能および細胞寛容の特徴付け

【0579】

TLI 条件付け後の EPOR + cDC1 が、i.v. 注射された同種 BM 細胞を優先的に取り込むことを確認するために、生存 $Balb/C$ BM 細胞を、蛍光色素の 5-クロロメチルフルオレセインジアセテート (CMFDA) で標識し、野生型 $C57BL/6J$ マウスに i.v. 注射した。 $CD8\alpha^-cDC2$ と比較して、 $CD8\alpha^+cDC1$ は、i.v. 注射された生存 BM 細胞を優先的に取り込み、TLI 条件付けは、取り込みをさらに増加させた (図 2 5 A)。TLI 条件付けマウスからの $CD8\alpha^+cDC1$ は、UNT マウスと比較して、12 時間後により高い貪食を示した (図 2 5 B ~ 2 5 C)。cDC1 のためのマーカーである $CD103$ および DEC-205 の共染色は、より多くの同種 BM 細胞を優先的に取り込んだ $CD8\alpha^+cDC1$ が、両マーカーのより高い発現を有していたことを明らかにした (図 2 5 A ~ 2 5 C)。EPOR-tdT および EPOR $\Delta cDC1^{1c}$ マウスを、EPOR 発現が $CD8\alpha^+cDC1$ における CMFDA + 同種 BM 取り込みと相関するかどうかを評価するために、さらに利用することができる。

30

【0580】

TLI / AT の下流の cDC1 特異的 EPO-EPOR シグナル伝達事象の特定

【0581】

TLI 後の $CD8\alpha^+cDC1$ における EPO-EPOR シグナル伝達を検証するために、Akt、ERK、および STAT5 のリン酸化を、フローサイトメトリーによって測定した。EPOR 上方調節と並行して (図 2 0)、これらの分子のすべてのリン酸化も、TLI 後に上方調節された (図 2 6)。これらのデータは、TLI 後の $CD8\alpha^+cDC1$ における下流の EPOR シグナル伝達経路を確認する。PI3K-Akt は、mTOR 経路の実行のために重要であり、予想通り、TLI 後に、 $CD8\alpha^+cDC1$ は、図 2 6 A に示されるように、下流のエフェクターリボソームタンパク質 S6 キナーゼ (S6K) のリン酸化および翻訳阻害剤の eIF4E 結合タンパク質 (4E-BP) の活性化によって示される、mTOR のより高い活性化を示した。さらにまた、ATS を添加することで、4EBP1 リン酸化がさらに増強された (図 2 6)。 $CD8\alpha^+cDC1$ はまた、 $CD11b^+cDC2$ よりも、より代謝的に活性であり、より高い mTORC1 活性を有して

40

50

おり、これは、TLI条件付けによってさらに増強され得る（図26）。この知見は、EPシグナル伝達が、TLIまたはTLI/ATS後に、CD8 α ⁺CD11cにおける選択的なmTOR活性の調整のために重要であり得ることを示唆する。これに関して、CD11c特異的RaptorおよびmTOR条件付けノックアウトマウスを作製して、図26Bにおける異なるマウス系統のドナー細胞の測定によって示されるように、EPOR⁺CD11cにおけるそれらの免疫寛容原性の関与を調べた。マルチウェルフォーマットで酸素消費速度および細胞外酸性化速度を測定するSeahorse機器を使用するEPOR⁺およびEPOR⁻CD11cの代謝活性を分析することができ、これは、ミトコンドリアの呼吸および解糖などの重要な細胞機能の調査を可能にする。加えて、これらの知見とEPOR⁺CD11c免疫寛容原性機能の関連を分析することができる。

10

【0582】

臓器移植に対するBMキメラ現象および寛容におけるEPOR

【0583】

臓器移植におけるEPORの免疫寛容原性表現型およびその効果を調べるために、心臓移植を、骨髓性細胞にヘテロEPORノックアウトを有するマウスを用いて行った。宿主マウス、例えば、野生型マウス（C57BL/6J）、Batf3ノックアウトマウス（Batf3^{-/-}）、CD11c^{Cre}を有するマウス（CD11c^{Cre}）、EPOR^{flx/flx}を有するマウス（EPOR^{flx/flx}）、および樹状細胞にヘテロEPORのノックアウトを有するマウス（EPOR Δ CD11c）に、0日目に、ドナーBALB/c新生仔心臓移植を与えた。ATSを、0、2、6、8、および10日目に、マウスに腹腔内（i.p.）注射した。宿主マウスを、14日にわたって、それぞれ、10用量の240cGyのTLIで条件付けた。図4Aに示されるように、EpoR⁻tdTomato宿主におけるEpoR⁻tdTomato発現を、未処置（ベースライン）マウスと比較して、最終用量のTLI/ATS（寛容誘導レジメン）の翌日の脾臓におけるXCR1⁺CD8 α ⁺CD11c⁺についてのフローサイトメトリーによって分析した。フローサイトメトリーは、寛容誘導レジメンにより、CD11cにおけるEPORの発現の増加があることを明らかにし、EPORの免疫寛容原性表現型を確認した。15日目に、骨髓移植を、i.v.を介して、心臓移植片と同じ系統からの50 $\times$ 10⁶個の宿主またはBALB/cドナー骨髓細胞を注射することによって行った（BMT）。キメラ現象および心臓移植片の生着を、臓器移植後100日間、モニターした。図4Bに示されるように、BMT28日後の宿主の末梢血中のT細胞のうちのドナー型（H2K^d⁺）細胞（例えば、Balb/c MHC Iのマーカ）のパーセンテージを測定した。EPOR Δ CD11cマウスでは、C57BL/6Jと比較して、ドナーT細胞の統計学的に有意な減少があり、陽性対照Batf3^{-/-}マウスの間の差がなく、EPORが免疫寛容のために必要であることを示唆した。さらにまた、心臓移植片の生着を有する宿主のパーセンテージを、連続する時点で測定した場合（図4Cを参照されたい）、EPOR Δ CD11cマウスは、陰性対照マウス（例えば、C57BL/6J、CD11c^{Cre}、EPOR^{flx/flx}）と比較して、陽性対照Batf3^{-/-}マウスで見られたものと同様に、心臓移植後に生存できなかった。これは、骨髓性細胞からのEPORノックアウトが、マウスの移植された臓器に対する寛容を防止したことを示した。

20

30

40

【0584】

in vitroおよびin vivoでのAg特異的Tregの刺激におけるEPORシグナル伝達

【0585】

抗原特異的寛容の促進におけるEPOR機能を調べるために、EpoR⁻tdTomatoマウスに、0、2、6、8および10日目に、ATSをi.p.で与え、14日にわたって、それぞれ10用量のTLI（240cGy）で条件付けた。EPOR⁺およびEPOR⁻XCR1⁺CD8 α ⁺CD11c^{high}MHC I^{high}CD11c⁺を、TLI/ATSの最終用量の翌日にフローサイトメトリーによって選別し、15グレイが照射されたOva発現胸腺細胞の存在下で、OT-IICD45.1/CD45.1マウスから単

50

離されたナイーブOT-I細胞と共培養した。DC:OT-I:Ova-胸腺細胞の比は1:5:2であった。20IU/200ulの組換えヒトEPO(rhEPO)を、6連続日の間、毎日、共培養物に、添加しなかったか、または添加した。OT-I細胞におけるFoxP3発現を、フローサイトメトリーによって分析し、OT-I細胞を、生一死aquac-CD45.1⁺CD45.2⁻CD3⁺TCRva2⁺CD4⁺CD8⁻としてゲーティングした。OT-I細胞を、共培養物に入れる前に、CellTrace(商標)Violet(CTV)で事前標識した。FoxP3⁺Tregのパーセンテージは、図5Aに示されるように、(ii)EPOR⁻cDC1と比較して、(i)EPOR⁺cDC1においてより高かった。

【0586】

別の実験では、C57BL/6JまたはEPOR^{ΔCD11c}宿主に、0、2、6、8、および10日目に、ATSをi.p.を介して注射した。宿主を、14日にわたって、10用量の240cGy(TLI/ATS処置)のそれぞれで条件付けたか、または未処置のままにした。15日目に、50×10⁶個の2W1S-Balb/Cドナー骨髄細胞を、注射14日後にi.v.注射し、FoxP3発現を、2W1S四量体⁺H2K^b+CD3⁺TCRβ⁺CD4⁺T細胞において分析し、宿主の内因性ドナーAg(2W1S)特異的CD4⁺T細胞免疫応答を測定するフローサイトメトリーを介して、脾臓からの内因性2W1S-MHCIITCR特異的宿主CD4⁺T細胞を表した。図5Bに示されるように、フローサイトメトリーデータは、EPOR^{ΔCD11c}宿主におけるTLI/ATS処置が、C57BL/6J(56.8%)におけるTLI/ATS処置と比較して、FoxP3のより低い発現(1.17%)をもたらすことを明らかにし、in vivoでAg特異的Tregを誘導する、DCにおけるEPORについての必要性をさらに検証した。

【0587】

(実施例19)

腫瘍負荷に対するEPOR欠失の効果

この実施例では、EPORの別の役割が、腫瘍負荷の調節であり得るので、ヘテローEPORノックアウトが、腫瘍負荷にどのような影響を及ぼすかを調べた。

【0588】

Lewis肺癌および乳腺癌

【0589】

EPORが肺癌腫瘍負荷にどのような影響を及ぼすかを見るために、5×10⁵個のLewis肺癌細胞(LLC)を、野生型C57BL/6J(WT)マウスおよびマクロファージにEPORのノックアウトを有するマウス(EPOR^{ΔLysM})に、皮下移植した。5mg/kgのαPD-L1(プログラム細胞死-リガンド1)(例えば、クローン10F.9G2;BioXCell)またはラットIgGアイソタイプを、目に見える腫瘍を有する腫瘍移植後6日目から開始して2日ごとに、腹腔内(i.p.)に与えた。腫瘍サイズを、さまざまな時点(例えば、14、17、19、21日目)で測定した。図6Aに示されるように、(iii)EPOR^{ΔLysM}からの腫瘍のサイズは、(i)WTマウスからの腫瘍よりも小さかった。EPOR^{ΔLysM}の腫瘍サイズは、(ii)αPD-L1で処置された野生型マウスのものと同様であった(図6A)。同様に、5×10⁵個のE0771-オボアルブミン発現乳腺癌を、野生型C57BL/6JマウスおよびEPOR^{ΔCD11c}マウスに皮下移植して、腫瘍サイズの変化を観察した。腫瘍サイズを、さまざまな時点(例えば、6、7、9、11日目)で測定した。図6Bに示されるように、(ii)EPOR^{ΔCD11c}マウスからの腫瘍のサイズは、(i)野生型マウスからの腫瘍よりも小さかった。これらの結果は、骨髄性細胞からのEPOR欠失が、マウスのLewis肺癌および乳腺癌の腫瘍負荷を低減することを示唆する。

【0590】

結腸がん

【0591】

10

20

30

40

50

結腸がんに対するEPORの効果を調べた。Zbtb46^{gfp/+}EpoR^{tdTomato/+}マウスに、MC38-Ova（結腸がん）細胞（ 5×10^5 個）を移植した。Zbtb46として使用されたこれらのマウスを、通常型樹状細胞を定義するために使用することができる。12日目に、腫瘍を、外植し、それに続いて、腫瘍浸潤性免疫細胞におけるEpoR-tdTomato発現のフローサイトメトリー分析を行った（ $n = 3 \sim 4$ ）。フローサイトメトリー分析のために、古典的樹状細胞（cDC）を、生-死青色-CD45⁺CD11c⁺Zbtb46⁺としてゲーティングした。cDC1を、生-死青色-CD45⁺CD11c⁺Zbtb46⁺XCR1⁺CD103⁺SIRPα⁻としてゲーティングした。非cDC1を、生-死青色-CD45⁺CD11c⁺Zbtb46⁺XCR1⁻としてゲーティングした。マクロファージを、生-死青色-CD45⁺CD3⁻CD19⁻NK1.1⁻MHCII^{low}Ly6C^{low}CD64⁺F480⁺CX3CR1⁺としてゲーティングした。単球を、生-死青色-CD45⁺CD3⁻CD19⁻NK1.1⁻Ly6C^{high}CD64^{low}Ly6G⁻としてゲーティングした。好中球を、生-死青色-CD45⁺CD3⁻CD19⁻NK1.1⁻CD11b⁺Ly6G⁻としてゲーティングした。T細胞を、生-死青色-CD45⁺CD3⁺CD19⁻NK1.1⁻CD11b⁻としてゲーティングした。B細胞を、生-死青色-CD45⁺CD3⁻CD19⁺NK1.1⁻CD11b⁻としてゲーティングした。NK細胞を、生-死青色-CD45⁺CD3⁻CD19⁻NK1.1⁻CD11b⁻としてゲーティングした。図7Aに示されるように、フローサイトメトリー分析は、EPORが、さまざまな浸潤性免疫細胞において発現され、MC38-Ovaを移植されたZbtb46^{gfp/+}EpoR^{tdTomato/+}マウスのcDCにおいて発現が最も高かったことを示した。そのため、EPORを、マウス（EpoR^{ΔXCR1}）のcDCにおいてノックアウトして、cDCにおけるEPORの欠失が、結腸がん腫瘍成長に影響を及ぼすかどうかを決定した。 5×10^5 個のMC38-Ova^{dim}細胞を、EpoR^{fllox/fllox}およびEpoR^{ΔXCR1}マウスに皮下移植した。mTOR^{fllox/fllox}およびmTOR^{ΔXCR1}マウスにも、対照として、 5×10^5 個のMC38-Ova^{dim}細胞を皮下移植した。図7B（右グラフ）～7Cに示されるように、（i）EpoR^{ΔXCR1}マウスは、（ii）EpoR^{fllox/fllox}マウスよりも腫瘍サイズの統計学的に有意な減少を有していた。類似の効果は、（ii）mTOR^{fllox/fllox}マウスおよび（i）mTOR^{ΔXCR1}マウスにおいて観察され、ここで、mTOR^{ΔXCR1}マウスは、mTOR^{fllox/fllox}マウスよりも腫瘍サイズの統計学的に有意な減少を有していた（図7Bの左グラフ）。これらの結果は、cDCからのEPOR欠失が、結腸がん腫瘍負荷を低減することを確認した。

【0592】

肝細胞癌（HCC）

【0593】

EPOR欠失が免疫チェックポイント遮断に対する腫瘍の抵抗性に影響を及ぼす（冷たい腫瘍）かどうかを見るために、冷たいHCCの自発的モデルを、図8Aに示されるように、*in vivo*でのハイドロダイナミック尾静脈注射（HDTV）を使用して、C57BL/6J（WT）マウスまたはEpoR^{ΔLysM}マウスの肝臓に、プラスミドpCMV-SB13、pT3-EF1a-C-Myc-IRES-ルシフェラーゼ、およびpX330-Trp53標的化sgRNAを送達することによって作成した（Trp53^{KO}/C-myc^{OE}-Luc+）。2週間後、WTマウスおよびEpoR^{ΔLysM}マウスを、図8Aに示される実験スキームに示されるように、腹腔内注射（i.p.）を介して2mg/kgのαPD1（例えば、クローン29F.1A12、BioXCell）またはIgGアイソタイプのいずれかで処置した。次に、生物発光アッセイを行って、ルシフェリンに基づく生物発光を測定することによって、腫瘍負荷をモニターした。図8Bに示されるように、IgGアイソタイプを有するEpoR^{ΔLysM}マウスは、IgGアイソタイプを有する野生型マウスよりも低い生物発光を有し、これは、マクロファージにおけるEPORのノックアウトが腫瘍負荷を低下させることを意味した。EpoR^{ΔLysM}

マウスにおける α PD1による追加処置により、腫瘍負荷はさらに低減された。腫瘍負荷のモニタリングに加えて、生存パーセントも計算した。図8Cに示されるように、IgGアイソタイプを有するEpoR Δ Lys^Mマウスおよび α PD1を有するEpoR Δ Lys^Mマウスは、 α PD1ありまたはなしの野生型マウスよりも高い生存パーセントを有していた。

【0594】

黒色腫

【0595】

EPORが黒色腫腫瘍負荷にどのような影響を及ぼすかを見るために、 1×10^6 個のB16F10-Ova細胞を、EpoR^{fl}ox/floxマウスおよびEpoR Δ XCR¹マウスに皮下移植して、黒色腫を誘導した。2mg/kgの α PD1（例えば、クローン29F.1A12、BioXCell）を、図9Aに示される実験スキームに示されるように、i.p.で与えた。黒色腫の腫瘍サイズを、さまざまな時点（例えば、0、7、8、11、13、15日目）にわたって測定した。図9Bに示されるように、(iii)EpoR Δ XCR¹マウスは、(i)対照マウスよりも腫瘍成長の統計学的に有意な減少を有していた。さらにまた、(iv) α PD1で処置されたEpoR Δ XCR¹マウスは、(ii) α PD1ありの対照マウスおよび α PD1なしのEpoR Δ XCR¹マウスよりも、腫瘍成長の統計学的に有意な減少を有し、 α PD1と組み合わせられたcDCにおけるEpoRのノックアウトが、 α PD1と組み合わせられていないものと比較して、腫瘍成長をさらに低減することができることを示唆した。腫瘍移植後12日目に、腫瘍浸潤性CD8⁺T細胞を、エフェクターT細胞マーカーについて分析した。T細胞を、生-死青色-CD45⁺CD3⁺CD8⁺CD11b⁻MHCII⁻としてゲーティングし、パーフォリン⁺、グランザイムB⁺、インターフェロングamma (IFN γ ⁺) および腫瘍壊死因子アルファ (TNF α ⁺) の発現を、図9Cに示されるように、フローサイトメトリーによって分析した。フローサイトメトリーデータは、EpoR Δ XCR¹マウスが、EpoR^{fl}ox/floxマウス（パーフォリン：14%、IFN γ ：11.1%、グランザイムB⁺：7.26%、TNF α ：2.78%）よりも炎症性サイトカイン（パーフォリン：56%、IFN γ ：33.4%、グランザイムB⁺：45.6%、TNF α ：43.4%）およびエフェクターCD⁺T細胞が上昇していたことを明らかにし、EPORがcDC1に存在しない場合に、免疫チェックポイント遮断 (ICB) 抵抗性の冷たい腫瘍（例えば、黒色腫）が、ICB感受性腫瘍に変換され得ることを示唆した。

【0596】

肝臓転移の存在下の結腸がん

【0597】

肝臓転移は、腫瘍成長を促進することができ、免疫療法の有効性を弱めることができる。そのため、ヘテローEPORの欠失が、肝臓転移による腫瘍成長の加速を抑止することができるかどうかを調べた。最初に、野生型マウスに、MC38腫瘍細胞（例えば、 5×10^5 個）を皮下に、または皮下および肝臓に移植して、肝臓転移をモデル化した。次に、結腸腫瘍成長をモニターした。図12Aに示されるように、肝臓転移があると、肝臓転移なしよりも高い結腸腫瘍成長があり、肝臓転移が腫瘍成長を促進することを確認した。マクロファージにおけるヘテローEPORのノックアウトが、肝臓転移ありまたはなしで、腫瘍成長にどのような影響を及ぼすかを見るために、EpoR Δ Lys^Mマウスに、MC38腫瘍細胞（例えば、 5×10^5 個）を皮下に、または皮下および肝臓に移植して、肝臓転移をモデル化した。図12Bに示されるように、肝臓転移ありまたはなしのEpoR Δ Lys^Mマウスは、肝臓転移ありの野生型マウスと比較して、腫瘍成長が減少した。これらの結果は、肝臓転移が、原発性結腸腫瘍の成長を加速し得るが、しかしながら、この効果は、マクロファージにおけるEPORの非存在下で防止され得ることを示唆する。

【0598】

（実施例20）

腫瘍負荷に対するEPO過剰発現の効果

10

20

30

40

50

Cancer Genome Atlas Liver Hepatocellular Carcinoma (TCGA-LIHC)からのデータは、高いEPOレベルを有する患者が、低いEPOレベルを有する患者と比較して、より低い生存のパーセンテージを有していたことを示す(図10)。そのため、HCCの退縮を有するマウスにおける腫瘍の進行に対するEPOの効果を探索した。退縮性HCCモデルを、図11Aにおける実験スキームに示されるように、 3×10^6 個の同種Hepa1-6細胞をC57BL/6マウスに同所性に移植することによって確立した。腫瘍は、注射後最初の2週間は継続的に成長したが、自発的腫瘍退縮(完全または部分的)が、21日目に観察された。加えて、2つのHepa1-6安定細胞系を、図11Aの実験スキームに示されるように、空ビヒクル(Hepa1-6__EV)またはEPOの過剰発現(Hepa1-6__Epo^{OE})のいずれかを有するレンチウイルスを使用することによって作成した。進行段階後の14日目および退縮段階後の21日目に、腫瘍を回収し(図11B)、腫瘍のサイズを測定した。腫瘍体積および完全奏効(CR)率の定量化は、EPO過剰発現を有するマウスが、21日目に、EPO過剰発現なしのマウスよりも大きい腫瘍体積を有していたことを示し(図11C)、EPOの過剰発現が退縮性HCCにおける腫瘍成長を可能にすることを示唆した。

10

【0599】

(実施例21)

腫瘍負荷に対するEPOおよびEPORモジュレーションの効果

実施例19に実証されるように、骨髄性細胞におけるヘテローEPORの欠失は、腫瘍成長の減少をもたらす。EPOの過剰発現がある場合、実施例20に実証されるように、腫瘍成長の増加がある。そのため、腫瘍負荷が、EPO過剰発現を有する肝細胞癌(HCC)を有するマウスにおけるヘテローEPORのノックダウンによってどのような影響を受けるかを探索した。図13Aの実験スキームに示されるように、C57BL/6マウスに、EPOを過剰発現する 3×10^6 個のHepa1-6細胞(Hepa1-6__Epo^{OE})を同所性に移植した。1週間後、マウスを、合計で3用量について4日ごとの静脈内注射を介して、50 μ gのEPORを標的化するsiRNA(siEpor)または非標的対照siRNA(siNTC)のいずれかを含有するリポソームで処置した。注射後の3週間後、腫瘍を、図13Bに示されるように、回収し、腫瘍体積を測定した。加えて、冷たいHCCの自発的モデルを、in vivoでのハイドロダイナミック尾静脈注射(HDTV)を使用して、マウスの肝臓に、プラスミドpCMV-SB13、pT3-EF1a-C-Myc、およびpX330-Trp53標的化sgRNAを送達することによって作成した(図13A)。2週間後、マウスを、合計で6用量について4日ごとの静脈内注射を介して、50 μ gのsiEporまたはsiNTCのいずれかを含有するリポソームで処置した(図13A)。注射後の5週間後に、肝臓を、図13Cに示されるように、回収し、肝臓重量を測定した。結果は、siEporで処置されたマウスからの腫瘍が、siNTCで処置されたマウスと比較して、腫瘍体積が減少したことを示し、siEporを使用することによるEPORのノックダウンが、EPOが過剰発現された場合でさえ、マウスにおける腫瘍成長を低減することができることを示唆した。

20

30

【0600】

加えて、EPORを標的化するsiRNAが負荷されたマクロファージに標的化されたリポソームを試験した。マクロファージに標的化されたリポソームの物理的性質を図14Aに示す。リポソームがマクロファージに特異的に標的化されることを確認するために、Hepa1-6__Epo^{OE}を移植されたC57BL/6マウスに、50 μ gのフルオレセインイソチオシアネート(FITC)コンジュゲートsiRNAが負荷されたリポソームを投与した。24時間後、腫瘍を回収し、単一細胞懸濁物に解離させた。フローサイトメトリー分析を使用して、異なる骨髄性細胞型におけるFITC⁺細胞のパーセンテージを測定した。図14Bに示されるように、フローサイトメトリー分析は、マクロファージが、リポソームを取り込む主要な細胞型であることを示した。次に、EPORを標的化するsiRNAのノックダウン効率を試験するために、 3×10^6 個のEpo過剰発現He

40

50

p a 1 - 6 細胞を、C 5 7 B L / 6 マウスに同所性に移植した。1 週間後、マウスを、合計で3 用量について4 日ごとの静脈内注射を介して、5 0 μ g の E P O R を標的化する s i R N A (s i E p o r) または非標的対照 s i R N A (s i N T C) のいずれかを含有するリボソームで処置した。腫瘍を、注射後の3 週間後に回収し、単一細胞懸濁物に解離させた。マクロファージを、磁気- 活性化細胞選別を用いて単離し、R N A を、リアルタイム P C R 定量化のために抽出した。腫瘍浸潤性マクロファージにおける E P O R のノックダウン効率を図 1 4 C に示す。s i E p o r を注射されたマウスからのマクロファージにおける E P O R m R N A レベルは、s i N T C を注射されたマウスからのマクロファージにおける E P O R m R N A レベルよりも低かった (図 1 4 C) 。

【 0 6 0 1 】

10

(実施例 2 2)

がんを有する患者における E P O R 発現

ヒトの新鮮な腫瘍または腫瘍転移検体を、外科手術によって患者から切除した。新鮮な検体を、L i b e r a s e (商標) T L および D N a s e で消化し、単一細胞懸濁物を、赤血球を A C K 溶解緩衝液で溶解することによって作製した。C D 4 5 + 腫瘍浸潤性免疫細胞を、フローサイトメトリーによって、抗 C D 1 1 c 、抗 H L A - D R 、抗 C D 1 2 3 、抗 C D 1 4 、抗 C D 1 6 、抗 C D 1 4 1 、抗 X C R 1 、抗 C D 1 c 、抗 C D 1 3 1 および抗 E p o R a b を用いてさらに分析した。肝臓転移と対になった血液を、同じ方法で、フローサイトメトリーによって分析した。健康なドナーの血液、および肝臓がんまたは肝硬変患者の血液を使用して、肝臓転移患者血液の C D 4 5 + 細胞における E p o R + 細胞のパーセンテージと比較した。

20

【 0 6 0 2 】

乳がんを有する患者からの骨髓性細胞を収集し、図 1 5 A に示されるように、フローサイトメトリーで E P O R 発現について分析した。フローサイトメトリーは、乳がんを有する患者からの骨髓性細胞が、高いレベルの E P O R を発現したことを示した。図 1 5 B に示されるように、乳がん転移リンパ節からの骨髓性細胞も、高いレベルの E P O R を発現した。

【 0 6 0 3 】

転移性肝臓がんを有する患者、肝臓がんまたは肝硬変を有する患者、および健康なドナーの E p o r + 末梢血単核細胞 (P B M C) の量を、フローサイトメトリーを介して分析し、それぞれ、図 1 6 A および図 1 6 B に示されるように、定量化した。転移性肝臓がんを有する患者の P B M C は、健康なドナーまたは肝臓がんを有する患者の P B M C よりもより高い頻度の E p o r + 細胞を有していた。

30

【 0 6 0 4 】

(実施例 2 3)

ホモ- E P O R に対する抗体

ホモ- E P O R に対する抗体を、動物の免疫化により作成する。E P O R の細胞外ドメインを使用して、動物を免疫化する。抗原特異的 B 細胞またはハイブリドーマ細胞を単離し、免疫グロブリン遺伝子を配列決定する。組換え抗体を、ホモ- E P O R の細胞外ドメインまたは可溶性ホモ- E P O R との抗原結合アッセイ、および E P O R を発現する細胞における染色アッセイに付す。ホモ- E P O R に特異的な抗体による細胞染色を、受容体発現細胞を E P O ありまたはなしで抗体で処置した後に、この受容体、J A K 2 および S T A T 5 のリン酸化を分析することによって、受容体の活性化についてさらに特徴付ける。

40

【 0 6 0 5 】

あるいは、ホモ- E P O R 特異的抗体を、抗体発現ライブラリー、例えば、ファージディスプレイ、酵母ディスプレイ、リボソームディスプレイ、細胞ディスプレイのスクリーニングによって単離することができる。

【 0 6 0 6 】

抗ホモ- E P O R 抗体は、ホモ- E P O R に対するアゴニストまたはアンタゴニストで

50

あり得る。一部の抗ホモ-E P O R抗体は、ヘテロ-E P O Rに対するアゴニストまたはアンタゴニストであり得る。

【0607】

ホモ-E P O Rの細胞外ドメインに対するホモ-E P O R抗体の結合親和性を、機能的E L I S Aを使用して決定する。可溶性ホモ-E P O R (S i n o B i o l o g i c a l) を、標準E L I S Aにコーティングする。ウェルを2%のB S Aでブロッキングする。抗ホモ-E P O R抗体の希釈物を、プレートに添加し、インキュベートする。洗浄後、結合した抗ホモ-E P O R抗体を、ビオチン化ポリクローナル抗E P O (R & D S y s t e m s) 、それに続いて、ストレプトアビジンH R Pコンジュゲートまたは他の適切な二次抗体を使用して、検出する。洗浄後、T M B試薬 (S i g m a) を添加し、450nmでのOD吸収を、プレートリーダーにおいて測定する。

10

【0608】

(実施例24)

アゴニスト性抗ホモ-E P O R抗体の赤血球生成刺激活性および／または抗原特異的寛容活性

ホモ-E P O Rに特異的なアゴニスト性抗体を、実施例6に記載されるものと同様に試験する。

【0609】

(実施例25)

抗ホモ-E P O R抗体の赤血球生成活性

20

ホモ-E P O Rに特異的なアゴニスト性抗体を、実施例8に記載されるものと同様に試験する。

【0610】

(実施例26)

ヘテロ-E P O Rに対する抗体

ヘテロ-E P O Rに対する抗体を、動物の免疫化により作成した。ヒトE P O RおよびヒトC D 1 3 1の細胞外ドメインのキメラF c融合タンパク質 (S i n o B i o l o g i c a l、カタログ番号C T 0 1 0 - H 0 2 H) を、A l l o y T h e r a p e u t i c sからのA T X - G KマウスおよびA T X - G Lマウスにおいて免疫化した。A T X - G K系統は、ヒト抗体重鎖およびヒト抗体カップ軽鎖を含有するが、A T X - G L系統は、ヒト抗体重鎖およびヒト抗体ラムダ軽鎖を含有する。脾臓およびリンパ節からのB細胞を、免疫化後に回収した。

30

【0611】

A T X - G LマウスからのB細胞を、蛍光標識された組換えh E P O R - F c F c (S i n o B i o l o g i c a l、カタログ番号1 0 7 0 7 - H 0 2 H) およびh C D 1 3 1 - F c (I M E 0 2 1、所内) で染色した。無関係のヒトF c融合タンパク質とのカウンタースクリーニング後、h E P O R - F c、h C D 1 3 1 - F c、またはその両方と結合する陽性B細胞を、3つの集団に選別し、単一細胞配列決定に付した。188、136、および129種の固有のヒト抗体配列を、それぞれ、E P O R - F c結合剤、C D 1 3 1 - F c結合剤、およびE P O R - F c / C D 1 3 1 - F c結合剤から得た。V H - C D R 3配列、V L - C D R 3配列、全長V H配列、および全長V L配列を、表4~9に列挙する。

40

【0612】

A T X - G KマウスからのB細胞を、マウス骨髄腫細胞と融合して、ハイブリドーマを作成した。ハイブリドーマ細胞を、2回、スクリーニングした。最初のスクリーニングでは、ヒトE P O R、ヒトC D 1 3 1、またはその両方を発現する293細胞を、一次スクリーニングとして使用した。87種のハイブリドーマ抗体を、ハイブリドーマ上清を用いて、ヒトE P O R (h E P O R)、ヒトC D 1 3 1 (h C D 1 3 1)、またはその両方を発現する293T細胞に対する陽性染色によって単離した (表11および図17)。ハイブリドーマクローンおよびそれらのE P O / E P O R相互作用を遮断する効率を、表11

50

および図 17 に示す。EPOR および CD131 の発現を、それぞれフィコエリトリン (PE) 標識化抗 EPOR (R&D、カタログ番号 FAB307P) および Alexa Fluor (登録商標) 647 (AF647) 標識化抗 CD131 (BD Bioscience、カタログ番号 564191) を用いるフローサイトメトリーによって確認した (図 28B)。すべてのハイブリドーマクローンを精製し、配列決定した。固有の抗体配列を有する 17 クローンを、表 10 および図 28A に示す。可溶性ヘテロ-EPOR (EPOR-CD131-Fc)、ヘテロ-EPOR の可溶性 EPO 受容体サブユニット (EPOR-Fc)、およびヘテロ-EPOR の可溶性 CD131 サブユニット (CD131-Fc) による結合動態を、最初に、抗マウス Fc でコーティングされたバイオセンサーにおいて、上清中のハイブリドーマ抗体を捕捉すること、および 30 nM の可溶性受容体 Fc 融合タンパク質を含有する溶液にバイオセンサーを浸漬することによって、Octet BLI において測定した。上清を、EPO と EPOR との間の相互作用を遮断するためにも使用した。可溶性 EPOR-CD131-Fc を、最初に、抗ヒト Fc でコーティングされたバイオセンサーにおいて捕捉し、次いで、ハイブリドーマ上清ありまたはなしで、10 nM の EPO に浸漬した。クローン M1 および M2 は、EPOR-CD131-Fc および EPOR-Fc への強力な結合を示した。クローン M82 は、CD131-Fc への強力な結合を示した。クローン M26 は、高い親和性で、3 つの可溶性受容体のすべてと結合した (図 28A)。クローン M2 は、EPO/EPOR 相互作用に対するほぼ完全な遮断を示したが、クローン M1、M3、M9、M19、M24、M26、M41、M52、M54、M82、および M87 は、部分的な遮断活性を示した。クローン M37、M38、M43、M71、および M80 は、この条件下で、EPO/EPOR 相互作用を遮断しなかった (図 28A)。

10

20

30

40

50

【0613】

精製抗体を使用して、ヒト白血病 UT-7 細胞、293T/EPOR、293T/CD131、および 293T/EPOR/CD131 細胞を染色して、抗原結合を確認した。UT-7 細胞を、10% のウシ胎仔血清 (FBS) および 5 ng/ml の組換えヒト GM-CSF (Peprotech、カタログ番号 300-03) を有する Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 中で維持した。hEPOR、hCD131、またはその両方を発現する 293T 細胞を、10% の FBS を有するダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) 中で維持した。1×10⁶ 個細胞/ml を、20 μg/ml から開始する 3 倍希釈系列の精製ハイブリドーマクローン M2 および M41 とともに、4℃ で 30 分間、インキュベートした。洗浄後、細胞を、PE 標識化二次抗体とともにインキュベートし、フローサイトメトリー分析に付した。M2 および M41 はどちらも、20 μg/ml で、頑強な結合活性を示した。しかしながら、M2 は、27 ng/ml で約 100% の平均またはメジアン蛍光強度 (MFI) を示したが、M41 は、0.74 μg/ml で結合のほとんどを失い、M2 が、M41 よりも抗 EPOR 結合に対するより高い親和性を有することを示唆した (図 29A)。293T/EPOR/CD131 細胞の結合プロファイルは、293T/EPOR 細胞のものの半分の 1500 周辺のピーク MFI を除いて、類似する (図 29B)。M2 および M41 は、293T/CD131 細胞を染色せず、それらが EPOR に特異的であることを示した (図 29C)。M2 は、MFI 約 18,000 で、UT-7 細胞における非常に強い染色シグナルを示し、UT-7 細胞における EPOR のより高い発現レベルを示唆した (図 29D)。しかしながら、UT-7 細胞における M41 のピーク染色シグナルは、293T/EPOR 細胞のものと類似し、これらの 2 つのクローンが EPOR 上で結合するエピトープが、異なり得ることを示唆した (図 29D)。

【0614】

EPOR 活性化は、Stat5 のリン酸化をもたらす。リン酸化 Stat5 に対するフローベースのアッセイを設定して、抗 EPOR 抗体の遮断活性を試験した。UT-7 細胞を、EPO 刺激の前に、GM-CSF なしで終夜培養した。3×10⁶ 個細胞/ml を、20 μg/ml の抗 EPOR とともに 15 分間インキュベートした後、37℃ で 10 分間

、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の組換えヒトEPO (Peprotech、カタログ番号100-64)で刺激した。細胞を、Cytofix緩衝液 (BD Bioscience、カタログ番号554655)ですぐに固定し、メタノールで透過処理した。洗浄後、細胞を、PE標識化抗Stat5 (BD Biosciences、カタログ番号612567)で染色し、フローサイトメトリー分析に付した。M2は、Stat5リン酸化に対する完全な遮断を示したが、M41は、部分的な遮断を示した (図30)。

【0615】

二次スクリーニングでは、組換えhEPOR-Fc、mEPOR-Fc (IME066、所内)、並びにhEPOR ECDおよびhCD131 D3-D4ドメインのヘテロ二量体ノブーイン-ホールFc融合タンパク質 (IME027/078、所内)のEliisa結合アッセイを、一次スクリーニングとして使用した。205の陽性クローンを単離および拡大増殖した。

【0616】

(実施例27)

アゴニスト性抗ヘテロ-EPOR抗体の赤血球生成刺激活性および／または抗原特異的寛容活性

ヘテロ-EPORに特異的なアゴニスト性抗体を、実施例6に記載されるものと同様に試験する。

【0617】

(実施例28)

抗ヘテロ-EPOR抗体の赤血球生成活性

ヘテロ-EPORに特異的なアゴニスト性抗体を、実施例8に記載されるものと同様に試験する。

【0618】

(実施例29)

EPOの操作ならびに操作されたEPOによるホモ-EPORおよびヘテロ-EPORの活性化

ホモ-EPORまたはヘテロ-EPORを選択的に活性化するEPOアナログを作成するために、EPOアナログを、表3-1および3-2に示されるように、部位1、部位1/2、またはヘリックスBにアミノ酸置換を有するように、操作した。カルバミル化EPO (CEPO)を模倣することができる1つまたは複数のLys残基のアミノ酸置換を有するEPOアナログも作成した (表3-1および3-2)。組換えヒトEPO (rhEPO)を、哺乳動物発現ベクターにクローニングして、ヒト免疫グロブリンFcまたはアルブミン融合タンパク質として発現させた。EPOを、それぞれ、発現ベクターIME001またはIME003におけるヒトIgG4 Fcまたはヒト血清アルブミン (HSA)のN末端、ならびにIME004におけるヒトアルブミンのC末端で融合した。IME001、003、および004の発現を、一過性トランスフェクションによって、Exp1293細胞 (ThermoFisher、カタログ番号A41249)において行った。IME001は、プロテインAクロマトグラフィーによって精製したが、IME003およびIME004は、Capture Selectヒトアルブミン親和性マトリックス (ThermoFisher、カタログ番号191297005)によって精製した。二量体IME001、ならびに単量体IME003およびIME004を、SDS-PAGEにおいて示す (図31A)。

【0619】

IME001、IME003、およびIME004の受容体結合活性を、細胞染色アッセイにおいて確認した。EPORを発現する293T細胞を、レンチウイルス形質導入およびFACS選別を用いて調製した。293T/EPOR細胞を、最初に、図32Aにおける抗EPORフィコエリトリン (PE) コンジュゲート (R&D Systems、カタログ番号FAB307P)で染色することによって検証した。293T/EPOR細胞を、0.01、0.1、または $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ のIME001とともに、 4°C で30分間、

10

20

30

40

50

インキュベートした。洗浄後、細胞を、二次抗ヒトFc PEコンジュゲート (R&D systems、カタログ番号FAB110P) とともにインキュベートし、次いで、フローサイトメトリー分析に付した。IME001は、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ でさえ頑強な結合を示した (図32B)。IME003およびIME004の染色を同様に行った。293T/EPOR細胞を、 0.1 、 1 、または $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ のIME003またはIME004とともに、 4°C で30分間、インキュベートし、それに続いて、ビオチン化抗HSA (ThermoFisher、カタログ番号A80-129B) およびストレプトアビジンPEコンジュゲート (R&S systems、カタログ番号F0040) とのインキュベーションを行った。IME003およびIME004はどちらも、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ で頑強な結合、および $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ でかなり低減された結合を示した (図32C)。

10

【0620】

次に、EPOR活性化レベルを、精製された操作されたEPOアナログを使用して測定した。リガンド (EPO) 結合によるホモEPORまたはヘテロEPORの活性化は、受容体の細胞内ドメイン、ならびに下流のJAK2およびSTAT5のリン酸化をもたらし、これを使用して、EPO活性をアッセイすることができる。EPOを、カルバミル化によって改変して、ホモ二量体EPOR (ホモEPOR) を活性化できないが、ヘテロ二量体EPOR (ヘテロEPOR) を活性化する能力を保持する、カルバミル化EPO (CEPO) を作成することができる。簡潔には、 $1 \text{mg}/\text{ml}$ のrhEPOを、最初に、 1M のホウ酸Na (pH 約8.8) と混合した。次いで、再結晶化されたKOCNを、 1M の最終濃度まで添加した。混合物を、 37°C で24時間インキュベートした後、 miliQ 水、その後、 0.1M のNaCl、 pH 6.0中の 20mM のクエン酸ナトリウムに対して透析した。透析後、CEPOを濃縮し、緩衝液をPBSに交換した。CEPOを、Lys-C消化からの保護によって検証した。rhEPOまたはCEPOを、 10mM のDTT、 30mM のヨード酢酸および 5M の尿素とともに、30分間、暗所でインキュベートした後、Lys-Cプロテイナーゼ (NEB、カタログ番号P8109S) を、 37°C で20時間、添加した。次いで、消化された試料を、SDS-PAGEにおいて分析した。rhEPOは、Lys-Cによって完全に分解されたが、CEPOは保護された (図31B)。

20

【0621】

FBSなしのDMEM中で終夜培養した後、IME001、IME003、IME004、およびCEPOを使用して、293T/EPOR細胞を10分間刺激した。細胞をすぐに溶解し、溶解物をヒトホスホ-STAT5a/b (Y694/Y699) 抗体 (R&D systems、カタログ番号MAB41901) を用いるウエスタンブロットに付した。 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ のIME001、IME003、およびIME004は、Stat5リン酸化に対する頑強な刺激活性を示したが、CEPOは不活性であった (図33A)。類似の結果が、STAT5アルファ/ベータ (ホスホ) [pY694/pY699] ヒトInstant One (商標) ELISAキット (Invitrogen、カタログ番号85-86112-11) を用いて得られた。 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ のIME001、IME003、およびIME004での刺激後、293T/EPOR細胞溶解物を、調製し、ホスホStat5 ELISAアッセイに付した。3つのタンパク質はすべて、未処置対照よりも約10倍高いシグナルを示した (図33B)。

30

40

【0622】

EPOは、高い親和性部位1、および受容体シグナル伝達のために重要である低い親和性部位2の2つの部位において、ホモEPORと結合する。部位1 (K47D、N147K、R150E、G151A) もしくは部位2 (R103A)、またはその両方において変異を有するEPOバリエーションを、Fc融合タンパク質としてIME001にクローニングした (表3-1)。それらを、IME001と同様に、Exp293細胞から産生させ、293T/EPOR細胞を刺激するために使用した。Stat5のリン酸化を、ウエスタンブロットおよび/または特異的ELISAキットによってアッセイした。部位1に単一変異を有するIME005-007は、Stat5リン酸化を有意に低減し、これ

50

は、IME009-011において部位2の変異R103Aと組み合わせた場合に、さらに低減される(表3-1)。部位2の変異R103Aを持つIME008は、依然として有意ではあるが、はるかに低減された活性を示した。興味深いことに、R103Aが、IME043における単量体EPO-HSA融合タンパク質に導入された場合、EPOR活性化は消失し、二量体Fc融合タンパク質が、増強したEPOR活性化を有し得ることを示した。ホモ-EPORを活性化しないEPOバリエーションは、依然として、ヘテロ二量体EPORを活性化して、免疫応答を媒介し得る。

【0623】

EPOのヘリックスBは、ホモ-EPORとの相互作用の従来の部位1または2に関与しない。しかしながら、ヘテロ二量体EPOR/CD131(ヘテロ-EPOR)との相互作用において重要であることが示唆されている。ヘリックスBの表面残基に由来するペプチドは、ヘテロ-EPORを活性化することができるが、ホモ-EPORを活性化することができないことが実証されている。ヘリックスBペプチド(HBP)RMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVまたはヘリックスBの表面ペプチド(HBSP)QEQLERALNSSを、アルブミンのC末端でクローニングして、それぞれ、IME030またはIME031において、アルブミン融合タンパク質として発現させた。IME030およびIME031は、予想通り、ホモ-EPORを活性化しなかった(表3-1)。ヘリックスBにおける表面残基を、EPOとヘテロ-EPORとの間の相互作用を破壊するために、変異させた。Q58A、E62A、E62R、Q65A、L69A、E72A、E72R、R76A、R76E、L80A、N83A、S84A、またはS85Aの変異を、Fc融合体またはアルブミン融合体として、単一の変異または複数の変異として、EPOのヘリックスBに導入した。IME012、IME015、IME032、およびIME034は、ホモ-EPORを刺激する活性のほとんどを失ったが、IME013-014、IME033、IME037-040、IME042、およびIME044-045は、ホモ-EPORを刺激する活性のほとんどを維持した(表3-1)。ヘリックスB残基を、飽和変異誘発によってさらに操作して、ホモ-EPORを活性化するが、ヘテロ-EPORを活性化しないEPOバリエーションを特定することができ、これは、がん成長を促進することなく、赤血球生成を媒介することができる。

【0624】

EPOにおけるLys残基を、カルバミル化EPO(CEPO)をもたらすカルバミル化によって改変することができ、これは、ヘテロ-EPORを活性化するが、ホモ-EPORを活性化しないことが実証されており、Lys残基の一部が、ホモ-EPORの活性化のために必要であることを示唆している。8つのLys残基(K20、K45、K52、K97、K116、K140、K152、およびK154)を、単一の変異または複数の変異として、Alaに変異させた。IME046は、ホモ-EPORを刺激する活性のほとんどを維持したが、IME047-049は、ホモ-EPORを刺激する活性のほとんどを失った(表3-1)。Lys残基を、飽和変異誘発によってさらに操作して、ヘテロ-EPORおよびホモ-EPORの活性化を区別することができる。

【0625】

EPORおよびCD131の両方を発現する293T細胞を使用して、ヘテロ-EPORの活性化を試験した。野生型EPOは、293T/EPOR細胞と同様に効果的に、293T/EPOR/CD131細胞においてStat5のリン酸化を刺激した。293T/EPOR細胞におけるStat5リン酸化に対して不活性であったCEPOは、EPOよりも低い活性であるが、293T/EPOR/CD131細胞におけるStat5リン酸化を刺激することができ(表3-1および3-2)、これらの細胞におけるヘテロ二量体EPOR/CD131の存在を示した。一貫して、ヘリックスB由来ペプチド融合体IME031は、293T/EPOR/CD131細胞においてStat5リン酸化も刺激した。部位1および/または部位2に変異を持つ、IME008、IME010、IME011、およびIME043は、293T/EPOR/CD131細胞におけるStat5のリン酸化を刺激しなかった。ヘリックスBに変異を持つIME013およびIME0

10

20

30

40

50

40は、293T／EPOR細胞におけるものと同様に、293T／EPOR／CD131細胞における強力なStat5のリン酸化を示した。しかしながら、IME033およびIME037-039は、293T／EPOR細胞におけるよりも、293T／EPOR／CD131細胞におけるさらに低減されたレベルの活性を示し、残基Q58、L69、E72、およびL80が、EPOとヘテロ-EPORとの間の相互作用に重要であることを示唆した。K20、K45、およびK52位にLysからAlaへの変異を含有するIME046は、293T／EPOR細胞において、Stat5リン酸化において十分に活性であったが、293T／EPOR／CD131細胞における活性のほとんどを失い（表3-2）、これらの細胞におけるEPORの大部分がヘテロ-EPORであることを示した。これらの位置における飽和変異誘発によるさらなるEPOの操作を行って、ホモ-EPORに特異的なEPOバリエーションを特定することができる。

10

【0626】

シグナルペプチド配列を含むヒトEPOのアミノ酸配列および核酸配列を図34に示す。EPOバリエーションにおけるアミノ酸残基位置番号は、シグナルペプチドのアミノ酸残基位置番号を含まない。シグナルペプチド配列なしのヒトEPOのアミノ酸配列は、配列番号1の配列である。

【0627】

EPORの細胞外ドメインは、2つのドメインD1およびD2からなり、これらはどちらも、EPO結合のために必要である。EPOR細胞外ドメイン（ECD）のFc融合タンパク質EPOR-Fcは、EPOと結合し、EPOR活性化を遮断することが報告されている。EPOR-Fcを、哺乳動物発現ベクターIME020にクローニングし、HEK293細胞において産生させ、そのEPOへの結合を実証した（図32D）。F93AのEPOR変異を、IME020に導入して、IME083を生成させて、単量体EPOR ECDまたは二量体EPOR-FcのいずれかへのEPOの結合を除去した。IME083へのIME003およびIME004の結合を、IME020と同様に試験した。IME083へのIME003またはIME004間の結合はなかった（図41A）。

20

【0628】

CD131の細胞外ドメインは、4つのドメインD1、D2、D3、およびD4からなる。D1およびD2ドメインは、膜の遠位での二量体化の原因となる。D3およびD4ドメインは、EPORと相互作用する領域の可能性がある。ヘテロ二量体Fc融合タンパク質を、ノブ-イン-ホール技術を介して、EPOR ECDおよびCD131 ECDを用いて構築した。設計を表3-3に示す。受容体ECDの配列を図42A～42Dに示す。これらのFc融合体のEPO結合を、ELISA結合アッセイにおいて、同様にアッセイした。IME061／IME062およびIME061／IME063は、約10ng／mlのEC50で、IME003またはIME004への強力な結合を示したが、IME061／IME064はそうではなく、CD131 D3およびD4ドメインはどちらも、EPO結合のために必要であることを示唆した（図41B～41C）。興味深いことに、IME063／IME084も、同様の強力な結合を示し、IME084におけるF93A変異が、EPORアームから結合を消失させたので、EPO結合が、この条件下で、CD131 D3およびD4ドメインを必要とすることを示唆した。ヘテロ二量体EPOR（F93A）／CD131-Fcは、EPOへのヘテロ-EPORの特異的結合部位を含有する可能性があり、それを使用して、ホモ-EPORではなく、ヘテロ-EPORを遮断し得る。

30

40

【表 3 - 1 - 1】

表 3-1. 操作されたEPOおよび293T/EPOR細胞におけるStat5リン酸化

プラスミド	タンパク質	変異	注記	293T/EPOR におけるEPO媒介 Stat5リン酸化	
				ウエスタン	Elisa
	rhEPO	なし	WT	+++	100%
	CEPO	カルバミル化 Lys		-	0
IME001	EPO-Fc	なし	WT	+++	100%
IME002	EPO-Fc	N24Q/N38Q/N83Q	N-グリカンなし	ND	ND
IME003	EPO-HSA	なし	WT	+++	100%
IME004	HSA-EPO	なし	WT	+++	100%
IME005	EPO-Fc	K45D	部位 1	+	86%
IME006	EPO-Fc	N147K	部位 1	+	37%
IME007	EPO-Fc	R150E	部位 1	+/-	27%
IME008	EPO-Fc	R103A	部位 2	+	30%
IME009	EPO-Fc	K45D/R103A	部位 1&2	-	13%
IME010	EPO-Fc	N147K/R103A	部位 1&2	-	5%
IME011	EPO-Fc	R150E/R103A	部位 1&2	-	5%
IME012	EPO-Fc	E62R	ヘリックス B	-	4%
IME013	EPO-Fc	Q65A	ヘリックス B	+++	100%
IME014	EPO-Fc	E72R	ヘリックス B	+++	82%
IME015	EPO-Fc	R76E	ヘリックス B	-	27%
IME016	EPO-Fc	E62A/Q65A/E72A/R76A	ヘリックス B	ND	ND
IME017	HBP-Fc		ヘリックス B ペプチド	ND	ND
IME028	EPO-Fc	N24A/N38A/N83A	N-グリカンなし	+++	ND
IME029	EPO-Fc	N24S/N38S/N83S	N-グリカンなし	+++	ND
IME030	HSA-HBP		ヘリックス B ペプチド	-	0
IME031	HSA-HBSP		ヘリックス B 表面ペプチド	-	0
IME032	EPO-Fc	E62A	ヘリックス B	+	2%
IME033	EPO-Fc	E72A	ヘリックス B	+++	75%
IME034	EPO-Fc	R76A	ヘリックス B	+	5%
IME035	EPO-Fc	G151A	部位 1	ND	ND
IME036	EPO-Fc	R103A/G151A	部位 1&2	ND	ND
IME037	EPO-Fc	Q58A	ヘリックス B	+++	71%
IME038	EPO-Fc	L69A	ヘリックス B	++	57%
IME039	EPO-Fc	L80A	ヘリックス B	+++	32%
IME040	EPO-Fc	N83A	ヘリックス B	+++	45%
IME041	EPO-Fc	S84A	ヘリックス B	ND	ND
IME042	EPO-Fc	S85A	ヘリックス B	+++	ND

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 - 2】

プラスミド	タンパク質	変異	注記	293T/EPOR におけるEPO媒介 Stat5リン酸化	
				ウエスタン	Elisa
IME043	EPO-HSA	R103A	部位 2	-	0
IME044	EPO-HSA	Q65A/E72R	ヘリックス B	+++	94%
IME045	EPO-HSA	Q65A/E72R/N83A	ヘリックス B	+++	105%
IME046	EPO-HSA	K20A/K45A/K52A	Lys	+++	90%
IME047	EPO-HSA	K140A/K152A	Lys	+	23%
IME048	EPO-HSA	K140A/K152A/K154A	Lys	+	11%
IME049	EPO-HSA	K20A/K45A/K52A/K140A/ K152A/K154A	Lys	+	15%
IME050	EPO-HSA	K97A/K116A	Lys	ND	ND
IME051	EPO-HSA	K20A/K45A/K52A/K97A/ K116A/K140A/K152A/ K154A	Lys	ND	ND
IME077	EPO-HSA	K45D/R103A	部位 1&2		
IME085	EPO-HSA	K97A	Lys	ND	ND
IME086	EPO-HSA	K116A	Lys	ND	ND
IME087	EPO-HSA	K140A	Lys	ND	ND
IME088	EPO-HSA	K152A	Lys	ND	ND
IME089	EPO-HSA	Q58A/Q65A/E72R	ヘリックス B	ND	ND
IME090	EPO-HSA	L80A/N83A/S84A/S85A	ヘリックス B	ND	ND
IME091	EPO-HSA	Q58A/Q65A/E72R/ L80A/N83A/S84A/S85A	ヘリックス B	ND	ND
IME092	EPO-HSA	Q58A/L69A	ヘリックス B	ND	ND
IME093	EPO-HSA	Q58A/L80A	ヘリックス B	ND	ND
IME094	EPO-HSA	L69A/L80A	ヘリックス B	ND	ND
IME095	EPO-HSA	Q58A/L69A/L80A	ヘリックス B	ND	ND

10

20

30

40

50

【表 3 - 2 - 1】

表 3-2. 操作されたEPOおよび293T/EPOR/CD131細胞におけるStat5リン酸化

プラスミド	タンパク質	変異	注記	293T/EPOR/CD131 におけるEPO媒介 Stat5リン酸化	
				ウエスタン	Elisa
rhEPO	EPO-Fc	なし	WT	+++	+++
CEPO	EPO-Fc	カルバミル化 Lys		+	+
IME001	EPO-Fc	なし	WT	+++	ND
IME004	HSA-EPO	なし	WT	+++	ND
IME008	EPO-Fc	R103A	部位 2	+	ND
IME010	EPO-Fc	N147K/R103A	部位 1&2	-	+
IME011	EPO-Fc	R150E/R103A	部位 1&2	-	ND
IME013	EPO-Fc	Q65A	ヘリックス B	+++	ND
IME030	HSA-HBP		ヘリックス B ペプチド	-	ND
IME031	HSA- HBSP		ヘリックス B 表面ペプチド	+	ND
IME033	EPO-Fc	E72A	ヘリックス B	+	ND
IME037	EPO-Fc	Q58A	ヘリックス B	+	ND
IME038	EPO-Fc	L69A	ヘリックス B	+	+

【表 3 - 2 - 2】

プラスミド	タンパク質	変異	注記	293T/EPOR/CD131 におけるEPO媒介 Stat5リン酸化	
				ウエスタン	Elisa
IME039	EPO-Fc	L80A	ヘリックス B	+	ND
IME040	EPO-Fc	N83A	ヘリックス B	+++	ND
IME043	EPO-HSA	R103A	部位 2	-	-
IME044	EPO-HSA	Q65A/E72R	ヘリックス B	-	+
IME045	EPO-HSA	Q65A/E72R/N83A	ヘリックス B	+	ND
IME046	EPO-HSA	K20A/K45A/K52A	Lys	+	+
IME047	EPO-HSA	K140A/K152A	Lys	-	ND
IME048	EPO-HSA	K140A/K152A/K154A	Lys	-	ND
IME049	EPO-HSA	K20A/K45A/K52A/K140A /K152A/K154A	Lys	-	ND

【表 3 - 3】

表 3-3. ヘテロ二量体EPOR/CD131-Fc融合タンパク質の設計

プラスミド	EPOR アーム(ホール)	CD131 アーム(ノブ)
IME061	hEPOR ECD	
IME062		hCD131 ECD
IME063		hCD131 D3D4
IME064		hCD131 D4
IME084	hEPOR ECD (F93A)	

E P O R アンタゴニスト（抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体、および／または E P O アナログ／操作された E P O）による慢性感染症の処置

ヘテロ-E P O R アンタゴニスト（抗 E P O 抗体、抗 E P O R 抗体、抗 C D 1 3 1 抗体、および／またはヘテロ-E P O R に対するアンタゴニスト効果を有する E P O アナログ／操作された E P O）を、慢性 L C M V モデルに投与する。マウスを、静脈内注射によって、 2×10^6 プラーク形成単位（P F U）の L C M V - c 1 3 に感染させる。マウスを、1 週間に 1 回または 2 回の i . p . 注射によって、E P O R アンタゴニストで処置する。21 日目に、L C M V 特異的内因性 C D 8 + T 細胞を、C D 8 + T C R b + T 細胞における g p 3 3 四量体によって検出する。g p 3 3 + T 細胞運命のさらなる詳細な分析を、脾臓、肺および肝臓におけるフローサイトメトリーによって、抗 C D 4 4、抗 P D - 1、抗 T i m 3、抗 S L A M F 6、抗 C X 3 C R 1、抗 K L R G 1、および抗 T C F 1 a b を用いて決定する。

【0629】

（実施例 3 1）

抗 E P O、抗 E P O R、および抗 C D 1 3 1 抗体の選択性および特異性

本明細書に記載される抗 E P O、抗 E P O R、および抗 C D 1 3 1 抗体を、特異性および選択性について、試験および分析する。抗体特異性は、内因性レベルの標的を発現する細胞における結合シグナルを、標的を過剰発現する細胞における結合シグナルまたは標的を発現しない細胞における結合シグナルと比較することによって評価することができる。高い特異性を有する抗体は、細胞に存在する標的タンパク質の量に比例して応答する結合シグナルを有し、標的を発現しない細胞における任意の有意なレベルの非特異的結合シグナル（抗体の最適な希釈で）を示さない。293 T 細胞を、ヒト E P O R またはヒト C D 1 3 1 をコードするレンチウイルスで形質導入して、E P O R、C D 1 3 1、またはその両方を発現する 293 T 細胞を作成する。抗 E P O R または抗 C D 1 3 1 抗体を使用して、野生型 293 T 細胞、293 T / E P O R 細胞、293 T / C D 1 3 1 細胞、または 293 T / E P O R / C D 1 3 1 細胞を染色して、結合特異性を確認する（図 28 B）。抗体特異性は、可溶性受容体への結合によって評価することもできる。E P O R または C D 1 3 1 の細胞外ドメインを、可溶性 F c 融合タンパク質として産生させる。ヘテロ二量体 E P O R / C D 1 3 1 も、ノブ-イン-ホール設計によって、可溶性 F c 融合タンパク質として産生させる。これらの可溶性受容体 F c 融合タンパク質を使用して、E L I S A アッセイまたは O c t e t B L I アッセイにおいて、抗体と結合させる（図 24 A ; 32 D）。

【0630】

抗体選択性を、意図される標的タンパク質との反応性を、他の密接に関連するタンパク質との反応性と比較することによって、評価することができる。高い選択性を有する抗体は、他の密接に関連するタンパク質との交差反応性なしで、標的タンパク質への強い結合シグナルを有し（同じ時間および同じ希釈で）、これは、他の関連するタンパク質に対する抗体（陽性対照抗体）を使用することによって試験することができる。E P O R は、成長ホルモン受容体、プロラクチン受容体、およびトロネン受容体も含むサイトカイン受容体ファミリーに属する古典的 I 型サイトカイン受容体である。C D 1 3 1 は、同様に、G M - C S F、I L 3、および I L 5 に対する共通 β 鎖受容体である。抗 E P O R および抗 C D 1 3 1 抗体を、選択性について、これらの受容体に対して試験する。

【0631】

（実施例 3 2）

腫瘍 A g 特異的 C D 8 + T 細胞に対する E P O R 欠失の効果

この実施例では、樹状細胞における E P O R 欠失が腫瘍 A g 特異的 C D 8 + T 細胞にどのような影響を及ぼすかを調べた。図 27 A に示されるように、対照マウス、樹状細胞に E p o R ノックアウトを有するマウス（E p o R Δ X C R 1）、および樹状細胞に m T O R ノックアウトを有するマウス（m T O R Δ X C R 1）に、0 日目（D 0）に、B 16 F 10 - O v a の s . c . 注射を与えて、黒色腫瘍を誘導した。7 日目（D 7）に、マウ

10

20

30

40

50

スに、O T-I (T細胞抗原受容体を発現するC D 8 + T細胞) のi . v . 注射を与えた。14日目に、O T-Iを、マウスの腫瘍流入領域リンパ節 (t d L N) から単離し、細胞を、フローサイトメトリーによって分析した。細胞を、図27Bに示されるように、C T V (c e l l t r a c e v i o l e t) によって測定される細胞増殖について、および消耗T細胞マーカー (例えば、C D 4 4、S L A M F 6、P D-1、およびT i m 3) の発現について、分析した。フローサイトメトリーデータは、E p o R^{ΔXCR1}およびmT O R^{ΔXCR1}マウスが、対照マウスからの55.2%の細胞と比較して、前駆消耗T細胞のマーカーである、C D 4 4を発現する80.2%および82.2%の細胞を有していたことを示した。前駆消耗T細胞の別のマーカーであるS L A M F 6を発現する細胞の数も、フローサイトメトリーを介して測定し、E p o R^{ΔXCR1}およびmT O R^{ΔXCR1}マウスが、対照マウスよりも多くのS L A M F 6発現細胞を有していたことを示した。しかしながら、対照マウスと比較して、終末的に消耗したT細胞のマーカー (例えば、P D-1およびT i m 3) を発現する細胞の数に有意な変化はなかった。これらのデータは、E p o RまたはmT O Rの樹状細胞特異的ノックアウトが、前駆消耗T細胞に向かうA g 特異的C D 8 + T細胞プライミングを調節することができ、これは、終末的に消耗したT細胞よりも腫瘍進行の制御を容易にし得ることを示唆した。さらにまた、増殖したO T-Iのパーセントの定量化は、E p o R^{ΔXCR1}およびmT O R^{ΔXCR1}マウスが、対照と比較して、統計学的に有意に増加した増殖したO T-Iのパーセントを有していたことを示し (図27C)、対照と比較した消耗T細胞に対するマーカーの変化を伴うO T-I細胞の増殖の変化が、実施例19に示されるように、E p o R^{ΔXCR1}を有するマウスにおける腫瘍負荷の低減のための可能性のあるメカニズムであり得ることを示唆した。

10

20

【0632】

(実施例33)

抗原特異的寛容におけるC E P Oの効果

【0633】

マウスの末梢リンパ節 (p L N) から収集されたC D 1 1 c^{Int}M H C I I^{High}X C R 1⁺c D C 1に、照射されたO v a - t h y細胞を負荷し、ナイーブO T I I細胞と共培養し、未処置のままにしたか、またはE P Oもしくはカルバミル化 (C E P O) で処置した。E P O / C E P O処置ありまたはなしのC D 1 1 c^{Int}M H C I I^{High}X C R 1⁺c D C 1を、フローサイトメトリーを介して、C e l l T r a c e (商標) V i o l e t (C T V) を用いてF o x P 3発現細胞および増殖について分析した。図38Aに示されるように、フローサイトメトリー分析は、E P OまたはC E P Oによる処理が、未処置細胞における25.5%と比較して、それぞれ、71.2%または69.3%の増加したF o x P 3発現細胞をもたらしたことを明らかにした。さらにまた、生存O T I IにおけるF o x P 3 + T r e gパーセントの定量化は、処置なしの細胞と比較して、E P OまたはC E P O処置によるF o x P 3 + T r e gのパーセンテージの統計学的に有意な増加を示した。C E P Oはヘテロ-E P O Rを活性化し、ホモ-E P O Rを活性化しないので、C E P O処置による生存O T I Iにおける増加したF o x P 3 + T r e gの結果は、ヘテロ-E P O R活性化が抗原特異的寛容を媒介することを示唆する。

30

40

【0634】

E P O RまたはmT O Rに対する潜在的な依存性を有するC E P Oの効果に対するさらなるi n v i t r o研究のために、樹状細胞にmT O Rノックアウトを有するマウス (mT O R^{ΔXCR1})、樹状細胞にE P O Rノックアウトを有するマウス (E P O R^{ΔXCR1}) を用いる実験を、図38Bに示されるように、行うことができる。C D 1 1 c^{Int}M H C I I^{High}X C R 1⁺c D C 1を、樹状細胞にmT O Rノックアウトを有するマウス (mT O R^{ΔXCR1})、樹状細胞にE P O Rノックアウトを有するマウス (E P O R^{ΔXCR1})、およびそれらの同腹仔対照の末梢リンパ節 (p L N) から収集する。細胞に、照射O v a - t h y細胞を負荷し、C E P Oありまたはなしで、ナイーブO T I I細胞と共培養する。F o x P 3発現および増殖を測定するためのフローサイトメトリー

50

分析などの下流の分析を行う。

【0635】

(実施例34)

末梢リンパ節 (pLN) 遊走性 cDC1 に対する EPOR の効果

【0636】

末梢リンパ節 (pLN) を、 $EpoR^{tdT/+}$ 、 $Zbtb46^{gfP/+}$ $EpoR^{tdT/+}$ 、 $CCR7^{-/-}$ $EpoR^{tdT/+}$ 、 $Batf3^{-/-}$ $EpoR^{tdT/+}$ 、および野生型 (WT) C57BL/6J マウスからのフローサイトメトリーによって分析して、EPOR が遊走性 cDC または常在性 cDC において主に発現されるかどうかを見た。図 35A に示されるように、フローサイトメトリー分析は、それぞれのマウス系統について、 $EpoR^{tdT}$ $Tomato$ が、遊走性 cDC ($MHCII^{high}CD11^{inter}$) および常在性 cDC ($MHC^{inter}CD11^{high}$) によって発現されるが、大部分は遊走性 cDC において発現されることを示したことを明らかにした。同様に、ヒストグラム表現 (図 35B) は、個々のマウス系統の遊走性および常在性 cDC1 における EPOR 発現を示した。個体の鼠径 (10.5%)、腋窩 (19.5%)、上腕 (10.4%)、または浅頸 (15.5%) リンパ節における EPOR 発現細胞も、図 35C に示されるように、フローサイトメトリーを介して定量化した。さらにまた、pLN 遊走性 cDC を、 $XCR1^{+}cDC1$ および $XCR1^{-}cDC2$ としてゲーティングし、フローサイトメトリー分析を介して、EPOR および CD103 発現でさらにゲーティングした。図 35D に示されるように、 $EpoR^{tdT/+}$ および $Zbtb46^{gfP/+}$ $EpoR^{tdT/+}$ の $XCR1^{+}cDC1$ における EPOR の発現と比較して、 $CCR7^{-/-}$ $EpoR^{tdT/+}$ および $Batf3^{-/-}$ $EpoR^{tdT/+}$ の $XCR1^{+}cDC1$ における EPOR の発現の減少があり、EPOR が、CCR7 および Batf3 依存性の様式で、pLN 遊走性 cDC1 において主に発現されることを示唆した。

【0637】

異なるマウス系統も作出して、EPOR 発現を分析した。図 35E に示されるように、 $EpoR^{tdT-cre}$ マウスを、 $Rosa26-lox-Stop-lox-EYFP$ マウスと交配させた。 $EpoR^{tdT-cre}$ 発現は、停止コドンの lox による欠失 ($floxing out$) により、EYFP 発現をもたらした。pLN 遊走性 cDC1 ($MHCII^{high}CD11^{inter}XCR1^{+}$) を、フローサイトメトリー分析を介して、EYFP 発現についてゲーティングし、pLN 遊走性 cDC1 における EYFP および EPOR の発現を示した。

【0638】

次に、末梢リンパ節の遊走性 $EpoR^{+}XCR1^{+}cDC1$ を特徴付けた。図 36 のフローサイトメトリー分析に示されるように、末梢リンパ節遊走性 $EpoR^{+}XCR1^{+}cDC1$ は、DEC205 (CD205) および CCR7 を発現した。 $EpoR^{high}$ 遊走性 cDC1 対 $EpoR^{low}$ 遊走性 cDC における PD-L1、Tim3、Axl および CD131 の発現を、図 36 のヒストグラムに示されるように、分析した。

【0639】

末梢リンパ節遊走性 $EpoR^{+}XCR1^{+}cDC1$ が Ag 特異的 Treg を媒介するかどうかを見るために、pLN 遊走性 $EpoR^{+}cDC1$ および $EpoR^{-}cDC1$ を、最初に、図 37A に示されるように、フローサイトメトリーによって選別した。 2×10^4 個の $CD45.2^{+}cDC1$ を、 1×10^5 個の精製マクロファージおよび CellTrace (商標) Violet (CTV) 標識化ナイーブ $CD45.1^{+}OT-II$ 細胞と共培養した。 $100 ng/200 \mu l$ の DEC-205-Ova を、cDC1 特異的標的化抗原または細胞関連抗原として添加した。TGF β も、 $2 ng/ml$ の濃度で添加した。次に、TGF β 処置ありまたはなしの細胞を、フローサイトメトリーを介して、CTV による FoxP3 発現および増殖について分析した。図 37B に示されるように、TGF β ありまたはなしで、 $EpoR^{+}cDC1$ と培養された OT-II (例えば、 $CD45.1^{+}CD3^{+}TCR\alpha 2^{+}CD4^{+}CD8^{-}$ 細胞) は、 $EpoR^{-}cDC1$ と培養され

たOT-I Iよりも高いFoxP3発現を示した。生存OT-I IにおけるFoxP3+Tregのパーセントと平均またはメジアン蛍光強度(MFI)の両方の定量化は、EpoR+cDC1およびTGFβ処置と比較して、EpoR+cDC1およびTGFβによるFoxP3+Tregの統計学的に有意な増加を示した。

【0640】

同様の実験を、Gray照射Act-mOVA胸腺細胞およびEPO処置を用いて実施した。2×10⁴個のCD45.2⁺cDC1を、1×10⁵個の精製マクロファージおよびCellTrace (商標) Violet (CTV) 標識化ナイーブCD45.1⁺OT-I I細胞と共培養した。4×10⁴個の15 Gray照射Act-mOVA胸腺細胞(CD45.2⁺)を、cDC1特異的標的化抗原または細胞関連抗原として添加した。TGFβも、2 ng/mlの濃度で添加した。EPOを、5連続日の過程にわたって、40 IU/200 ulの濃度で毎日添加した。6日目に、TGFβ処置ありまたはなしおよびEPO処置ありまたはなしの細胞を、フローサイトメトリーを介して、CTVによるFoxP3発現および増殖について分析した。図37Cに示されるように、EpoR+cDC1と培養されたOT-I I (例えば、CD45.1⁺CD3⁺TCRva2⁺CD4⁺CD8⁻細胞)は、EpoR⁻cDC1と培養されたOT-I Iよりも高いFoxP3発現を示した。EPOの添加は、EpoR+cDC1とEPOと同等であったレベルまで、EpoR⁻cDC1と培養された生存OT-I IにおけるFoxP3+TregのパーセントおよびMFIを増加させた。まとめると、結果は、末梢リンパ節遊走性EpoR⁺XCR1⁺cDC1が、DEC205-OvaおよびOva発現細胞の両方に向かってAg特異的Tregを誘導したことを示唆する。

【0641】

(実施例35)

遊走性cDCおよび末梢Ag特異的寛容に対するEPOの効果についてのin vivo研究

【0642】

遊走性cDCを、図39Aの実験スキームに示されるように、マウスの流入領域リンパ節への三番目の乳房脂肪体にs.c.注射した。三番目の乳房脂肪体のcDC1を、収集し、フローサイトメトリーを介して分析した。図39Bに示されるように、三番目の乳房脂肪体からのcDCを、生一死aqua⁻CD11c⁺Zbtb46⁺としてゲーティングした。EpoR⁺cDC1を、XCR1⁺cDC1およびCD103⁺内でゲーティングした。フローサイトメトリー分析は、三番目の乳房脂肪体のcDC1の大部分がEPO Rを発現した(76.8%)ことを示した。アポトーシス細胞を持つ遊走性cDCの効果調べるために、PKH67標識化CD45.1⁺デキサメタゾン(DEX)誘導アポトーシス胸腺細胞を、三番目の乳房脂肪体にs.c.注射した。12時間後、流入領域リンパ節(鼠径LN)を、フローサイトメトリーによって分析した。図39Cに示されるように、CD45.2⁺CD45.1⁻宿主細胞をゲーティングし、PKH67陽性シグナルが、EpoR発現に対して、遊走性(MHCI⁺I⁺highCD11c⁺inter)および常在性cDC(MHCI⁺I⁺interCD11c⁺high)において見出された。アポトーシス細胞を持つ遊走性cDCが、常在性cDCと比較して、より多くのEPO Rを発現したことが見出された。

【0643】

EPOの効果、図40Aに示されるように、-1日目に5×10⁵個の精製マクロファージおよびCellTrace (商標) Violet (CTV) 標識化ナイーブCD45.1⁺OT-I I細胞をi.v.注射することによって、in vivoで研究した。0日目に、デキサメタゾン(DEX)誘導アポトーシスAct-mOVA胸腺細胞を、三番目の乳房脂肪体にs.c.注射した。50 IUのEPOを、4連続日の過程にわたって、i.p.で与えた。4日目に、流入領域リンパ節(鼠径LN)におけるCD45.1⁺OT-I Iを、フローサイトメトリーによって分析した。図40Bに示されるように、EPO処置ありまたはなしのマウスからのOT-I Iを、CD45.1⁺CD3⁺TCRv

a 2⁺ C D 4⁺ C D 8⁻としてゲーティングした。O T I Iを、C T Vに対するF o x P 3発現についてさらにゲーティングした。フローサイトメトリー分析は、E P Oにより、それぞれ、F o x P 3⁺細胞およびM F Iのパーセントによって測定される、養子移入されたO T I IにおけるF o x P 3⁺細胞（E P Oありで58.3%対E P Oなしで7.23%）およびF o x P 3発現の統計学的に有意な増加があったことを明らかにした。結果は、E P Oが、細胞関連A g（O v a）に対する流入領域リンパ節における末梢A g特異的寛容を促進したことを示した。同様の実験を、C E P Oを用いて行うことができる。

【0644】

配列

【0645】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

表 4. 抗EPOR抗体のためのVH-CDR3配列およびVL-CDR3配列

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 10	20	IGHV6 -1	IGLV2 -14	CARKGELLGA FDIW	63	CSSYTSSSTWV F	251	439	627
クローン型 13	18	IGHV6 -1	IGLV2 -23	CARKWELRDA FDIW	64	CCSYAGRSTLG IDWVF	252	440	628
クローン型 22	8	IGHV3 -20	IGLV3 -1	CAREDYGDGP WFDPW	65	CQAWDSSTYVF	253	441	629
クローン型 31	6	IGHV4 -39	IGLV3 -27	CATLTGDGDY W	66	CYSAADNNLVF	254	442	630
クローン型 33	6	IGHV3 -21	IGLV3 -19	CARDRSSSWY SFDYW	67	CNSRDSSGNHR VF	255	443	631
クローン型 36	6	IGHV3 -21	IGLV2 -11	CARDGITGTT FYFDYW	68	CCSYAGSYTWV F	256	444	632
クローン型 42	5	IGHV3 -33	IGLV2 -8	CASIAAAGRD YW	69	CSSYAGSNNLV F	257	445	633
クローン型 43	5	IGHV3 -23	IGLV2 -14	CAKAPELRFD YW	70	CSSYTSSSTYV F	258	446	634
クローン型 44	5	IGHV1 -18	IGLV2 -23	CARNHYYMD VW	71	CCSYAGSSTYV VF	259	447	635
クローン型 45	5	IGHV4 -34	IGLV3 -19	CARGELGIGY WYFDLW	72	CNSRDSSGNHV VF	260	448	636
クローン型 47	4	IGHV3 -33	IGLV3 -21	CARDTGITMV RGVFDYW	73	CQVWDSSSDHP VF	261	449	637
クローン型 56	4	IGHV3 -73	IGLV5 -45	CNGVYGGSSY FFDYW	74	CMIWHSSAVVF	262	450	638
クローン型 58	3	IGHV1 -2	IGLV3 -19	CARDETTIFD YW	75	CNSRDSSGNWV F	263	451	639
クローン型 62	3	IGHV1 -18	IGLV3 -10	CARLGCNGTS CYTSWYYHFY MDVW	76	CYSTDSSGNHS WVF	264	452	640
クローン型 66	3	IGHV3 -33	IGLV2 -14	CARDEYYGS GSYSFDYW	77	CSSYTSSSTLV F	265	453	641
クローン型 69	3	IGHV4 -4	IGLV5 -45	CARRGAARPF DYW	78	CMIWHSSAYVV F	266	454	642
クローン型 75	2	IGHV2 -5	IGLV3 -1	CAHSNWNNGY FDLW	79	CQAWDSSTAWV F	267	455	643
クローン型 80	2	IGHV3 -23	IGLV3 -10	CAKKDIVATH FDYW	80	CYSTDSSGNHK VF	268	456	644
クローン型 82	2	IGHV3 -15	IGLV3 -19	CTTADYDFWS GYMDVW	81	CNSRDSSGNHW VF	269	457	645
クローン型 95	2	IGHV3 -48	IGLV2 -11	CARDRYNFDY W	82	CCSYAGSSWVF	270	458	646
クローン型 99	2	IGHV3 -20	IGLV2 -14	CARGGDTAMV TVFDYW	83	CSSYTSSSTLV F	271	459	647
クローン型 102	2	IGHV5 -51	IGLV2 -23	CARQINWGAI DYW	84	CCSYAGSSTFV VF	272	460	648
クローン型 103	2	IGHV1 -18	IGLV2 -23	CARQITATRG FDYW	85	CCSYAGSSTFV VF	273	461	649
クローン型 109	2	IGHV6 -1	IGLV2 -23	CARKWELRDT FDIW	86	CCSYAGSSTLG IDWVF	274	462	650

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 110	2	IGHV4 -34	IGLV4 -3	CASYGDDFFDY W	87	CGESHTIDGQV GVVF	275	463	651
クローン型 111	2	IGHV3 -21	IGLV4 -3	CARETELTVM DVW	88	CGESHTIDGQV GWVF	276	464	652
クローン型 112	2	IGHV3 -15	IGLV3 -19	CTTDWEYYDF WSGYSPYFD YW	89	CNSRDSSGNHV VF	277	465	653
クローン型 397	1	IGHV4 -30-4	IGLV3 -21	CARAFDYW	90	CQVWDSRSDHV VF	278	466	654
クローン型 398	1	IGHV4 -30-4	IGLV3 -21	CVRAFDYW	91	CQVWDLYSAHV VF	279	467	655
クローン型 399	1	IGHV3 -15	IGLV3 -10	CTTGANW	92	CYSTDSSGNHW VF	280	468	656
クローン型 400	1	IGHV1 -8	IGLV2 -14	CARVAFDIW	93	CSSYTSSSTVF	281	469	657
クローン型 401	1	IGHV1 -18	IGLV2 -8	CARQIGDYW	94	CSAYAGSNNV F	282	470	658
クローン型 402	1	IGHV3 -23	IGLV1 -44	CHQTGEDYW	95	CAAWDDSLNGW VF	283	471	659
クローン型 407	1	IGHV3 -15	IGLV3 -25	CTTGGETHW	96	CQSADSSATWV F	284	472	660
クローン型 408	1	IGHV1 -8	IGLV3 -10	CARRSFLDYW	97	CYSTDSSGNHR VF	285	473	661
クローン型 409	1	IGHV3 -15	IGLV3 -25	CTTGGETNW	98	CQSLDSSGTW VF	286	474	662
クローン型 413	1	IGHV3 -21	IGLV3 -1	CARESSGFDY W	99	CQAWDSSTVVF	287	475	663
クローン型 414	1	IGHV1 -8	IGLV3 -1	CARGSSWFDY W	100	CQAWDSSTVVF	288	476	664
クローン型 415	1	IGHV3 -15	IGLV3 -1	CTLNWGDYW	101	CQAWDSSTVVF	289	477	665
クローン型 418	1	IGHV3 -21	IGLV3 -19	CARAADAEDI W	102	CNSRDSSGNHW VF	290	478	666
クローン型 419	1	IGHV3 -13	IGLV2 -23	CARGGSDAFD IW	103	CCSYAGSVVF	291	479	667
クローン型 420	1	IGHV3 -15	IGLV3 -19	CTTDHPYYW	104	CNSRDSSGNHV VF	292	480	668
クローン型 421	1	IGHV3 -15	IGLV3 -19	CTTDHPYYW	105	CNSRDSSGNHW VF	293	481	669
クローン型 423	1	IGHV3 -33	IGLV1 -36	CALAVTGFDY W	106	CAAWDDRLNGP VF	294	482	670
クローン型 424	1	IGHV3 -11	IGLV2 -23	CARDGAAEDI W	107	CCSYAGSSTLV F	295	483	671
クローン型 426	1	IGHV1 -18	IGLV3 -1	CARDRGYSFD YW	108	CQAWDSSTF	296	484	672
クローン型 427	1	IGHV1 -18	IGLV3 -27	CARNHYYYLD VW	109	CYSAADNNRVF	297	485	673
クローン型 428	1	IGHV3 -13	IGLV3 -27	CARVSPGTGT DYW	110	CYSAADNNLVF	298	486	674
クローン型 429	1	IGHV3 -15	IGLV3 -27	CTARPLGDVW	111	CYSAADNNYVF	299	487	675

10

20

30

40

50

【表 4 - 4】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 430	1	IGHV3 -15	IGLV3 -27	CTTDNGFDYW	112	CYSAADNNLVF	300	488	676
クローン型 431	1	IGHV3 -21	IGLV3 -19	CARDLISSFD YW	113	CNSRDSSGNHL VF	301	489	677
クローン型 432	1	IGHV3 -7	IGLV3 -19	CARRIVGAFD YW	114	CNSRDSSGNHL VF	302	490	678
クローン型 434	1	IGHV1 -46	IGLV3 -21	CARGGWGTMD VW	115	CQVWDSSSDHV VF	303	491	679
クローン型 435	1	IGHV3 -48	IGLV3 -10	CAREGWELLD YW	116	CYSTDSSGNHR VF	304	492	680
クローン型 ype436	1	IGHV3 -53	IGLV7 -43	CARDNWDSYF DYW	117	CLLYYGGARVF	305	493	681
クローン型 437	1	IGHV3 -20	IGLV2 -8	CARTTVTHMD VW	118	CSSYAGSNNLV F	306	494	682
クローン型 438	1	IGHV3 -53	IGLV2 -23	CARDWNYDAF DIW	119	CCSYAGSSTWV F	307	495	683
クローン型 439	1	IGHV3 -21	IGLV2 -23	CARGDPGWFD PW	120	CCSYAGSSTFW VF	308	496	684
クローン型 442	1	IGHV3 -74	IGLV3 -1	CARENWNYWF DPW	121	CQAWDSSTVVF	309	497	685
クローン型 443	1	IGHV4 -4	IGLV3 -1	CARLRPGDSF DYW	122	CQAWDSSTALV F	310	498	686
クローン型 444	1	IGHV7 -4-1	IGLV3 -1	CARSPNWGLF DYW	123	CQAWDSSTSGV F	311	499	687
クローン型 445	1	IGHV3 -21	IGLV3 -19	CARDRGATGF DYW	124	CNSRDSSGNHW VF	312	500	688
クローン型 446	1	IGHV1 -18	IGLV3 -10	CARESGELLG DYW	125	CYSTDSSGNHR VF	313	501	689
クローン型 448	1	IGHV3 -13	IGLV3 -19	CARYSGSYYY FDYW	126	CNSRDSSGNHV VF	314	502	690
クローン型 450	1	IGHV3 -33	IGLV3 -10	CARGIAAAGK DYW	127	CYSTDSSGNHA VF	315	503	691
クローン型 451	1	IGHV5 -51	IGLV3 -21	CARQDSNYVF DYW	128	CQVWDSSSDHV VF	316	504	692
クローン型 452	1	IGHV3 -7	IGLV1 -44	CARDHSAWSF DYW	129	CATWDDSLNGR VF	317	505	693
クローン型 453	1	IGHV3 -7	IGLV2 -8	CARRRGSCSF DYW	130	CSSYAGSNNLV F	318	506	694
クローン型 454	1	IGHV1 -18	IGLV2 -8	CARRSYANCF DYW	131	CSSYAGSNNWV F	319	507	695
クローン型 455	1	IGHV3 -74	IGLV2 -23	CARDEQLVPF DIW	132	CCSYAGSSTLV F	320	508	696
クローン型 456	1	IGHV3 -53	IGLV2 -23	CARDGAAAGD FQHW	133	CCSYAGSSTWV F	321	509	697
クローン型 457	1	IGHV3 -43	IGLV2 -8	CAKDSGSYYF DYW	134	CSSYAGSNNFV VF	322	510	698
クローン型 458	1	IGHV3 -11	IGLV1 -40	CARDGQLWSF DYW	135	CQSYDSSLSDV VF	323	511	699
クローン型 459	1	IGHV3 -53	IGLV1 -40	CGRVVPIGNW FDPW	136	CQSYDSSLSGW VF	324	512	700
クローン型 460	1	IGHV3 -7	IGLV5 -45	CARDSNWGVF DYW	137	CMIWHSSAWVF	325	513	701

10

20

30

40

50

【表 4 - 5】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 461	1	IGHV3 -7	IGLV5 -45	CARDRLTGDL DYW	138	CMIWHSSAWVF	326	514	702
クローン型 464	1	IGHV3 -74	IGLV3 -9	CAREGDRSDA FAIW	139	CQVWDSSGSWV F	327	515	703
クローン型 465	1	IGHV3 -21	IGLV3 -10	CARQQWLGYY FDYW	140	CYSTDSSGNHR VF	328	516	704
クローン型 466	1	IGHV3 -7	IGLV3 -19	CARDSNFLYY FDYW	141	CNSRDTSGNYL VF	329	517	705
クローン型 468	1	IGHV1 -18	IGLV3 -19	CARQITGTRG FDYW	142	CNSRDSSGNHW VF	330	518	706
クローン型 469	1	IGHV1 -8	IGLV3 -10	CARMGYSNYP FDYW	143	CYSTDSSGNHV VF	331	519	707
クローン型 470	1	IGHV1 -46	IGLV3 -19	CARGIPTTVT PDYW	144	CNSRDSSGNHL VF	332	520	708
クローン型 471	1	IGHV3 -13	IGLV3 -10	CARAGLLTGD AFDIW	145	CYSTDSSGNHR VF	333	521	709
クローン型 474	1	IGHV3 -15	IGLV7 -43	CITGTTFPFD YW	146	CLLYYGGAWVF	334	522	710
クローン型 475	1	IGHV3 -64	IGLV2 -14	CTKGGVGASF DYW	147	CSSYTSSSTWV F	335	523	711
クローン型 476	1	IGHV3 -21	IGLV1 -44	CARGDYSNYY FDYW	148	CAAWDDSLNGW VF	336	524	712
クローン型 477	1	IGHV4 -34	IGLV2 -8	CARWEQPW	149	CSSYAGSNNWV F	337	525	713
クローン型 478	1	IGHV1 -46	IGLV2 -23	CARRTGTHY FDYW	150	CCSYAGSSTLV F	338	526	714
クローン型 479	1	IGHV3 -11	IGLV2 -23	CARGLWLGLY FDYW	151	CCSYAGSSTWV F	339	527	715
クローン型 480	1	IGHV5 -51	IGLV2 -8	CARFLGSSYY FDYW	152	CSSYAGSNNFE VF	340	528	716
クローン型 481	1	IGHV3 -48	IGLV5 -45	CARGGAAAGA FDIW	153	CMIWHSSAWVF	341	529	717
クローン型 486	1	IGHV4 -30-4	IGLV3 -1	CARAEWELLW FDPW	154	CQAWDSSTVVF	342	530	718
クローン型 487	1	IGHV2 -5	IGLV3 -25	CAHNYFYISG YFYW	155	CQSANS GTWVF	343	531	719
クローン型 488	1	IGHV3 -30	IGLV3 -1	CAKDPLRVVN YMDVW	156	CQAWDSSTVVF	344	532	720
クローン型 490	1	IGHV2 -5	IGLV3 -25	CAQTGYNSWS FDYW	157	CQSADSSGTWV F	345	533	721
クローン型 492	1	IGHV1 -18	IGLV3 -19	CAREDAWNYG WFDPW	158	CNSRDSSGNHV VF	346	534	722
クローン型 493	1	IGHV1 -18	IGLV3 -10	CAREILWLGG YFDYW	159	CYSTDSSGNHR VF	347	535	723
クローン型 494	1	IGHV7 -4-1	IGLV3 -19	CAREYSSGWY YFDYW	160	CNSRDSSGNHL VF	348	536	724
クローン型 495	1	IGHV1 -2	IGLV3 -10	CARERIAVAP PFDYW	161	CYSTDSSGNHR VF	349	537	725
クローン型 496	1	IGHV1 -8	IGLV3 -10	CARAGWELPE YFQHW	162	CYSTDSSGNHR VF	350	538	726
クローン型 497	1	IGHV1 -8	IGLV3 -10	CARGGDDYSN LFDYW	163	CYSTDSSGNHR VF	351	539	727

10

20

30

40

50

【表 4 - 6】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 498	1	IGHV1 -69D	IGLV3 -21	CARTPLGIGR SFDLW	164	CQVWDSNSDHW VF	352	540	728
クローン型 499	1	IGHV3 -15	IGLV3 -25	CTTASTVTTG DYW	165	CQSADSSGTYP VF	353	541	729
クローン型 501	1	IGHV6 -1	IGLV3 -19	CARERTEIDY W	166	CNSRDSSGNHW VF	354	542	730
クローン型 502	1	IGHV3 -15	IGLV7 -46	CTTGRYFDWF DYW	167	CLLSYSGARVF	355	543	731
クローン型 504	1	IGHV3 -15	IGLV2 -8	CTTASGSYWF DPW	168	CSSYAGSNNLV F	356	544	732
クローン型 505	1	IGHV3 -30	IGLV2 -23	CAKGNWNYGD AFDIW	169	CCSYAGSSTYV F	357	545	733
クローン型 506	1	IGHV3 -20	IGLV2 -14	CARENYDFWS GFDPW	170	CSSYTSSSTVV F	358	546	734
クローン型 507	1	IGHV6 -1	IGLV2 -23	CAREDRGFYD W	171	CCSYAGSSNVV F	359	547	735
クローン型 508	1	IGHV3 -43	IGLV2 -23	CAKRAVVTDY YMDVW	172	CCSYAGSSTFW VF	360	548	736
クローン型 509	1	IGHV3 -48	IGLV2 -8	CARTSSWSYD AFDIW	173	CSSYAGSNNFV VF	361	549	737
クローン型 511	1	IGHV1 -46	IGLV3 -1	CARERGHVT PYFDYW	174	CQATEVF	362	550	738
クローン型 512	1	IGHV3 -48	IGLV3 -27	CARDGPQVGA TDFDYW	175	CYSAADNKVF	363	551	739
クローン型 513	1	IGHV3 -15	IGLV3 -1	CTTEYSSSEN FDYW	176	CQAWDSSTAVF	364	552	740
クローン型 514	1	IGHV3 -74	IGLV3 -1	CARDLGAARP RGFDYW	177	CQAWDSSTVVF	365	553	741
クローン型 515	1	IGHV3 -23	IGLV3 -10	CAKEGDSGYD SAFDIW	178	CYSTDSSGNRV F	366	554	742
クローン型 517	1	IGHV4 -4	IGLV3 -10	CARVLNWNYG DAFDIW	179	CYSTDSSGNHR GF	367	555	743
クローン型 518	1	IGHV4 -4	IGLV2 -11	CARDPSIVGA TAFDIW	180	CCSYAQGVVF	368	556	744
クローン型 519	1	IGHV4 -4	IGLV3 -19	CARSHIVGVN GGFDYW	181	CNSRDSSGNHW VF	369	557	745
クローン型 520	1	IGHV3 -21	IGLV3 -19	CARDRYNWN YRAFDIW	182	CNSRDSSGNHL VF	370	558	746
クローン型 522	1	IGHV3 -7	IGLV3 -19	CARDLGRGTI SWFDPW	183	CNSRDSSGNHW VF	371	559	747
クローン型 523	1	IGHV2 -5	IGLV3 -21	CTQTGYDSRW SFAYW	184	CQVWDSSSDHW VF	372	560	748
クローン型 524	1	IGHV1 -18	IGLV3 -19	CAREGQWRGR GWFALW	185	CNSRDSSGNHL VF	373	561	749
クローン型 526	1	IGHV7 -4-1	IGLV3 -19	CARERYFEDF HYMDVW	186	CNSRDSSGNHL VF	374	562	750
クローン型 527	1	IGHV1 -2	IGLV3 -19	CARSSWLQLT YYFDYW	187	CNSRDSSGNHL LF	375	563	751
クローン型 528	1	IGHV1 -46	IGLV3 -19	CAREGLQLGS NWFDPW	188	CKSRDSSGNHV VF	376	564	752
クローン型 529	1	IGHV3 -48	IGLV3 -10	CARNDILTGE DAFDIW	189	CYSTDSSGNHR	377	565	753

10

20

30

40

50

【表 4 - 7】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 530	1	IGHV3 -23	IGLV3 -19	CAKESIIVGA TMFDYW	190	CNSRDSSGNHW VF	378	566	754
クローン型 531	1	IGHV3 -30	IGLV3 -19	CAKGIAALGY YYMDVW	191	CNSRDSSGNHL VF	379	567	755
クローン型 532	1	IGHV5 -51	IGLV3 -19	CAKRRITGSH NWFDPW	192	CNSRDSSGNHL VF	380	568	756
クローン型 534	1	IGHV7 -4-1	IGLV7 -43	CARGGTIFGV VNFDYW	193	CLLYYGGARVF	381	569	757
クローン型 537	1	IGHV3 -33	IGLV2 -23	CLSRSGYSAH NDGDYW	194	CCSYAGSSTWV F	382	570	758
クローン型 538	1	IGHV1 -2	IGLV1 -40	CTKEGLVVRP DWFDPW	195	CQSYDSSLSGP VF	383	571	759
クローン型 539	1	IGHV6 -1	IGLV2 -23	CARKGRDVF IW	196	CCSYAGSSTYW VF	384	572	760
クローン型 540	1	IGHV1 -18	IGLV1 -40	CAREGSGSYS DAFDIW	197	CQSYDSSLSGS YVF	385	573	761
クローン型 541	1	IGHV2 -5	IGLV5 -45	CTHTEYRNTW CVDYW	198	CMIWHSSAIVF	386	574	762
クローン型 542	1	IGHV2 -5	IGLV5 -45	CAHSPYTSW PFDYW	199	CMIWHSSASVF	387	575	763
クローン型 543	1	IGHV1 -8	IGLV5 -45	CARVSYSSSW SLFDYW	200	CMIWHSSAWVF	388	576	764
クローン型 548	1	IGHV2 -70	IGLV3 -19	CARIRGVGAL DGFDPW	201	CNSRDSSGNHL VF	389	577	765
クローン型 549	1	IGHV1 -18	IGLV3 -19	CARPLDYGDY EGWDPW	202	CNSRDSSGNHL VF	390	578	766
クローン型 550	1	IGHV1 -18	IGLV3 -19	CAREGRTNYF YYMDVW	203	CNSRDSSGNHW VF	391	579	767
クローン型 552	1	IGHV3 -43	IGLV3 -19	CAKDITASGD YYMDVW	204	CNSRDSSGNHL VF	392	580	768
クローン型 553	1	IGHV3 -48	IGLV3 -19	CARDRVYNWN DGAFDIW	205	CNSRDSSGNHV VF	393	581	769
クローン型 554	1	IGHV3 -23	IGLV3 -19	CAKDQRYNWN SWYFDLW	206	CNSRDSSGNHL VF	394	582	770
クローン型 555	1	IGHV3 -33	IGLV3 -10	CARDHGGVTT YNWDPW	207	CYSTDSSGNHR VF	395	583	771
クローン型 559	1	IGHV1 -2	IGLV2 -8	CARDRMVRGV LDAFDIW	208	CSSYAGSNNV F	396	584	772
クローン型 560	1	IGHV3 -48	IGLV2 -8	CVRGYSSGWY NWYFDLW	209	CSSYAGSNNLV F	397	585	773
クローン型 561	1	IGHV3 -11	IGLV7 -43	CARKVPGIAA AGAFDYW	210	CLLYYGGAQLV F	398	586	774
クローン型 562	1	IGHV7 -4-1	IGLV1 -40	CARGGYGYNF WIFDPW	211	CQSYDSSLSGS VF	399	587	775
クローン型 568	1	IGHV4 -39	IGLV3 -27	CASYWNFDYW	212	CYSAADNNLVF	400	588	776
クローン型 569	1	IGHV4 -4	IGLV3 -10	CARVLGYSYG YRRWDPW	213	CYSTDSSGNHR VF	401	589	777
クローン型 573	1	IGHV3 -15	IGLV3 -21	CTTEGSFNFY YFMDVW	214	CQVWDSTSDHY VF	402	590	778
クローン型 576	1	IGHV4 -59	IGLV2 -23	CARDPFYYDF SDYYMDVW	215	CCSYAGTISWV F	403	591	779

10

20

30

40

50

【表 4 - 8】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 577	1	IGHV3 -23	IGLV2 -23	CAKNEARDYY GSGSFDYW	216	CCSYAGSSTYV F	404	592	780
クローン型 578	1	IGHV3 -20	IGLV2 -8	CASLVGATDY YFYMDVW	217	CSSYAGSNNWV F	405	593	781
クローン型 579	1	IGHV6 -1	IGLV2 -23	CARKWELDA FDIW	218	CCSYAGSSTWV F	406	594	782
クローン型 581	1	IGHV3 -48	IGLV1 -40	CAREERDDYS NYGYFQHW	219	CQSYDSSLGSGW VF	407	595	783
クローン型 582	1	IGHV6 -1	IGLV2 -18	CARGDWNYG VLD SW	220	CSSYTSSSTYV VF	408	596	784
クローン型 583	1	IGHV1 -18	IGLV1 -40	CARSGYNWNY DYYFMDVW	221	CQSYDISLSGS VVF	409	597	785
クローン型 586	1	IGHV3 -20	IGLV3 -1	CARDGCSSTS CYGNWEDPW	222	CQAWDSSTAVF	410	598	786
クローン型 587	1	IGHV6 -1	IGLV3 -10	CARVDFGIVG AIDYW	223	CYSTDSSGKIF	411	599	787
クローン型 588	1	IGHV3 -21	IGLV3 -19	CARDRDDFW SGSPYFDYW	224	CNSRDSSGNHW VF	412	600	788
クローン型 589	1	IGHV3 -21	IGLV3 -19	CAREKYDILT GYSPYFDYW	225	CNSRDSSGNHW VF	413	601	789
クローン型 596	1	IGHV3 -15	IGLV3 -10	CTTDQVSGSY GDAFDIW	226	CYSTDSSGNHR VF	414	602	790
クローン型 598	1	IGHV3 -23	IGLV3 -19	CAKRAGSGTY YRGYFDYW	227	CNSRDSSGNHW VF	415	603	791
クローン型 599	1	IGHV3 -33	IGLV3 -19	CAGTYYYDSS GYLNYMDVW	228	CNSRDSSGNHL VF	416	604	792
クローン型 600	1	IGHV4 -39	IGLV3 -19	CASEGPFYD YW	229	CNSRDSSGNHW VF	417	605	793
クローン型 601	1	IGHV1 -18	IGLV2 -14	CARAYCGGDC YYNAFDAW	230	CSSYTSSSTVV F	418	606	794
クローン型 602	1	IGHV3 -15	IGLV2 -23	CTTDRVTIFG LARMDVW	231	CCSYAGSSTWV F	419	607	795
クローン型 607	1	IGHV3 -48	IGLV3 -19	CARDPTTIFG VVPYYMDVW	232	CYSRDSSGNHL VF	420	608	796
クローン型 608	1	IGHV3 -15	IGLV3 -21	CTTDRDYYGS GSYYFDYW	233	CQVWDSSSDHR VF	421	609	797
クローン型 610	1	IGHV4 -39	IGLV3 -19	CARED LIGND YW	234	CNSRDSSGNHL VF	422	610	798
クローン型 611	1	IGHV6 -1	IGLV3 -19	CSRDR LIVGA SYFDLW	235	CNSRDSSGNHW VF	423	611	799
クローン型 612	1	IGHV3 -20	IGLV2 -23	CAREKAPAH R SSWSWYFDLW	236	CCSYAGSSWVF	424	612	800
クローン型 613	1	IGHV1 -2	IGLV1 -40	CTREGIAAAN PGYFYMDVW	237	CQSYDGT LGGW IF	425	613	801
クローン型 616	1	IGHV1 -2	IGLV3 -19	CARCDMVRGV IDHYNYMDV W	238	CNSRDSSGNHW VF	426	614	802
クローン型 617	1	IGHV4 -61	IGLV2 -23	CVRQTYDSWT GYSEFFYFDYW	239	CCSYAGSSWVF	427	615	803

10

20

30

40

50

【表 4 - 9】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 622	1	IGHV3 -73	IGLV3 -1	CTRPMITFGG VIVYDAFDIW	240	CQAWDSSTVIF	428	616	804
クローン型 625	1	IGHV4 -34	IGLV3 -10	CARGWGSSSW YYFDYW	241	CYSTDSSGNHR VF	429	617	805
クローン型 626	1	IGHV4 -34	IGLV3 -19	CARGIFGVGG NWFDPW	242	CNSRDSSGNHL VF	430	618	806
クローン型 629	1	IGHV4 -39	IGLV2 -8	CARYSSSWSG FDYW	243	CSSYAGSNNF	431	619	807
クローン型 630	1	IGHV4 -39	IGLV3 -19	CARGGSYYVY FDYW	244	CNSRDSSGNHW VF	432	620	808
クローン型 634	1	IGHV3 -7	IGLV3 -21	CSRDTDCSST SCYFNWNPFF DYW	245	CQVWDSSSDHV VF	433	621	809
クローン型 638	1	IGHV4 -39	IGLV3 -1	CARGGYSYGL NWFDPW	246	CQAWDSSTVVF	434	622	810
クローン型 641	1	IGHV4 -39	IGLV3 -19	CARTYYDFWS GYLNWFDPW	247	CNSRDSSGNHV VF	435	623	811
クローン型 644	1	IGHV4 -34	IGLV2 -8	CARWRNYYS SGSPYWFDL W	248	CSSYAGSNNWV F	436	624	812
クローン型 646	1	IGHV4 -39	IGLV2 -14	CARQGRITMV RGVIPFDYW	249	CSSYTSSSTLV F	437	625	813
クローン型 647	1	IGHV4 -34	IGLV7 -46	CAGGYCSSTS CRYNWNYYGGW FDPW	250	CLLSYSGARVF	438	626	814

【 0 6 4 6 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 1】

表 5. 抗EPOR抗体のための完全重鎖(HC)配列および完全軽鎖(LC)配列

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
439	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSS NSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYND YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCARKGELLGAFDIWGQGTMTVTVSS	627	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY TSSSTWVFGGGTKLTVL
440	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSS NSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYND YAGSVKSRITIIIPDTSKNQLSLQLKSVTPED TAVYYCARKWELRDAFDIWGQGTMTVTVSS	628	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVSN RFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGRSTLGIDWVFGGGTKVTVL
441	EVQLVESGGSVVVRPGGSLRLSCAASGFTFDD YGMWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCAREDYGDPGWFDPGQGTTLTVTVSS	629	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPFLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TYVFGTGTKVTVL
442	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISS SSYYWGWIROPFGKLEWIGSIYYSGSTYYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCATLTGDDYWGQGTTLTVTVSS	630	SYELTQPSSSVSVSPGQTARITCSGDVLAKKY ARWFQQKPGQAPVLVIYKDSEKPSGIPERFS GSSSGTTVTLTISGAQVEDEADYYCYSAADN NLVFGGGTKLTVL
443	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDRSSSWYSFDYWGQGTTLTVTVSS	631	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHRVFGGGTKLTVL
444	EVQLVESGGGLVTPGGSLRLSCAASGFTFNN YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLPMISLRAEDTAV YYCARDGITGTTFYFDYWGQGTTLTVTVSS	632	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVDP RFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSYTWVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
445	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAWIYDGSNKYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCASIAAAGRDYWGQGLTVTVSS	633	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY AGSNNLVFGGGTKLTVL
446	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKAPELRFDYWGQGLTVTVSS	634	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY TSSSTYVFGTGKVTVL
447	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YGISWVRQAPGQGLEWMGWISPYNGNTNYAQ NLQDRVTMITDSTTTAYMELRSLRSDDTAV YYCARNHYHYMDVWGKGTITVTVSS	635	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY AGSSTYVFGGGTKLTVL
448	QVQLQQWAGALLKPESETLSLTCVYGGSFSG YYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKSSVTAADTAVY YCARGELGIGYWFYDLWGRGTLTVTVSS	636	SSELTQDPAVSVLGGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHVVFGGGTKLTVL
449	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAWIYDGSNKYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDTGITMVRGVFDYWGQGLTVTVSS	637	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYDSDRPSGIPDRFS GSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDHPVFGGGTKLTVL
450	EVQLVESGGDLVQPGGSLKLSAASGFSFSG STLHWVRQAPGKGLEWVGWIRSKPNNYATLY GASVKGRFTISRDDS KNTAYLQMNSLKIEDT AVYYCNGVYGGSSYFFDYWGQGLTVTVSS	638	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGINVG TYRIYWYQQKPGSPPPQYLLRYKSDSKQQGS GVPSRFGSGKDASANAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSAVVFGGGTKLTVL
451	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTG YGMHWVRQAPGQGLEWMGWIPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDETTIFDYWGQGLTVTVSS	639	SSELTQDPAVSVLGGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNWVFGGGTKLTVL
452	QVQLVQSGAEVTKPGASVKVSCASGYTFIN YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYSGNRNYAQ KFQDRVIMTDTFTNTAYMELRSLRSDDTAV YYCARLGCNGTSCYTSWYHYFMDVWGKGT TVTVSS	640	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPDRFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHSWVFGGGTKLTVL
453	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAWIYDGSNKYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDEYVYSGSYSDYWGQGLTVTVSS	641	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY TSSSTLVFGGGTKLTVL
454	QVQLVESGPGVLVKKPSGTLTSLTCVSGGSISS SNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKSSVTAADTAV YYCARRGAARPFYWGQGLTVTVSS	642	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGINVG TYRIYWYQQKPGSPPPQYLLRYKSDSKQQGS GVPSRFGSGKDASANAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSAYVFGGGTKLTVL
455	QITLKESGPTLVKPTQTLTCTFSGFSLST SGVGVGWIRQPPGKALEWALALIYWNDDKRY PSLKSRITITKDTSKNQVLTMTNMDPVDTA TYCAHSNNWYGYFDLWGRGTLTVTVSS	643	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPDRFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TAWVFGGGTKLTVL
456	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKKDIVATHFDYWGQGLTVTVSS	644	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPDRFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHKVFGGGTKLTVL
457	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDY AAPVKGRFTISRDDS KNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTADYDFWGSYYMDVWGKGTITVTVSS	645	SSEMTQDPAVSVLGGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHVVFGGGTKLTVL
458	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSTIYYAD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDRYNFDYWGQGLTVTVSS	646	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVDP RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY AGSSWVFGGGTKLTVL
459	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDD YGMWSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYAD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCARGGDTAMVTVFYWGQGLTVTVSS	647	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY TSSSTLVFGTGKVTVL

10

20

30

40

【表 5 - 3】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
460	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTS YWGVRQMSGKGLEWMGIIPSDSDTRYSP SFQGGQVTISADKSLSTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQINWGAIDYWGQGTLLVTVSS	648	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTFVVFVGGGTKLTVL
461	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YGISWVRQAPGQGLEWMGWISVYNGNTNYAQ KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARQITATRGFDYWGQGTLLVTVSS	649	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTFVVFVGGGTKLTVL
462	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLTCAISGDSVSS NSAAWSWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYND YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCARKWELRDTFDIWGQGTMTVTVSS	650	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTLGIDWVFGGTKLTVL
463	QVQLQQWAGALLKPSSETLTLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQPPGKGLEWIGIEINHSSTNYNPS LKSRTVISVDTSKNQFSLQLSSVTAADTAVY YCASYGDFFDYWGQGTLLVTVSS	651	LPVLTQPPSASALLGASITKLCTLSSEHSTY TIEWYQQRPGRSPQYIMKVKSDGSHSKGDGI PDRFMGSSSGADRYLTFSNLQSDDEAEYHCG ESHTIDGQVGVFVGGGTKLTVL
464	EVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARETELTVMDVWGKGTITVTVSS	652	LPVLTQPPSASALLGASITKLCTLSSEHSTY TIEWYQQRPGRSPQYIMKVKSDGSHSKGDGI PDRFMGSSSGADRYLTFSNLQSDDEAEYHCG ESHTIDGQVGVFVGGGTKLTVL
465	EVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTDDY AAPVKGRFTISRDDSNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTDWEYYDFWSGYSPYFDYWGQGTLL VTVSS	653	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSTY ASWYQQRPGQAPVLVIYKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDS GNHVVFVGGGTKLTVL
466	QVQLQESGPGGLVKPSQTLTLTCTVSGGSISS GGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYIGITYYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARAFDYWGQGTLLVTVSS	654	SYVLTQPPSVSVSPGKTARITCGGNNVGSKS VHWYQQRPGQAPVLVIYYDTRPSGIPERFS GSNSGNTATLSISRVEAGDEADYYCQVWDSR SDHVVFVGGGTKLTVL
467	QVQLQESGPGGLVKPSQTLTLTCTVSGGSISS GGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYFYSGSTYYN PSLKSRVTSISVDTSKNQFSLRLSSVTADTA VYYCVRAFDYWGQGTLLTVASS	655	SYVLTQPPSVSVSPGKTARITCGGNTFGSKT VHWYQQRPGQAPVLVIYYDSRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDLY SAHVVFVGGGTNLTVL
468	EVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTDDY AAPVKGRFTISRDDSNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTGANWGQGTLLVTVSS	656	SYELTQPPSVSVSPGQARITCSGDALPKKY AYWYQQRKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHVVFVGGGTKLTVL
469	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YDINWVRQATGQGLEWMGMNPNNGNTGYAQ KFQGRVTMTNRTSISTAYMELSSLRSEDTAV YYCARVAFDIWGQGTMTVTVSS	657	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYEVSNRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY TSSTVFVGGGTKLTVL
470	QVQLVQSGAEAKKPGASVKVSCMASGYTFTT YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTKYAQ KLQGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDDTAV YYCARQIGDYWGQGTLLVTVSS	658	QSALTQPPASVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYEVIKRPSGVDP RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSAY AGSNNVFVGGGTQLTVL
471	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCHQTGEDYWGQGTLLVTVSS	659	QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSSNIGS NTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNRPSGVPDR FSGSGSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD DSLNGWVFVGGGTKLTVL
472	EVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKSDGGTRDY AAPVKGRFTISRDDSNTLYLQMNSLKTEDT AMFYCTTGTHWGQGTLLVTVSS	660	SYELTQPPSVSVSPGQARITCSADALPKQY AYWYQQRPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTTLTLTISGVQAEDEADYYCQSADSS ATWVFVGGGTKLTVL
473	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YDINWVRQATGQGLEWMGMNPNNGNTGYAQ KFQGRVTMTNRTSISTAYMELSSLRSEDTAV YYCARRSFLDYWGQGTLLVTVSS	661	SYELTQPPSVSVSPGQARITCSGDALPKKY AYWYQQRKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFVGGGTKLTVL
474	EVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTDDY ATPVKGRFTISRADSKNTLFLQMSLKTEDT AVYFCTTGGRNWGQGTLLVTVSS	662	SYELTQPPSVSVSPGQARITCSADALPKQY AYWYQQRPGQAPVVVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTTLTLTISGVQAEDEADYYCQSLDSS GTWVFVGGGTKLTVL

10

20

30

40

【表 5 - 4】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
475	EVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARESSGFDYWGGTLVTVSS	663	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
476	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTS YDINWVRQATGQGLEWMGMNPNPNSGNTGYAQ KFPVGRVTMTNRTSISTAYMELSSLRSEDYAV YYCARGSSWFDYWGGTLVTVSS	664	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
477	EVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDY AAPVKGRTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTLNWGDYWGGTLVTVSS	665	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
478	EVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARAADAFFDIWGGTMTVTVSS	666	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
479	EVQLVSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQATGKGLEWVSAIGTAGDTYYPGS VKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVY YCARGGSDAFFDIWGGTMTVTVSS	667	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYIDVSKRPSGVSN RFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSVVFGGGTKLTVL
480	EVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCTASEFTFRN AWMIWVRQAPGKGLEWVGRISEIDGGTTDY AAPVKGRTISRDDSKNTLYLQMNSLKVEDT AVYYCTDHPYYWGHGTLVTVSS	668	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
481	EVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDF TAPVKGRTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTDHPYYWGGTLVTVSS	669	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
482	QVQLVSGGGVQPGRLRLSCAASGFTFSN YGIHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSGNEYYVD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAL YYCALAVTGFDYWGGTLVTVSS	670	QSVLTQPPSVSEAPRQRTVITCSGSSSNIGN NAVNWYQQLPKGKAPKLLIYDDLLPSGVSDR FSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD DRLNGPVFGGGTKLTVL
483	QVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSD YMSWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSIYYPD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGAFFDIWGGTMTVTVSS	671	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYIDVSKRPSGVSN RFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTLVFGGGTKLTVL
484	QIQLVQSGAEMKKPGASVKVCKASGYTFTN YGISWVRQAPGQGLEWMGWINTYNDKTNFAL KVQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDRGYSFDYWGGTLVTVSS	672	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKH ACWYQQKPGQSPMLVIYQDSKRPSGIPERFS GNSGNTATLTISGTQPMDEADYYCQAWDSS TFGGGTKLTVL
485	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTS YGISWVRQAPGQGLEWMGWI SAYNGNTNYAQ RLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLISDDTAV YYCARNHYYYLDVWVGRTTVTVSS	673	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDLAKKY ARWFQQKPGQAPVLVIYKDSERPSPGIPERFS GSSSGTTVTLTISGAQVEDEADYYCYSAADN NRVFGGGTKLTVL
486	EVQLVSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQATGKGLEWVSAIGTAGDTYYPGS VKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVY YCARVSPGTGTDYWGGTLVTVSS	674	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDLAKKY ARWFQQKPGQAPVLVIYKDSERPSPGIPERFS GSSSGTTVTLTISGAQVEDEADYYCYSAADN NLVFGGGTKLTVL
487	EVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDY AAPVKGRTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTARPLGDVWGKTTTVTVSS	675	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDLAKKY ARWFQQKPGQAPVLVIYKDSERPSPGIPERFS GSSSGTTVTLTISGAQVEDEADYYCYSAADN NYVFGTGTKVTVL
488	EVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDY AAPVKGRTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTDNGFDYWGGTLVTVSS	676	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDLAKKY ARWFQQKPGQAPVLVIYKDSERPSPGIPERFS GSSSGTTVTLTISGAQVEDEADYYCYSAADN NLVFGGGTKLTVL
489	EVQLVSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDLISSFDYWGGTLVTVSS	677	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDRLRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYHCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

【表 5 - 5】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
490	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARRIVGAFDYGQGTTLTVSS	678	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
491	QVQLIQSGTEVKKPGASVKVSCMASRYTFTS YYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGTTGYAQ KFQGRVTMTTSTSTVYMEYSLRSEDYAV YYCARGGWGMDVWGKGTTLTVSS	679	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYDSDRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDHVVFVGGGTKLTVL
492	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYSISSSSSTIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAV YYCAREGWELLDYWGQGTTLTVSS	680	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFVGGGTKLTVL
493	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGLTVST NYMSWVRQAPGKGLEWVSILYSGGGTYIYADS VKGRFTISRDNKNTLCLQMNSLRAEDTAMY YCARDNWDYFDYWGQGTTLTVSS	681	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASTGAVTS GYYPNWFQKPGQAPRALIYSTSNKHSWTPA RFSGSLGGKAALTLGQVPEDEAEYCYCLLY YGGARVFVGGGTKLTVL
494	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDD YGMWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCARTTVTHMDVWGKGTTLTVSS	682	QSALTQPPASVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPD RFSGSKSGNTASLTIVSGLQAEDEADYYCSSY AGSNNLVFVGGGTKLTVL
495	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSS NYMSWVRQAPGKGLEWVSILYSGGGTYIYADS VKGRFTISRDNKNTLCLQMNSLRAEDTAVY YCARDWNDAFDIWDGQGTMTVTVSS	683	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVS RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTWVFVGGGTKLTVL
496	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSISSSSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGDPGWFDYWGQGTTLTVSS	684	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVS RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTFWVFVGGGTKLTVL
497	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSTSYAD SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARENWNYWFDYWGQGTTLTVSS	685	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFVGGGTKLTVL
498	QVQLQESGGLVVKPSGTLSTCAVSGGSSISS NNWWSWVRQPPGKGLEWIGELIYHSGSTNYNP SLKSRVTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAI FYCARLRPGDSFDYWGGLTTLTVSS	686	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQRPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TALVFVGGGTKLTVL
499	QVHLVQSGSELKPKGASVKVSCASGYTFTR NGLNWVRQAPGQGLEWMGWINTNIGNPTIYAO GFTGRFVFLDTSVSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARSPNWGLFDYWGQGTTLTVSS	687	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TSGVFVGGGTKLTVL
500	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSISSSSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDRGATGFDYWGQGTTLTVSS	688	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFVGGGTKLTVL
501	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQ KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARESGELLGDYWGQGTTLTVSS	689	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFVGGGTKLTVL
502	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQATGKGLEWVSAIGTAGDTYYPGS VKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVY YCARYSGSYIYFDYWGQGTTLTVSS	690	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHVVFVGGGTKLTVL
503	QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYIYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGIAAAGKDYWGQGTTLTVSS	691	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHAVVFVGGGTQLTVL
504	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTS YWIWVRQMPGKGLEWMGIIYPGSDTRYSP SFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAM YYCARQDSNYVFDYWGQGTTLTVSS	692	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYDSDRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDHVVFVGGGTKLTVL

10

20

30

40

50

【表 5 - 6】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
505	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN YWMWVRQAPGKGLEWVANIKYDGREQYYVD SVKGRFAISRDNAKNSLSLQMNSLRAEDTAI YYCARDHSAWSEFDYWGQGTILVTVSS	693	QSVLTQSPSAFPGTTPGQRTTISCSSGISNLGS NTVNWYQQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSPGVPDR FSGSKSGTSASLAIISGLQFEDEADYHCATWD DSLNGRVFGGGTKLTVL
506	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARRRGSCSFYDWGQGTILVTVSS	694	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFGSKSGNTASLTIVSGLQAEDEADYYCCSY AGSNNLVFGGGTKLTVL
507	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQ KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDSYAGCFDYWGQGTILVTVSS	695	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFGSKSGNTASLTIVSGLQAEDEADYYCCSY AGSNNLVFGGGTKLTVL
508	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSSSTSYAD SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDQLVDFDYWGQGTILVTVSS	696	QSALTQFASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVSN RFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTLVFGGGTKLTVL
509	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSS NYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADS VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGAAAGDFYWGQGTILVTVSS	697	QSALTQFASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVSN RFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTLVFGGGTKLTVL
510	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDD YAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCAKDSGSYFDFYWGQGTILVTVSS	698	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFGSKSGNTASLTIVSGLQAEDEADYYCCSY AGSNNLVFVGGGTKLTVL
511	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSD YYMSWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDQLWSEFDYWGQGTILVTVSS	699	QSVLTQPPSVSGAPGQRTTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQQQLPGTAPKLLIYGNNSNRPSPGVPD RFGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DSSLSDVVFGGGTKLTVL
512	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSR NYMSWVRQAPGKGLEWVSIYAGGNTYYADS VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTGVY YCGRVPIGNWDFDPWGQGTILVTVSS	700	QSVLTQPPSVSGAPGQRTTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQQQLPGTAPKLLIYGNNSNRPSPGVPD RFGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DSSLSGWVFVGGGTKLTVL
513	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDSLWGVDFYWGQGTILVTVSS	701	QAVLTQFASLSASPGASASLTCTLRSGINVG TYRIYWYQQKPGSPPYLLRYKSDSDKQQGS GVPSRFGSGKDASANAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSAWVFVGGGTKLTVL
514	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDRLTGDLDFYWGQGTILVTVSS	702	QAVLTQFASLSASPGASASLTCTLRSGINVG TYRIYWYQQKPGSPPYLLRYKSDSDKQQGS GVPSRFGSGKDASANAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSAWVFVGGGTKLTVL
515	EVYLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGFTFSR YWMWVRQVPGKGLVWVSRINIVGSTIDYAD SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMDSLTAEDTAV YYCAREGDRSDAFAIWGQGTILVTVSS	703	SHELTQPLSVSVALGQSAMITCRGNNIGSQN VHWYHQKPGQAPVLVIYRNINRPSGIPERFS GSTSGTTATLTISRAQAGDEADYYCQVWDSS GSWVFVGGGAKLTVL
516	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARQQWLGYFDYWGQGTILVTVSS	704	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFVGGGTKLTVL
517	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSI YWMWVRQAPGKGLEWVATIKEDGSEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRADDTAV YYCARDNLFYFDYWGQGTILVTVSS	705	SSELTQDPALSVVALGQTVRITCQGDSLRSPY ASWYQQKPGQAPVLVIYKSNRPSGIPDRFS GSGSGNTASLTITGAQAEDEADFYCNSTRDS GNYLVFVGGGTKLTVL
518	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQ KLQGRVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAV YYCARGITGTSTFYWGQGTILVTVSS	706	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDSLRSPY ASWYQQKPGQAPVLVIYKSNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSTRDS GNHWVFVGGGTKLTVL
519	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YDINWVRQATGQGLEWMGMNPNSGNTGYAQ KFQGRVTMTNRTSISTAYMELSSLRSEDATAV YYCARMGYSNYPFDYWGQGTILVTVSS	707	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHVVVFVGGGTKLTVL

10

20

30

40

【表 5 - 7】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
520	QVQLVQSGSEVKKPGASVKVSKASGYTFTS YYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSSGGSTSYAQ KFQGRVTMTTDTSTSTVYMESSLRSEDYAV YYCARGIPTTVPDYPDWGQGLTVTVSS	708	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVPLVIYGNRNPSPGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
521	EVQLVSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQAPGKGLEWVSAIGTAGDTIYPGS VKGRFTISRENAKNSLYLQMNLSLRAGDTAVY YCARAGLLTGDAFDIYWGQGLTVTVSS	709	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVPLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTITSGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
522	EVQLVSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDY AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNLSLKTEDT AVYCYITGTTFFPDYWGQGLTVTVSS	710	QTVVVTQEPFSLTVSPGGTVTLTLCASSTGAVTS GYYPNWFQKPGQTPRALIYSTSNKHSWTPA RFGSGLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCYCLLY YGGAWVFGGGTKLTVL
523	EVQLVSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS HAMHWVRQAPGKGLEWVSAISSNGGNTIYYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQVGSRLRPEDMAI YYCTKGGVGSFDFYWGQGLTVTVSS	711	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQHPGKAPKLMIYEVSNRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSL TSSSTVWFGGGTKLTVL
524	EVQLVSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLRAGDTAVY YCARGLWGLYFDYWGQGLTVTVSS	712	QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSSNIGS NTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSPGVDR FSGSKSGTASALISGLQSEDEADYYCAAWD DSLNGWVFGGGTKLTVL
525	QVQLQQWAGALLKPFSETLSLTCVYGGSFSG YYWSWIRQPPGKLEWIGEINHSSTNYNPS LKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVY YCARWEQPPWQGLTVTVSS	713	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQHPGKAPKLMIYEVSKRPSGVDP RFGSGSKSGNTASLTVSLGLQAEDEADYYCSSL AGSNWVFGGGTKLTVL
526	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTS YYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSSGGSTSYAQ KFQGRVTMTTDTSTSTVYMESSLRSEDYAV YYCARRTGTTHYFDYWGQGLTVTVSS	714	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQHPGKAPKLMIYDVSKRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTLVFGGGTKLTVL
527	QVQLVSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSD YYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYAD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLRAGDTAVY YCARGLWGLYFDYWGQGLTVTVSS	715	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQHPGKAPKLMIYDVSKRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTLVFGGGTKLTVL
528	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTS YWGVRQMPGKGLEWMGIIPGDSDTTRYSP SFQGGVTSADKSI STAYLQWSSLKASDTAM YYCARGLWGLYFDYWGQGLTVTVSS	716	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQHPGKAPKLMIYEVSKRPSGVDP RFGSGSKSGNTASLTVSLGLQAEDEADYYCSSL AGSNWVFGGGTKLTVL
529	EVQLVSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYAD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLRDEDTAVY YCARGGAAAGAFDIYWGQGLTVTVSS	717	QAVLTQPASLSASPGASALTLCTLRSGINVG TYRIYWYQQKPGSPPYLLRYKSDSDKQQGS GVPSRFGSGKDASANAGILLISGLQSEDEAD YYCMIIWHSSAWVFGGGTKLTVL
530	QVQLQESGPGVLVKPSQTLTLCTVSGGSISS GGYYWSWIRQHPGKLEWIGYIFYSGSTIYN PSLKSRTVTSVDTSKKQYSLKLSVTAADTA VYYCARAEWELLWFDYWGQGLTVTVSS	718	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVPLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTITSGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
531	QITLKESGPTLVKPTQTLTLCTFSGFSLST SGVGVGWIRQPPGKALEWLALIYWNDDKRY PSLKSRLTITKDTSKNQVLTMTNMDPVDTA TYFCAHNYFYISGYFYWGQGLTVTVSS	719	SYELTHPPSVSVSPGQTARITCSADALPKQY AYWYQQKPGQAPVPLVIYKDSERPSPGIPERFS GSSSGTSTLTITSGVQAEDEADYYCQANS TVVFGGGTKLTVL
532	QVQLVSEGGGVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSLRAGDTAVY YCAKDLRLVNYMDVWGKGTITVTVSS	720	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVPLVIYQDTRPSGIPERFS GSNSGNTATLTITSGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
533	QITLKESGPTLVKPTQTLTLCTFSGFSLST SGVGVGWIRQPPGKALEWLALIYWSDDKRY PSLKNRLTITKDTSKNQVLTMTNMDPLATA TYYCAQTGYNSWFDYWGQGLTVTVSS	721	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSADALPNQY AYWYQQKPGQAPVPLVIYKDSERPSPGIPERFS GSSSGTSTLTITSGVQAEDEADYYCQADSS GTWVFGGGTKLTVL
534	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYPTFTS YGINWVRQAPGQGLEWMGIISAYNSNTNYAE KFQGRVTMTTDTSTTAYMDLRLSLRSDDTAVY YICAREDAWNYGWFDPWGQGLTVTVSS	722	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVPLVIYGNRNPSPGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

50

【表 5 - 8】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
535	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSTFG YDISWVRQAPQGGLWGMWISAYNGNTNYAQ KFQARVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCAREILWLGGYFDYWGQGTLLVTVSS	723	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLITISGAQVEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
536	QVHLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYTFSS YDMNWVRQAPQGGLWGMWINTNTGNPTYAQ GFTGREVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAV YYCAREYSSGWYFDYWGQGTLLVTVSS	724	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
537	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTG YYMHWVRQAPQGGLWGMWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELRSLRSDDTAV YYCARERIAAPPFDYWGQGTLLVTVSS	725	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLITISGAQVEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
538	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTS YDINWVRQATQGGLWGMWMPNSGNTGYAQ KFQGRVTMTRNSTISISTAYMELSSLRSEDTAV YYCARAGLDLPEYFDYWGQGTLLVTVSS	726	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLITISGAQVEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
539	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTS YDINWVRQATQGGLWGMWMPNSGNTGYAQ KFQGRVTMTRNSTISISTAYMELSSLRSEDTAV YYCARGDDYTNLFDYWGQGTLLVTVSS	727	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLITISGAQVEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
540	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVPCKASGDTFSN FAINWVRQAPQGGLWMMGGIIPIFATANYAQ NFQGRVTITADESTSAAYMEVSSLRFDFTAV YYCARTPLDIGRSLFDYWGQGTLLVTVSS	728	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQTPGQAPVLVIYDSDRPSGIPDRFS GSNSGNTATLITISRVEAGDEADYYCQVWDSN SDHWVFGGGTKLTVL
541	EVHLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGTTDF ASPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTASTVTGTDYWGQGTLLVTVSS	729	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSADALPKQY AYWYQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTIVTLTISGVQAEDADYYCQSADSS GTYPVFGGGTKLTVL
542	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSS NSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYND YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCARETEIDYWGQGTLLVTVSS	730	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
543	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFNN AWMIWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGTTDY GAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTGYRFDWFDYWGQGTLLVTVSS	731	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTS GHYPYWFQQKPGQAPRTLIYDTSNKHSTFA RFGSGLLGKKAALTLSGAQPEDEAEYYCLLS YSGARVFGGGTKLTVL
544	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGTTDY AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTASGSYWFDPWGQGTLLVTVSS	732	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPD RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGSNNLVFGGGTKLTVL
545	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKGNWNYGDAFDIYWGQGTLLVTVSS	733	QSALTQFASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGSSTYVFGTGKTVL
546	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDD YGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYAD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCARENDFWGSFDPWGQGTLLVTVSS	734	QSALTQFASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY TSSSTVFGGGTKLTVL
547	QVHLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSS NSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNG YAESVKSRTINPDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCAREDRGFDYWGQGTLLVTVSS	735	QSALTQFASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGSNNVFGGGTNLTVL
548	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDD YAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYAD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCAKRAVTDYMDVWVGKGTIVTVSS	736	QSALTQFASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPSGVSN RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGSSTFWFGGGTKLTVL
549	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSNTIYYAD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMSLRDEDTAV YYCARTSSWSYDAFDIYWGQGTIVTVSS	737	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPD RFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGSNNFVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

【表 5 - 9】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
550	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YYMHWVRQAPGQGLEWMGIIINPSGGSTSYAQ KFQGRVTMTDSTSTVYMEISSLRSEDYAV YYCARERGHVTPYFDYWGQGLVTVSS	738	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNATLTISGTQAMDEADYYCQATEVF GGGTKLTVL
551	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFNFS YNNMWVRQTPGKGLEWVSYSINTGNTIYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQNLNLRDEDTAV YYCARDGPQVGATDFDYWGQGLVTVSS	739	SYELTQPPSVSVSPGQTAKITCSGDVLAKKY ARWFQQKPGQSPVLVIYKDSKRPSGIPERFS GSSSGATVTLTISGAQVEDEADYYCYSAADN KVFGGGKLTVL
552	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFNFS AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKRKTGGTTDY AAPVKGRFTISRDDSNTLYLQMNLSKTEDT AYYCTEYSSSENFDYWGQGLVTVSS	740	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TAVFGGGKLTVL
553	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFNFS YMMHWVRQAPGKGLVWVSRIISDGSSTSYAD SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNLSRAEDTAV YYCARDLGAARERGFYWGQGLVTVSS	741	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGKLTVL
554	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFNFS YAMSWVRQAPGKGLEWVSISGSGGSTYYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAV YYCAKEGDSGYDSAFDIWGQGLVTVSS	742	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNRVFGGGKLTVL
555	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISS NNWWSWVRQPPGKGLEWIGELYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSVTAADTAV YYCARVLNWNYGDAFDIWGQGLVTVSS	743	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGKLTVL
556	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISS SNWWSWVRQPPGKGLEWIGELYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSVTAADTAV YYCARDPSIVGATAFDIWGQGLVTVSS	744	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIVDYSKRPSGVPD RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AQGVVFGGGKLTVL
557	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSIIS SNWWSWVRQSPGKGLWIGELYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSVTAADTAL YYCARSHIVGVNGGFYWGQGLVTVSS	745	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYY ASWYQQKPGQAPVLLIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGKLTVL
558	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFNFS YSMNWVRQAPGKGLEWVSISSSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAV YYCARDRYNWNRYAFDIWGQGLVTVSS	746	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGKLTVL
559	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFNFS YWMWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAV YYCARDLGRGTISWFDYWGQGLVTVSS	747	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGKLTVL
560	QITLKESGPTLVKATQTLTLCTFSGFSLNS SGVGVVWIRQPPGKALEWLALIYWGDKRYS QSLKNRLTITEDTSKNQVVLAMTNDPVDTA TYICTQGTGYDSRWSFAYWGQGLVTVSS	748	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYDSDRPSGIPERFS GSNSGNATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDHWVFGGGKLTVL
561	QQQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYIFMN YGITWVRHAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQ KVQGRVTMTDSTSTANMELRSLRSDDTAV YYCAREGQWRGRGWFALWGQGLVTVSS	749	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGKLTVL
562	QVQLVQSGSELKPGASVKVSCKASGYTFTN YAMNWRQAPGQGLEWMGWINTNTGKPTYAQ GFTGRFVFLSDTSVSTAHLQISGLKAEDTAV YYCAREYFEDFHYMDVWGKGTIVTVSS	750	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGKLTVL
563	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD NYIHWVRRAPGQGLEWMGLNPNSGGTNFAQ KFQGRVTMTDTSISSVYMLSSLRSDDTAV YYCARSSWLQLTYFDYWGQGLVTVSS	751	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSNSGNATLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLLFGGGKLTVL
564	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YYIHWVRQAPGQGLEWMGIIINPSGGSTSYAQ KFQGRVTMTDSTSTVYMEVSSLRSEDYAV YYCAREGLQLGSNWFDYWGQGLVTVSS	752	SSELTQDPGVSVVALGQTVRITCQGDSLRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIMYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCKSRDSS GNHVFGGGKLTVL

10

20

30

40

【表 5 - 1 0】

配列番号	完全 H C A A 配列	配列番号	完全 L C A A 配列
565	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSTIYYAD SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTA YYCARNDILTGEDAFDIWGQGTMTVTVSS	753	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTALTITGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
566	EVQMVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN YAMSWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGRTYYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKESIIVGATMFDYWGQGTMTVTVSS	754	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSFRNYY ASWYQQMPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
567	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKGIAALGYIMFDYWGQGTMTVTVSS	755	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
568	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKDSGYRFSN YIWGWVRQLPGKGLEWMGIIYPGDSDTTRYSP SFQGGQVTISADKSIINTAYLQWNSLKASDTAI YYCAKRRITFGSHNMFDPWGQGTMTVTVSS	756	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
569	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTS YAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQ GFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEEDTAV YYCARGGTIFGVNFDYWGQGTMTVTVSS	757	QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCASTGAVTS GYYPNWFQKPGQAPRALIYSTSNKHSWTPA RFGSGLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCLLY YGGARVFGGGTKLTVL
570	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTTFSS YVMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYFAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTGV YYCLSRSGYSAHNDGDIWGQGTMTVTVSS	758	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGV YNFVSWYQQHPGKAPKLMIVDVKRPSGASE RFGSGKSGTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTWVFGGGTKLTVL
571	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTG YYIFWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRHDDTAV YYCTKEGLVVRPDPWFDPWGQGTMTVTVSS	759	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQQLPGTAPKILIVNNNRPSGVPD RFGSGKSGTASLTISGLQAEDEADYYCQSY DSSLSGPVFGGGTKLTVL
572	QVQLQQSGPGLVKPTQTLTLTCAISGDSVSS NSAAMNWIQRSPSRGLEWLGRTYYRSKWYND YAVSVRSRITINPDTSKQVVLMTNMDPVDTA TAVYYCARKGRDVFDPWGQGTMTVTVSS	760	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIVDVSKRPSGVSN RFGSGKSGTASLTISGLQAEDETYYCCSY AGSSTYVWFGGGTKLTVL
573	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQ KLKSRRLTITKDTSKNQVVLMTNMDPVDTA YYCAREGSGSYSDAFDIWGQGTMTVTVSS	761	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSNRPSGVPD RFGSGKSGTASLTISGLQAEDEADYYCQSY DSSLSGSYVFGTGKTVL
574	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSITT SGVGVGWIRQPSGKALEWLALIWNDKRY PSLKSRRLTITKDTSKNQVVLMTNMDPVDTA TYYCTHTEYRNTWCVDYWGQGTMTVTVSS	762	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGIHVD TSRIYWFQKPGSPPPQYLLRYKSDSDKHQDS GVPSRFGSGKDASNAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSAIVFGGGTKLTVL
575	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLST SGVGVGWIRQPPGKALEWLALIWNDKRY PSLKSRRLTITKDTSKNQVVLMTNMDPVDTA TYYCAHSPYTSGWPFDPWGQGTMTVTVSS	763	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGINVG SYRIYWFQKPGSPPPQYLLRYKSDSDKQQGS GVPSRFGSGKDASNAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSASVFGGGTKTVL
576	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YDINWVRQATGQGLEWMGMNPNNGTGYAQ KFQGRVTMTTNTSISTAYMELSSLRSED TAVYYCARVSYSSWSLFDYWGQGTMTVTVSS	764	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGINVG TYRIYWFQKPGSPPPQYLLRYKSDSDKQQGS GVPSRFGSGKDASNAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSAWVFGGGTKLTVL
577	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLST SGMSLSWIRQPPGKALEWLALIDWDDQYYS TSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDTA TYYCARIRGVGALDGFDFWGQGTMTVTVSS	765	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
578	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YGISWVRQAPGQGLEWMGWISGYKNTNCAQ ELQGRVTITSDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARPLDYGDYEGWDFPWGQGTMTVTVSS	766	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
579	QVQLAQSGIEMRKPGASVKVSCRASGDTFTN CGFGWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQ KFQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCAREGRNTYFYFYMDVWGKGTMTVTVSS	767	SSELTQDPTVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 1】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
580	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDD YAMHWVRQAPGKGLEWVSGISKNSGSIYAD SVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLRVEDTAL YYCAKDITASGDYYMDVWGKGTITVTVSS	768	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYHKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
581	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSTIYFAD SVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLRDEDTAV YYCARDRVYNWNDGAFDIWGQGTMTVTVSS	769	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYHKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
582	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYAD SVKGRFTISRDNKNTMYLQMNSLRAEDTAV YYCARDRVYNWNSWYFDLWGQGTMTVTVSS	770	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYHKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
583	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDRMVGVLDADFDPWGQGTMTVTVSS	771	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEADADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
584	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTG YIMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQ KFQGRVTMTSDTISITAYMELSLRLSDDTAV YYCARDRMVGVLDADFDPWGQGTMTVTVSS	772	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPD RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDADYYCYSY AGSNNVFGGGTKLTVL
585	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSTIYAD SVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLRDEDTAV YYCVRGYSSGWYNWYFDLWGRGTMTVTVSS	773	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPD RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDADYYCYSY AGSNNVFGGGTKLTVL
586	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSD YYMSWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYAD SVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARVPGIAAAGAFDYWGQGTMTVTVSS	774	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCASTGAVTS GYYPNWFQKPGQAPRALIYSTSNKHSWTPA RFGSGLLGGKAALTLSGLVQPEDEADYYCLLY YGAQLVFGGGTKLTVL
587	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFNS YAMNWVRQAPGLGLEWMGWINTNTGNPTAYQ GFGSRVTFSLDTSVNTAYLQISLQAEDTAV YFCARGGYGYNEWIRFDPWGQGTMTVTVSS	775	QSVLTQPPSVSVGAPGQRTVITCTGSNSNIGA GYDIHWYQQLPVTAPKLLIYGNNSRPSGVPD RFGSGKSGSSASLTISGLQAEDADYYCQSY DNSLSGSVFGGGTKLTVL
588	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSIIR SSYYWVIRQPPGRGLEWIGSIYYSGSTYINP PSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTG VYYCASYWNFDYWGRGTMTVTVSS	776	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLAKEF ARWFQKPGQAPLLVIYKDSERPSGIPERFS GSNSGTVTTLTISGAQVEADADYYCYSAADN NLVFGGGTKLTVL
589	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCAVSGGSISS SFWLWVRQPPGKGLEWIGIEIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSTVTAADTAV YSCARVLGYSYGYRRWEDPWGQGTMTVTVSS	777	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEADADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
590	EVQLVESGGGLVNPFGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQPPGRGLEWVGRIKSKSDGETIDY AAPVKGRFESFRDDAENTLYLEMNSLKTEDT AVYYCTTEGSFNFFYFMDVWGKGTAVTVSS	778	SHMLTQPPSVSVAPGTTARITCGGNNFGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYDSDRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDST SDHYVFGTGTKVTVL
591	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSISS YYWSWVRQPPGKGLEWIGHIYYSGSTNYNP LKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARDPFYDFSDYYMDVWGKGTITVTVSS	779	QSALTQPASVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGA YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVSY RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGTISWVFGGGTKLTVL
592	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKNEADYYGSGSFDYWGQGTMTVTVSS	780	QSALTQPASVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVSN RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGSSTYVFGTGTKVTVL
593	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFGD FGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYAD SVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLRAEDTAL YYCASLVGATDYFFYMDVWGKGTITVTVSS	781	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPD RLSGKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGSNNVFGGGTKLTVL
594	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSS NSAANNWIRQSPSRGLEWLGRTYYSKQWYND YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCARKWELLDADFDPWGQGTMTVTVSS	782	QSALTQPASVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVSN RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGSSTWVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 2】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
595	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSTIYYAD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRDEDTA VYVCAREERDDYSNYGYFQHWGQGLTVTVSS	783	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNRNRP SGVDP RFGSGKSGTSASLITGLQAEDEADYYCQSY DSSLSGWVFGGGTKLTVL
596	QVQLQQSGPLVKPSQTLSTCAISGDSVSS NSATWNWIRQSPSRGLEWLGSRYYMSKWYND YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCARGDWNYGVLDSWGQGLTVTVSS	784	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGS YNRVSWYQQPFGTAPKLMYDVSNRPSGVDP RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSY TSSSTYVVFEGGGTKLTVL
597	QVQLVQSGAEVKKPRASVKVSCASGYTFTT YGISWVRQAPGQGLEWMGWSAYNGNTKYTQ KLQGRVAMTTDTSTSTAYMEVRSRSDDTAV YYCARSGYNWNYDYFMDVWGTGTTVTVSS	785	QSILTQPPSVSATPGQRTISCTGSDSNIGA GYDVHWYQQLPGAVPRLLIHDNIIRPSGVDP RFGSGKSDTSASLAISGLHADEADYYCQSY DISLSGSVVFGGGTKLTVL
598	EVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTFDD YGMWVRQAPGKGLEWVGINWNGGSTGYAD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCARDGCSSTSCYGNWFDWPWGQGLTVTVSS	786	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TAVFGGGTKLTVL
599	QVQLQQSGPLVKPSQTLSTCAISGDSVSS NSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYSD YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCARVDFGIVGAIDYWGQGLTVTVSS	787	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDGLSKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTATLTVSGAQVEDEADYYCYSTDSS GKIFGGGTKLTVL
600	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN YMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSTSIYYAD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDRDDFWSGYSPYFDYWGQGLTVTVSS	788	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNRP SGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
601	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSIYYAD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKRYDILTGYSYFDYWGQGLTVTVSS	789	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNRP SGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
602	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDY AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTDQVSGSYGDAFDIWGQGLTVTVSS	790	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
603	EVQMVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS HVMWVRQAPGKGLEWVVISGESSTIYYAD SVKGRFTISSDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAI YYCAKRAQSGTYIRGYFDYWGQGLTVTVSS	791	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNRP SGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
604	LVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVTLIWDGSSNTYYAE SVKGRFTISRDNKSTLYLHMNSLRAEDSAV YYCAGTYYYDSSGYLNYMDVWGKGTTVTVSS	792	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNRP SGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
605	QLQLQESGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISS SSYYWGVIQFPFGKLEWIGSIHYSGSTYYN PSLKSRTTSDVTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCAGEGPIFDYWGQGLTVTVSS	793	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNRP SGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
606	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFSS YGIWVRQAPGQGLEWMGWSISYNGNTNYAQ KEQGRVTMTTDTSTSTAHMEVKSRLSDDTAA YYCARAYCGGDCYYSNAFDAWGQGLTVTVSS	794	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYEVSNRPSGVSN RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSY TSSSTYVVFEGGGTKLTVL
607	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDY AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTDRVTIFGLARMDVWGKGTTVTVSS	795	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSN RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSY AGSSTWVFGGGTKLTVL
608	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFST YSVKWVRQAPGKGLEWVSYISSGSSTIYYAD SVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRDEDTA VYCARPTTIFGVVPPYYMDVWGTGTTVTVS S	796	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRSYY ATWYQQKPGQAPVLVIYGRNNRP SGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCYSTDSS GNHLVFGGGTKLTVL
609	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDY AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTDRDYSGSYFDYWGQGLTVTVSS	797	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPVLVIYDSDRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDHRVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 3】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
610	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSITT RSYYWGWLRQPPGKGLEWIGTFYYSNTYYN PSLQSRVTSISVDASKNQFSLQLSSVTAADTA VFYCAREDLIGNDYWGQGTTLTVTVSS	798	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
611	QVHLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSS NSAAWNIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYND YAVSVKSRITINSDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCSRDLIVGASYFDLWGRGTLTVTVSS	799	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIFYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLSVL
612	EVQLVESGGGVVPRPGGSLRLSCAASGFTFDD YGMWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCAREKAPAHRSWSWYFDLWGRGTLTVTVS S	800	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVKRPSGVS RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSWVFGGGTKLTVL
613	QVQLVHSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTG NYIHVVWRQAPGQGLEWGMWINPTSGVTNYAQ KFQGRVTLTRDTSISTAYMELSLRLSDDTAV YYCTREGIAAANPGFYFYMDVWGKTTVTVS S	801	QPVLTQPPSVSGVPGQRTISCTGSSSNIGA RYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSRPSGVPD RFGSGKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DGTLLGGWIFGGGTNLTVL
614	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTD YYMHVVWRQAPGQGLEWGMWINPNSGGTNYAQ KFQGRVMTTRDTSISTAYMELSLRLSDDTAV YFCARCDMVRGVIDHYNYMDVWGKTTVTVS SS	802	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
615	QMQLQSGSGPLMKPSETLSLTCTVSGGSISS RSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSVFYSGSTYYN PSLKSRTVISVDTSKNQFSLKVISVTAADTA VYYCVRQTYDSWTGYSFFYFDYWGGTTLTV SS	803	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVKRPSGVS RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSWVFGGGTKLTVL
616	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSG SAMHVVWRQASGKGLEWVGRIKANSYATAY AASVKGRFTISRDDSNTAYLQMNSLKTEDT AVYYCTRPMITFGGVIVYDAFDIWGGTMTVT VSS	804	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLITISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVIFGGGTKLTVL
617	QVQLQQWAGALLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVY YCARGWSSSWYFDYWGGTTLTVTVSS	805	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDNKRPSGIPERFS GSSSGMTATLITISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
618	QVQLQQWAGALLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQPPGKGLEWIGEINRSGSTNYNPS LKTRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVY YCARGIFGVGGNWFDWGGTTLTVTVSS	806	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRNYY ASWYQQKPGQAPVIVYIGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
619	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISS SSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYN PSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCARYSSWSGFDYWGGTTLTVTVSS	807	QSALTQPPASVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYEVSKRPSGVPD RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSNVFGGGTKLTVL
620	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISS SSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYN PSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCARGGSYYVFDYWGGTTLTVTVSS	808	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRITY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
621	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRS YWMWVRQAPGKGLEWVANINQDGEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLHMNSLRAEDTAV YYCSRDTDCSSTSCYFNWNPFFDYWGQGTTLV TVSS	809	SYVLTQPPSVSVAPGQTARIICGGDNIGIKN VHWYQQKPGQAPVLVIYDDSDRPSGIPERFS GSNSGNTATLITISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDHVFGGGTKLTVL
622	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSINS SNFYWGWIRQPPGKGLEWFGSIFYSGFTYYN PSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCARGYSYGLNWFDWGGTTLTVTVSS	810	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY TCWYQQKPGQSPVLVIYQDIKRPSGIPDRFS GSNSGNTATLITISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
623	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISS SSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYN PSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA	811	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 4】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	VYYCARTYYDFWSGYLNWFDPWGQGTLVTVS S		
624	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQPPGKLEWIGEINRGGSTNYNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARWRNYYDSSGSPYWFYFDLWGRGSLVTVS S	812	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCSSY AGSNNWVFGGGTKLTVL
625	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISS SGYYWGWIQSPGKLEWIGSFYYSGSTYYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARQGGRITMVRGVIPFDYWGGQTLVTVS S	813	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY TSSSTLVFGGGTKLTVL
626	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQPPGKLEWIGEINHSGSTNYNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCAGGYCSSTSCRYNWNYYGGWFDPWGQGLV TVSS	814	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS GHYPYWFQKPGQAPRTLIYDTSNKHSWTPA RFGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCLLS YSGARVFGGGTKLTVL

10

【 0 6 4 7 】

20

30

40

50

【表 6 - 1】

表 6. 抗CD131抗体のためのVH-CDR3配列およびVL-CDR3配列

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 8	10	IGHV4 -39	IGLV 2-14	CASLTGDRFD YW	815	CSSYTSSST VVF	944	1073	1202
クローン型 11	6	IGHV3 -15	IGLV 3-10	CTGRPSIAAR HFDYW	816	CYSTDSSGN HSVF	945	1074	1203
クローン型 14	6	IGHV3 -20	IGLV 1-40	CARERLTIFG VVNYMDVW	817	CQSYDSSL GWVF	946	1075	1204
クローン型 15	5	IGHV3 -48	IGLV 3-27	CARDGWYD	818	CYSAADNNR VF	947	1076	1205
クローン型 16	5	IGHV3 -13	IGLV 3-10	CARGYSGSY GDFDYW	819	CYSTDSSGN RVF	948	1077	1206
クローン型 17	5	IGHV3 -23	IGLV 1-40	CAKKPPRDSA FDYW	820	CQSYDSSL GSVF	949	1078	1207
クローン型 25	3	IGHV1 -18	IGLV 2-8	CARENSGSY WFDPW	821	CSSYAGSNN VVF	950	1079	1208
クローン型 27	3	IGHV3 -23	IGLV 2-23	CAKLEYSSPD YW	822	CCSYAGSST LVF	951	1080	1209
クローン型 36	2	IGHV4 -34	IGLV 3-19	CAREGLLVGA TLDAFDIW	823	CNSRDSSGN HLVF	952	1081	1210
クローン型 37	2	IGHV3 -33	IGLV 3-21	CARDTGITMV RGVFDYW	824	CQVWDSSSD HPVF	953	1082	1211
クローン型 44	2	IGHV1 -18	IGLV 1-44	CARDRTGISA AGPSNWFDPW	825	CAAWDDSLN GPVF	954	1083	1212
クローン型 45	2	IGHV4 -34	IGLV 2-8	CARTSLAAAD FDYW	826	CSSYAGSNN YVF	955	1084	1213
クローン型 47	2	IGHV3 -53	IGLV 1-36	CARAPDYYS GSLFDYW	827	CAAWDDRLN GPVF	956	1085	1214
クローン型 52	2	IGHV3 -21	IGLV 3-9	CASHWGHFDY W	828	CQVWDSSTV VF	957	1086	1215
クローン型 115	1	IGHV3 -13	IGLV 3-10	CARDRTLTYW	829	CYSTDSSGN HWVF	958	1087	1216
クローン型 116	1	IGHV1 -18	IGLV 2-8	CARQIGDYW	830	CSAYAGSNN VVF	959	1088	1217

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 118	1	IGHV3 -73	IGLV 3-1	CTGPFDNW	831	CQAWDSSTG VF	960	1089	1218
クローン型 119	1	IGHV3 -15	IGLV 3-25	CTTGGHYW	832	CQSADSSGT WVF	961	1090	1219
クローン型 122	1	IGHV3 -43	IGLV 3-10	CAKARSFDIW	833	CYSTDSSGN HRVF	962	1091	1220
クローン型 123	1	IGHV3 -15	IGLV 3-10	CRADMDVW	834	CYSIDSSGN HRVF	963	1092	1221
クローン型 124	1	IGHV3 -20	IGLV 3-10	CARDRGFDYW	835	CYSTDSSGN HRVF	964	1093	1222
クローン型 125	1	IGHV3 -53	IGLV 3-10	CARGGDYFDY W	836	CYSTDSSGN HRVF	965	1094	1223
クローン型 126	1	IGHV1 -18	IGLV 2-14	CARGASFDFW	837	CSSYTRSST CVF	966	1095	1224
クローン型 127	1	IGHV3 -73	IGLV 2-14	CTGPFDYW	838	CSSYTSSST WVF	967	1096	1225
クローン型 128	1	IGHV3 -53	IGLV 2-23	CARSFADFID W	839	CCSYAGSST FVVF	968	1097	1226
クローン型 130	1	IGHV3 -21	IGLV 3-27	CAGLTGELDY W	840	CYSAADNNL VF	969	1098	1227
クローン型 132	1	IGHV3 -13	IGLV 3-25	CARWGTGGFD YW	841	CQSADSSGT WVF	970	1099	1228
クローン型 133	1	IGHV3 -21	IGLV 3-10	CARREGFFDY W	842	CYSTDSSGN HRVF	971	1100	1229
クローン型 134	1	IGHV3 -7	IGLV 3-10	CARDQLAPDY W	843	CYSTDSSGN HRVF	972	1101	1230
クローン型 135	1	IGHV3 -23	IGLV 3-10	CAKDSSGFDY W	844	CYSTDSSGN HRVF	973	1102	1231
クローン型 136	1	IGHV3 -23	IGLV 3-10	CAKDPQFFDY W	845	CYSTDSSGN HRVF	974	1103	1232
クローン型 137	1	IGHV3 -23	IGLV 3-10	CAKDGTAFDI W	846	CYSTDSSGN HRVF	975	1104	1233
クローン型 138	1	IGHV3 -33	IGLV 3-9	CARDRGWGLD YW	847	CQVWDSSTG VF	976	1105	1234
クローン型 140	1	IGHV3 -30	IGLV 3-19	CARGELGDFD YW	848	CNSRDSSGN HLVF	977	1106	1235
クローン型 141	1	IGHV1 -2	IGLV 7-43	CARVLELYFD YW	849	CLLYYGGAV VF	978	1107	1236
クローン型 143	1	IGHV3 -15	IGLV 1-44	CTTRSDFQHW	850	CAAWDDSLN GWVF	979	1108	1237
クローン型 145	1	IGHV1 -8	IGLV 3-1	CARDQELRVF DYW	851	CQAWDSSTV VF	980	1109	1238
クローン型 146	1	IGHV3 -30	IGLV 3-1	CAKASGYGPF DYW	852	CQAWDSSTV VF	981	1110	1239
クローン型 147	1	IGHV5 -51	IGLV 3-1	CARHSSSSH DYW	853	CQAWDSSTV VF	982	1111	1240
クローン型 148	1	IGHV3 -21	IGLV 3-10	CARDRGNSLF DYW	854	CYSTDSSGN HRVF	983	1112	1241
クローン型 150	1	IGHV1 -2	IGLV 3-10	CARDKSLEWF DYW	855	CYSTDSSGN HRVF	984	1113	1242
クローン型 151	1	IGHV3 -13	IGLV 3-10	CARGDWNYYG FDYW	856	CYSTDSSGN HRVF	985	1114	1243

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 152	1	IGHV3 -15	IGLV 3-10	CTTAPDAFDI W	857	CYSTDSSGN HRVF	986	1115	1244
クローン型 153	1	IGHV3 -23	IGLV 3-10	CASGITGTTG DYW	858	CYSTDSSGN HRVF	987	1116	1245
クローン型 154	1	IGHV3 -23	IGLV 3-10	CAKEGAHDAF DIW	859	CYSTDSSGN HRVF	988	1117	1246
クローン型 156	1	IGHV3 -23	IGLV 3-10	CAKDKGELPF DYW	860	CYSTDSSGN HRVF	989	1118	1247
クローン型 157	1	IGHV3 -33	IGLV 3-19	CAKLGVRDYM DVW	861	CNSRDSSGN HWVF	990	1119	1248
クローン型 158	1	IGHV3 -20	IGLV 3-19	CAREGGWVF DYW	862	CNSRDSSGN HWVF	991	1120	1249
クローン型 159	1	IGHV5 -51	IGLV 3-10	CARGGGGDPF DYW	863	CYSTDSSGN HRVF	992	1121	1250
クローン型 160	1	IGHV1 -2	IGLV 2-14	CARPYNWNSF DYW	864	CSSYTTSST WVF	993	1122	1251
クローン型 161	1	IGHV3 -43	IGLV 2-14	CAKDNWNGF DYW	865	CNSYTTNTT RVF	994	1123	1252
クローン型 162	1	IGHV3 -43	IGLV 2-14	CAKDNWNYAF DIW	866	CSSYTSSST RVF	995	1124	1253
クローン型 164	1	IGHV3 -74	IGLV 5-45	CARDLDWTLF DYW	867	CMTWHSSAV VF	996	1125	1254
クローン型 165	1	IGHV3 -7	IGLV 3-1	CAGDYSNYGW FDPW	868	CQAWDSSTV F	997	1126	1255
クローン型 166	1	IGHV1 -8	IGLV 3-1	CARARDSGYY MDVW	869	CQAWDSSTV VF	998	1127	1256
クローン型 167	1	IGHV3 -33	IGLV 3-27	CARATAMVTG IDYW	870	CYSAADNNW VF	999	1128	1257
クローン型 168	1	IGHV3 -73	IGLV 3-27	CTGSSGSYFD YW	871	CYSAADNNL VF	1000	1129	1258
クローン型 169	1	IGHV3 -21	IGLV 3-10	CARSPYNWNY VDYW	872	CYSTDSSGN HRVF	1001	1130	1259
クローン型 170	1	IGHV1 -24	IGLV 3-10	CATEGPSTFS FDYW	873	CYSTDSSGN HRVF	1002	1131	1260
クローン型 171	1	IGHV1 -24	IGLV 3-19	CATANWNDEA FDIW	874	CNSRDSSGN HLVF	1003	1132	1261
クローン型 172	1	IGHV3 -48	IGLV 3-10	CARDELTGDA FDIW	875	CYSTDSSGN HRVF	1004	1133	1262
クローン型 173	1	IGHV3 -15	IGLV 3-10	CTTEALGIFD YW	876	CYSTDSSGN HRVF	1005	1134	1263
クローン型 174	1	IGHV3 -21	IGLV 7-43	CARDGSSGFL FDYW	877	CLLYYGGAW VF	1006	1135	1264
クローン型 175	1	IGHV3 -23	IGLV 2-8	CAKHYYDSRS FDYW	878	CSSYAGSNN LVF	1007	1136	1265
クローン型 176	1	IGHV4 -4	IGLV 1-40	CARDFQGTGP FDYW	879	CQSYDGSLN GWVF	1008	1137	1266
クローン型 178	1	IGHV4 -59	IGLV 3-19	CARGRLYS GS FSFDYW	880	CKSRDRSGN HWVF	1009	1138	1267
クローン型 179	1	IGHV3 -7	IGLV 3-19	CARDGGYNWN FFDYW	881	CNSRDSSGN HVVF	1010	1139	1268
クローン型 180	1	IGHV2 -5	IGLV 3-19	CTHRDAAMVY FDYW	882	CNSRDSSGN HWVF	1011	1140	1269

10

20

30

40

50

【表 6 - 4】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 181	1	IGHV1 -18	IGLV 3-10	CARWYYGSGS YFDYW	883	CYSTDSSGN HRVF	1012	1141	1270
クローン型 182	1	IGHV3 -13	IGLV 3-19	CARGWNYGSG SCFDNW	884	CNSRDISGK HWVF	1013	1142	1271
クローン型 183	1	IGHV3 -13	IGLV 3-10	CARGFSGTYY GDFDYW	885	CYSTDSSGN HWVF	1014	1143	1272
クローン型 184	1	IGHV3 -48	IGLV 3-10	CAREGEWEPL HMDVW	886	CYSTDSSGN HRVF	1015	1144	1273
クローン型 185	1	IGHV3 -23	IGLV 3-10	CAKSLSGSYV YMDVW	887	CYSTDSSGN HRVF	1016	1145	1274
クローン型 186	1	IGHV3 -30	IGLV 3-19	CAKGFEWLL GFDYW	888	CNSRDSSGN HWVF	1017	1146	1275
クローン型 187	1	IGHV3 -11	IGLV 3-21	CARDGGSSGY YSDYW	889	CQVWDSSSD HVVF	1018	1147	1276
クローン型 188	1	IGHV3 -74	IGLV 3-19	CTRDLYSSG WYDYW	890	CNSRDSSGN HWVF	1019	1148	1277
クローン型 189	1	IGHV3 -74	IGLV 3-19	CAREGIKASD AFDIW	891	CNSRDSSGS HVVF	1020	1149	1278
クローン型 190	1	IGHV3 -43	IGLV 3-10	CAKDIDPSIT GTDYW	892	CYSTDSSGN HSVVF	1021	1150	1279
クローン型 191	1	IGHV3 -11	IGLV 7-43	CAGLRHFDWL GFDSW	893	CLLYYGGAW VF	1022	1151	1280
クローン型 192	1	IGHV3 -23	IGLV 2-14	CAKEDNWNYG WFDPW	894	CSSYTSSST WVF	1023	1152	1281
クローン型 193	1	IGHV3 -13	IGLV 2-14	CAREETGTTS WYFDLW	895	CSSYTSSST LYVF	1024	1153	1282
クローン型 194	1	IGHV3 -48	IGLV 2-14	CARGYSYGYW YFDLW	896	CSSYTSSST PYVF	1025	1154	1283
クローン型 195	1	IGHV1 -24	IGLV 3-1	CATPYCSGGS CHFDYW	897	CQAWDSSTV VF	1026	1155	1284
クローン型 196	1	IGHV3 -21	IGLV 3-10	CARDDYGGNS VYFDYW	898	CYSTDSSGN HRVF	1027	1156	1285
クローン型 198	1	IGHV3 -33	IGLV 3-21	CVRAARYSGT YIFDYW	899	CQVWDSSSY HYVF	1028	1157	1286
クローン型 199	1	IGHV3 -15	IGLV 3-10	CTTDPGYSYG VDYW	900	CYSTDSSGN HRVF	1029	1158	1287
クローン型 200	1	IGHV5 -51	IGLV 3-10	CARPEYSSSS GYFQHW	901	CYSTDSSGN HRVF	1030	1159	1288
クローン型 201	1	IGHV3 -7	IGLV 7-43	CAREYNWNYE DAFDIW	902	CLLYYGGAQ VF	1031	1160	1289
クローン型 202	1	IGHV2 -5	IGLV 2-23	CAHRRGSYSN WFDPW	903	CCSYAGSST WVF	1032	1161	1290
クローン型 203	1	IGHV1 -18	IGLV 1-36	CARTLFGVVK NWFDPW	904	CAAWDGRLN EWVF	1033	1162	1291
クローン型 204	1	IGHV1 -2	IGLV 1-44	CAREVLGGGD CPFDYW	905	CAAWDDSLN GVVF	1034	1163	1292
クローン型 205	1	IGHV1 -2	IGLV 1-36	CARSDGGSHY VFFDDW	906	CTAWDDRLN GPVF	1035	1164	1293
クローン型 206	1	IGHV3 -43	IGLV 2-8	CAKDIAYSST GHFDYW	907	CSSYAGSNN LVF	1036	1165	1294
クローン型 207	1	IGHV4 -4	IGLV 1-40	CARAPLTGTT NWFDPW	908	CQSYDSSLS GWVF	1037	1166	1295

10

20

30

40

50

【表 6 - 5】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 209	1	IGHV3 -21	IGLV 3-27	CAGVLYYDSS GYPDFYW	909	CYSAADNNL VF	1038	1167	1296
クローン型 210	1	IGHV7 -4-1	IGLV 3-1	CARDPLAARP VGWFDPW	910	CQAWDSSTA VF	1039	1168	1297
クローン型 211	1	IGHV3 -21	IGLV 3-19	CAREGYSSG WNYFDYW	911	CNSRDSSGN HWVF	1040	1169	1298
クローン型 212	1	IGHV1 -24	IGLV 3-21	CATGGQTIVA ARVFDYW	912	CQVWDSSSD HVVF	1041	1170	1299
クローン型 213	1	IGHV7 -4-1	IGLV 3-19	CARDQTPSDH YYMDVW	913	CNSRDSSGN HYVF	1042	1171	1300
クローン型 214	1	IGHV1 -2	IGLV 3-19	CARDRGITMR LDNMDVW	914	CNSRDSSGN HLVF	1043	1172	1301
クローン型 215	1	IGHV3 -73	IGLV 2-23	CTRRYNWNDV GEDYW	915	CCSYAGSNT YVF	1044	1173	1302
クローン型 217	1	IGHV2 -5	IGLV 3-1	CAHRPGITGN TGYFDYW	916	CQAWDSSTV VF	1045	1174	1303
クローン型 218	1	IGHV1 -18	IGLV 3-1	CARCRYSGSL TSYYMDVW	917	CQAWDSSTV VF	1046	1175	1304
クローン型 219	1	IGHV3 -43	IGLV 3-1	CAKDMITGTT NYYYMDVW	918	CQAWDSSTV VF	1047	1176	1305
クローン型 220	1	IGHV3 -43	IGLV 3-9	CAKGGYDFWS GYPDFPW	919	CQVWDNNTF WVF	1048	1177	1306
クローン型 223	1	IGHV3 -15	IGLV 3-10	CTTEGTTVTT WAFDIW	920	CYSTDSSGN HRVF	1049	1178	1307
クローン型 225	1	IGHV6 -1	IGLV 3-10	CASSGSYSDA FDIW	921	CYSTDSSGN HRVF	1050	1179	1308
クローン型 226	1	IGHV7 -4-1	IGLV 1-44	CAKDRTGYH YYYFMDVW	922	CAAWDDSLN GWL	1051	1180	1309
クローン型 228	1	IGHV1 -18	IGLV 1-40	CARSGYNWKY DYYYMDVW	923	CQSYDSSL GSLVF	1052	1181	1310
クローン型 230	1	IGHV3 -7	IGLV 3-10	CAREGGYDFW SGLNWFDPW	924	CYSTDSSGN HRVF	1053	1182	1311
クローン型 232	1	IGHV1 -18	IGLV 3-10	CARAGGIAAA GTGYWFDPW	925	CYSTDSSGN HRVF	1054	1183	1312
クローン型 234	1	IGHV3 -15	IGLV 3-19	CTTADYDFWS GYMDVW	926	CNSRDSSGN HWVF	1055	1184	1313
クローン型 236	1	IGHV6 -1	IGLV 3-10	CARDLELRGG AFDIW	927	CYSTDSSGN HRVF	1056	1185	1314
クローン型 242	1	IGHV3 -21	IGLV 3-10	CTRGEATWG NYHCYYMDVW	928	CYSTDSSGN HRVF	1057	1186	1315
クローン型 245	1	IGHV1 -2	IGLV 3-19	CARDQITMVR GFLGDWFDPW	929	CNSRDSSGN HLVF	1058	1187	1316
クローン型 247	1	IGHV4 -39	IGLV 3-10	CARGYSYEF YW	930	CYSTDSSGN HRVF	1059	1188	1317
クローン型 248	1	IGHV6 -1	IGLV 3-21	CAREEIVGAT TAFDIW	931	CQVWDSSSD HWVF	1060	1189	1318
クローン型 249	1	IGHV6 -1	IGLV 3-10	CARDYGGNSG WYFDLW	932	CYSTDSSGN HRVF	1061	1190	1319
クローン型 251	1	IGHV4 -34	IGLV 2-14	CAREGLTGHV FDIW	933	CSSYTSSIT WVF	1062	1191	1320
クローン型 252	1	IGHV6 -1	IGLV 2-14	CARGGGSGSY DWFDPW	934	CSSYTSSIT WVF	1063	1192	1321

10

20

30

40

50

【表 6 - 6】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 255	1	IGHV3 -21	IGLV 3-19	CAREGVLCSSG GSCYREIFDY W	935	CNSRDSSGN HLVF	1064	1193	1322
クローン型 261	1	IGHV3 -15	IGLV 1-40	CSTSPYYDFW SGYYGYIDYW	936	CQSFDSLS GVVF	1065	1194	1323
クローン型 262	1	IGHV3 -15	IGLV 1-40	CSTSPYFDFW SGYYGYLDYW	937	CQSYDSSLS GVVF	1066	1195	1324
クローン型 263	1	IGHV4 -39	IGLV 5-45	CARHAAAGGW FDPW	938	CMIWHSSAV VF	1067	1196	1325
クローン型 264	1	IGHV4 -39	IGLV 3-1	CARRSSSGIG AFDIW	939	CQAWDSSTV VF	1068	1197	1326
クローン型 266	1	IGHV4 -34	IGLV 3-21	CARGRGIAAR PPYFDYW	940	CQVWDSSSD HVVF	1069	1198	1327
クローン型 269	1	IGHV4 -39	IGLV 3-10	CASEYSSSSL DAFDIW	941	CYSTDSSGN HRVF	1070	1199	1328
クローン型 270	1	IGHV4 -34	IGLV 3-1	CARGTTVVTP TEYYMDVW	942	CQAWDSSTV VF	1071	1200	1329
クローン型 272	1	IGHV1 -8	IGLV 1-40	CARRGDFWSG YYSTSQNIVI HWFDSW	943	CQSYDSSLS GSVF	1072	1201	1330

【 0 6 4 8 】

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

表 7. 抗CD131抗体のための完全重鎖(HC)配列および完全軽鎖(LC)配列

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
1073	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSS SYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CASLTGDRFDYWGGQGLVTVSS	1202	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPS GVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYTSSSTVVFEGGGTKLTVL
1074	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAA PVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTGRPSIAARHFDYWGGQGLVTVSS	1203	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHVSFVGTGKTVL
1075	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDY GMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC ARERLTIFGVVNYMDVWGKGTTVTVSS	1204	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNI GAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEAD YYCQSYDSSLSGWVFGGGTKLTVL
1076	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSTIYYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYC ARDGWDYWGGQGLVTVSS	1205	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLAK KYARWFQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIP ERFSGSSSGTTVTLTISGAQVEDEADYYC YSAADNNRVFGGGTKLTVL
1077	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSS DMHWVRQTTGKGLEWVSAIYTTGDTYYPGSVK GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCA RGYSGSYGDFDYWGQGLVTVSS	1206	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNRVFGGGTKLTVL
1078	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKKPPRDSAFDYWGQGLVTVSS	1207	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNI GAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEAD YYCQSYDSSLSGSVFGGGTKLTVL
1079	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY GISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC ARENSGSYYWFDPWGQGLVTVSS	1208	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPS GVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEAD YYCSSYAGSNNVVFEGGGTKLTVL
1080	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSV	1209	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPS

10

20

30

40

50

【表 7 - 2】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	KGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC AKLEYSSPDYWGQGT LVTVSS		GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCCSYAGSSTLVFGGGTKLTVL
1081	QVQLQQWAGALLKPS ETL SLTCAVYGGSFSGY YWSWVRQAPGKGLEWVGEI NHSGSTNYNPSLK SRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA REGLLVGATLDAFDI WGQGTMTVTVSS	1210	SSELTQDPAVSV ALGQTVRITCQGD SLRS YYASWYQQKPGQAPV LVIYGNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHLVFGTGT KVTVL
1082	QVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFSSY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDG SNKYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC ARDTGITMVRGVFDYWGQGT LVTVSS	1211	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGN NIGS KSVHWYQQKPGQAPV LVIYDSDRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYC QVWDSSSDHPVFGGGTKLTVL
1083	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSY GISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKF QGRVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDKAVFYC ARDRTGISAAGPSNWFDPWGQGT LVTVSS	1212	QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSSNI GSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADY YCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVL
1084	QVQLQQWAGALLKPS ETL SLTCAVYGGSFSGY YWSWVRQAPGKGLEWVGEI NHSGSTNYNPSLK SRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA RTSLAAADFYWGQGT LVTVSS	1213	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPS GVPDFRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEAD YYCASYAGSNNYVFGTGT KVTVL
1085	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSN YMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCA RAPDYYGSGSLFDYWGQGT LVTVSS	1214	QSVLTQPPSVSEAPRQRTVITSCSGSSSNI GNNAVNWYQQLP GKAPKLLIYDDLLPSG VSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADY YCAAWDDRLNGPVFGGGTKLTVL
1086	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSY SMNWVRQAPGKGLEWVSSISGSSSYIYSDSV KGRFTISRDN AKNSLYLQLN SLRAEDTAVYYC ASHWGHFDYWGRT LVTVSS	1215	SYELTQPLSVSV ALGQTARITCGGN NIGS KNVHWYQQKPGQAPV LVIYRDSNRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISRAGQAEDEADYYC QVWDSSSTVFGGGTKLTVL
1087	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY DMHWVRQATGKGLEWVSAIGTAGDTYYPGSVK GRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAGDTAVYYCA RDRTL DYWGQGT LVTVSS	1216	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPV LVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHWVFGGGTKLTVL
1088	QVQLVQSGAEAKPGASVKVSCMASGYTFTTY GISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTKYAQKL QGRVTMTTDTSTRTAYMELRSLRSDTAVYYC ARQIGDYWGQGT LVTVSS	1217	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPS GVPDFRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEAD YYCSAYAGSNNVFGGGTQLTVL
1089	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSVS PIHWVRQASGKGLEWVGRIKSKANSYATAYGA SVKGRFTISRDDS KNTAYLQMN SLKTEDTAVY YCTGPFDNWGQGT LVTVSS	1218	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDKLGD KYACWYQQKPGQSPV LVIYQDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTGVFGGGTKLTVL
1090	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTDTYTA PVKGRFTISRDDS KNTLYLQMN SLRTEDTAVY YCTTGGHYWGQGT LVTVSS	1219	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSADALPN QYAYWYQQKPGQAPV LVIYKDSERPSGIP ERFSGSSSGTMTLTISGVQAEDEADYYC QSADSSGTWVFGGGTKLTVL
1091	EVQLVESGGGLVQPG RSLRLSCAASGFTFDDY AMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYADSV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALYYC AKARSDI WGQGTMTVTVSS	1220	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPV LVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1092	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDA WMYWRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTDTYAA PVKGRFTISRDDS KNTLYLQMN SLKTEDTAVY YCRADMVWGKGT TVTVSS	1221	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPV LVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYC YSIDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1093	EVQLVESGGGVVQPG RSLRLSCAASGFTFDDY GMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGSGTGYADSV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALYYC ARDRGFDYWGQGT LVTVSS	1222	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPV LVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1094	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSN YMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCA RGGDYFDYWGQGT LVTVSS	1223	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPV LVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1095	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSYTFSTF GISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNDNIN YAQKL	1224	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSDRPS

10

20

30

40

50

【表 7 - 3】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	QDRVMTMTDTSTSTACMELRSLRSDDTAVYFC ARGASFDFWQGGTLVTVSS		GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYTRSSSTCVFGGGTKLTVL
1096	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGS AMHWVRQAPGKGLEWVGRIKSKANSYATAYAA SVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVY YCTGPFYDWGQGTTLVTVSS	1225	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPS GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYSSSTWVFGGGTKLTVL
1097	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSN YMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RSFADFIDWGQGTMTVTVSS	1226	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVSKRPS GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCCSYAGSSTFVVFVFGGGTKLTVL
1098	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AGLTGELDYWGQGTTLVTVSS	1227	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLA KYARWFQKPGQAPVLIYKDSERPSGIP ERFSGSSSGTTLTISGAQVEDEADYYC YSAADNNLVFGGGTKLTVL
1099	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY DMHWVRQATGKGLEWVSAIGTAGDTYYPGSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RWGTGGFDYWQGTTLVTVSS	1228	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSADALPK QYAYWYQKPGQAPVLIYKDSERPSGIP ERFSGSSSGTTLTISGVQAEDEADYYC QSADSSGTWVFGGGTKLTVL
1100	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARREGFFDYWGQGTTLVTVSS	1229	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQKSGQAPVLIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1101	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY WMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGEKYYVDSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDQLAPDYWGQGTTLVTVSS	1230	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQKSGQAPVLIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1102	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKDSSGFDYWQGTTLVTVSS	1231	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQKSGQAPVLIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1103	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKDPQFFDYWGQGTTLVTVSS	1232	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQKSGQAPVLIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1104	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKDGTAFDIWGQGTMTVTVSS	1233	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQKSGQAPVLIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1105	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTGY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDRGWGLDYWGQGTTLVTVSS	1234	SYELTQPLSVSVVALGQTARITCGGNNIGS KNVHWYQKPGQAPVLIYRDSNRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISRAQAGDEADYYC QVWDSSTGVFGGGTKLTVL
1106	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTGY GMHWVRQAPGKGLEWVTIISYDGNKYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRTEDTAVYYC ARGELGDFDYWGRGTLVTVSS	1235	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSRS YYASWYQKPGQAPVLIYGNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHVLFGGGTKLTVL
1107	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTGY YMHWRQAPGQGLEWGMWINPNSGGTNYAQKF QGRVTMTTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYC ARVLELYFDYWQGTTLVTVSS	1236	QTVVTQEPSTLVSPGGTTLTLCASSTGAV TSGYYPNWFQKPGQAPRALIYSTSNKHS WTPARFSGSLGGKAALTLSGVQPEDEAE YYCLLYYGGAVVFGGGTKLTVL
1108	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAA PVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTRSDFQHWGQGTTLVTVSS	1237	QSVLTQPPSASGTPGQRTVITCSGSSSNI GSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAIISGLQSEADY YCAAWDDSLNGWVFGGGTKLTVL
1109	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSY DINWVRQATGQGLEWGMWNPNSGNTGYAQKF QGRVTMTTRNTSISTAYMELSSLRSEDYAVYYC ARDQELRVFDYWQGTTLVTVSS	1238	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYACWYQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTVVFVFGGGTKLTVL
1110	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY GMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGNKYYADSV	1239	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYACWYQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIP

10

20

30

40

50

【表 7 - 4】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	KGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC AKASGYGPF DYWGQGLVTVSS		ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSSTVVFGGGTKLTVL
1111	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSY WIGWVRQAPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSF QGQVTSIADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYC ARHSSSSSHFDYWGQGLVTVSS	1240	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSSTVVFGGGTKLTVL
1112	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGKGLEWVSISSSSYIYYADSV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYC ARDRGN SLFDYWGQGLVTVSS	1241	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1113	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGY YMHWRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKF QGRVTMT RDTSI STAYMELSLRSDDTAVYYC ARDKSLWF DYWGQGLVTVSS	1242	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1114	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSSY DMHWVRQAPGKGLEWVSIGTADTYIPGSVK GRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAGDTAVYYCA RGDWN YGGFDYWGQGLVTVSS	1243	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1115	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVSIGTADTYIPGSVK PVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLKTEDTAVY YCTTAPDAFDI WGQGLTMTVTVSS	1244	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1116	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC ASGITGTGDYWGQGLVTVSS	1245	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1117	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC AKEGAHDAFDI WGQGLTMTVTVSS	1246	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1118	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC AKDKGELPF DYWGQGLVTVSS	1247	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1119	QVQLVQSGAEVKKPGASVQVSCASGYTFTGY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKN KYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYC AKLGRVDYMDVWGKGT VTVTVSS	1248	SSELTQDPASVVALGQTVRITCQGDLSRS YYASWYQQKPGQAPVLVIYGNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHWVFGGGTKLTVL
1120	EVQLVESGGGVVPRPGGSLRLSCAASGFTFDDY GMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYADSV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALYYC AREGGGWVFDYWGQGLVTVSS	1249	SSELTQDPASVVALGQTVRITCQGDLSRS YYASWYQQKPGQAPVLVIYGNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHWVFGGGTKLTVL
1121	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSY WIGWVRQAPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSF QGQVTSIADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYC ARGGGGDPFDYWGQGLVTVSS	1250	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1122	QVQLVQSGAEVKKPGASVQVSCASGYTFTGY YIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKF QGRVIMTRDT SISIAYIELSLRSDDTAVYYC ARPYNWN SFDYWGQGLVTVSS	1251	QSALTQPASVSGSLGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQHHPGKAPKIMIDVSNRPS GVSNRFSASKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYC SSYTTSSSTWVFGGGTKLTVL
1123	EVQLVESGGDLVLPGRSLRLSCAASGFTFDDH AIHWVRQAPGKGLEWVSGVTWNSNIIGYADSV KGRFTISRDI AKNSLYLQMN SLRPEDTALYYC AKDNDWN GFDYWGQGLVTVSS	1252	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQHHPGKAPKLMIEVSNRPS VISYRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCNSYTTNTTRVFGGGTKLTVL
1124	EVQLVESGGGLVLPGRSLRLSCAASGFTFDDY AMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYADSV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALYYC AKDNNWYAFDIWGQGLTMTVTVSS	1253	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQHHPGKAPKLMIEVSNRPS GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYC SSYTTSSSTWVFGGGTKLTVL
1125	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCTASGFTFSSY WMHWVRQAPGKGLVWVSRVNSDGGNTIYADSV	1254	QAVLTQFASLSASPGASASLTCTLRSGIY VGTYRIYWYQQKPGSP PQYLLRYKSDSDK

10

20

30

40

50

【表 7 - 5】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	KGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYC ARDLDWTLFDYWGQGLTVTVSS		QQSGSVPSRFSGSKDVSANAGILLISGLQ SEDEADYYCMTWHSSAVVFGGGTKLTVL
1126	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY WMSWVRQAPGKGLEWVAVIKQDGSEKYYVDSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC AGDYSNYGWFDPWGQGLTVTVSS	1255	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTVFGGGTKLTVL
1127	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSY DINWVRQATGQGLEWMGMNPNNGTGYAQKF QGRVTMTNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARARDSGYMDVWGKGTITVTVSS	1256	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTVFGGGTKLTVL
1128	QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTFSSY GMHWVRQAPGKGLEWVAVIKQDGSEKYYVDSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARATAMVTGIDYWGQGLTVTVSS	1257	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDLAK KYARWFQQKPGQAPVLVIYKDSKRPSGIP ERFSGSSSGTTVTLTISGAQVEADYYC YSAADNNVFGGGTKLTVL
1129	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGS AMHWVRQAPGKGLEWVGRIKSKANSYATAYAA SVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVY YCTGSSGSYFDYWGQGLTVTVSS	1258	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDLAK KYARWFQQKPGQAPVLVIYKDSKRPSGIP ERFSGSSSGTTVTLTISGAQVEADYYC YSAADNNVFGGGTKLTVL
1130	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYADSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARSPYNWYVDYWGQGLTVTVSS	1259	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTISGAQVEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1131	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTEL SMHWVRQAPGKGLEWVGFDPEDEGTIYAQKF QGRVTMTEDTSTDTAYMDLSSLRSEDTAVYYC ATEGPSTFSFDYWGQGLTVTVSS	1260	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTISGAQVEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1132	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTEL SMHWVRQAPGKGLEWVGFDPEDEGTIYAQKF QGRVTMTEDTSTDTAYMDLSSLRSEDTAVYYC ATANWNDEAFDIWGQGMVTVSS	1261	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRS YYASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNPSPGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHVLFGGGTKLTVL
1133	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSYIYYADSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYC ARDELTDGAFDIWGQGMVTVSS	1262	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTISGAQVEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1134	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTDDYAA PVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTEALGIFDYWGQGLTVTVSS	1263	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTISGAQVEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1135	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYADSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGSSGFLFDYWGQGLTVTVSS	1264	QTVVTQEPSTLTVSPGQTVTLTASSTGAV TSGYYPNWFQQKPGQAPRALIYSTSNKHS WTPARFSGSLGGAALTLGSGVQPEDEAE YYCLLYGGAWVFGGGTKLTVL
1136	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKHYDSSRSFDYWGQGLTVTVSS	1265	QSALTQPPSVASGSPGQSVTISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPS GVDPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEAD YYCSSYAGSNNLVFGGGTKLTVL
1137	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY DWWTVVRQPPGRGLEWIGEINHSGTNNNPSL KSRVTISVDKSKNQFSLKLSVTAADTAVYYC ARDFQGTGFFDYWGQGLTVTVSS	1266	QSALTQPPSVSGAPGQSVTISCTGSSSNI GAGYDVHWFQQLPGTAPKLLIYDNNRPS GVPNRFSGSKSGTSASLAITGLQADFEAD YYCQSYDGSNLGWVFGGGTKLTVL
1138	QVQLQQWAGLLKPSSETLSLCAVFGGSFSGY YWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGTNNNPSLK SRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTVYYCA RGRLYSGSFSDYWGQGLTVTVSS	1267	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRS YYASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNPSPGIP DRFSGSSSGNIASLTITGAQAEDEADYYC KSRDRSGNHVFGGGTKVTVL
1139	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY WMSWVRQAPGKGLEWVAVIKQDGSEKYYVDSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGYNWNFFDYWGQGLTVTVSS	1268	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRS YYASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNPSPGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHVLFGGGTKLTVL
1140	QITLKEGPMVLKPTQTLTLCTFSGFSLSTS GVGVGWIRQPPGKALEWLALIYWNDDKRYSPS	1269	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRS YYASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNPSPGIP

10

20

30

40

50

【表 7 - 6】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	LKSRLTITRDTSTKNQVVLTMNMDPVDATATYY CTHRDAMVYFDYWGQGLTVTVSS		DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHWVFEGGGTKLTVL
1141	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSY GISWVRQAPGGGLEWVGWISAYNGNTNYAKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDTAVYYC ARWYYGSGSYFDYWGQGLTVTVSS	1270	SYELTQPPSVSVSPGGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTIISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFEGGGTKLTVL
1142	EVQLVESGGGLVQPGGSRRLSCAASGFTFSSY DMHWVRQATPGGLEWVSAIYTTGDTYYPGSVK GRFTISRENAKNSLHLQMNSLRAGDTAVYYCA RGWNYGSGSCFDNWGQGLTVTVSS	1271	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDNLRN YSVSWCQQRPGQAPVLVIYFGKNNRPSGIP DRFSGSNSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDISGKHVVFEGGGTKLTVL
1143	EVQLVESGGGLVQPGGSRRLSCAASGFTFSSS DMHWVRQAPGGGLEWVSAIYTTGDTYYPGSVQ GRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCA RGFSGTYIGDFDYWGQGLTVTVSS	1272	SYELTQPPSVSVSPGGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTIISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHWVFEGGGTKLTVL
1144	EVQLVESGGGLVQPGGSRRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGGGLEWVSAIYSSSSSTIYYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYC AREGEWEPLHMDVWGKGTTVTVSS	1273	SYELTQPPSVSVSPGGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTIISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFEGGGTKLTVL
1145	EVQLVESGGGLVQPGGSRRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGGGLEWVSAIYSSSGSTIYYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYC AKSLSGSYVYMDVWGKGTTVTVSS	1274	SYELTQPPSVSVSPGGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTIISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFEGGGTKLTVL
1146	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY GMHWVRQAPGGGLEWVSAIYDGSNKYYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYC AKGFLEWLLGFDYWGQGLTVTVSS	1275	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSLRS YYASWYQQKPGQAPVLVIYGNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHWVFEGGGTKLTVL
1147	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDY YMSWIRQAPGGGLEWVSAIYSSSGSTIYYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYC ARDGSSSGYSDYWGQGLTVTVSS	1276	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGS KSVHWYQQKPGQAPVLVIYDSDRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTIISRVEAGDEADYYC QVWDSSSDHVVFEGGGTKLTVL
1148	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSEY WMHWVRQAPGGKGLVVARINSDGSRDYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYC TRDLVYSSGWYDYWGQGLTVTVSS	1277	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSLRS YYANWYQQKPGQAPILVIYGNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDESDDYYC NSRDSSGNHWVFEGGGTKLTVL
1149	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY WMHWVRQAPGGKGLVVRINSDGSGTSYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYC AREGKASDAFDIWGQGLTMVTVSS	1278	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDLSLRT YYASWYQQKPGQAPILVIYGNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYSC NSRDSSSGSHVVFEGGGTKLTVL
1150	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDY AMHWVRQAPGGKGLWVSGISWNSGSIYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTALYYC AKDIDPSITGTDYWGQGLTVTVSS	1279	SYELTQPPSVSVSPGGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMTLTIISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHVSVFEGGGTKLTVL
1151	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDY YMSWIRQAPGGKGLWVSYISHSGTIVYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYC AGLRHFDWLGFDSWGQGLTVTVSS	1280	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCASSTGAV TSGYYPNWFQQKPGQAPRALIYSTSNKHS WTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAE YYCLLYGGAWVFEGGGTKLTVL
1152	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMNWVRQAPGGKGLWVSIINDSGYSTIYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAGDTALYYC AKEDNWNWYGFDPWGQGLTVTVSS	1281	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKVIIEVIIIRPS GVSPRFSGSKSGKMASTISGLQAEDEAD YYCSSYTSSSTWVFEGGGTKLTVL
1153	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY DMHWVRQATPGGLEWVSAIYTAGDTYYPGSVK GRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCA REETGTTSWYFDLWGRGTLTVTVSS	1282	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPS GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYTSSSTLYVFGTGKTVTL
1154	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGGKGLWVSYISSSSSTIYADSV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYC ARGYSYGYWYFDLWGRGTLTVTVSS	1283	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPS GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYTSSSTPYVFGTGKTVTL
1155	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKVSGYTLTEL SMHWVRQAPGGKGLWVGFDPEDEGETIYAKQF	1284	SYELTQPPSVSVSPGGQTASITCSGDKLGD KYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIP

10

20

30

40

50

【表 7 - 7】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	QGRVTMTEDTSTDTAYMDLSSLRSEDATVYYC ATPYCSGGSCHFDYWGQGLTVTVSS		ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTVVFGGGTKLTVL
1156	EVQLVESGGGLVLPKPGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDDYGGNSVYFDYWGQGLTVTVSS	1285	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1157	QVQLVESGGGAVQPGRSRLSCVASGFTFSNY DMHWVRQAPGKGLEWVAVIWSGDSNKYYSDSV KGRFTISRDNASKNTLYLQMTSLSAEDSALSYC VRAARYSGTYIFDYWGQGLTVTVSS	1286	SYVLTQSPSMVAPGKTARITCGGNNIGS KSVHWYQQRPQAPVLVIYEDSDRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYC QVWDSSSYHYVFGTGKVAVL
1158	EVQLVESGGGLVLPKPGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVANIQDGSCKYYSDSV PVKGRFAISRDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTDPGYSYGVDFYWGQGLTVTVSS	1287	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1159	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSGSYSTSY WIGWVRQAPGKGLEWVNIIPGDSRTYSPSF QGQVTISADKSI STAYLQWSSSLKASDTAMYYC ARPEYSSSSGYFQHWGQGLTVTVSS	1288	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFGGGTKLTVL
1160	EVQLVESGGGLVLPKPGSLRLSCAASGFTFSSY WMSWVRQAPGKGLEWVANIQDGSCKYYSDSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC AREYNWNYEDAFDIWGQGLTVTVSS	1289	QTVVTQEPSTLVSPGGTTLTCASTGAV TSGYYPNWFQKPGQAPRALIYSTSNKHS WTPARFSGSLGGKAAALTLSGVQPEDEAE YYCLLYYGGQAVFGGGTKLTVL
1161	QITLKESGPTLVKPTQTTLTCTFSGFSLSTS GVGVGWRIRQPPGKALEWLAIIYWNDDKRYSPS LKSRLTITKDTSKNQVVLTMNDPVDATATYY CAHRRGSYSNWFDPWGQGLTVTVSS	1290	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLLIYDVSKRPS GVSNRFGSGSKGNTASLTISGLQAEDEAD YYCCSYAGSSTWVFGGGTKLTVL
1162	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFSSY GITWVRQAPGQGLEWMGSI SAYNGNTHYAQNL QGRVTMTTDTSTTTAYMDLRLSRDDTAIYYC ARTLFGVVKNWFDPWGQGLTVTVSS	1291	QSVLSQPPSVSEAPRQRTVITSCSGSSNI GNNAVNWYQKLPKAPKLLIYDVLSSG VSDRFGSGSKGTSASLAISGLQSEDEADY YCAAWDGRLEWVFGGGTKLTVL
1163	QVQLVQSGASVKVSCASGYTFTGYMMHWVRQ APGQGLEWMGWINPNSSGNTYAKFQGRVTMT RDTISI STAYMELSLRLSRDDTAVYYCAREVLGG GDCPFYWGQGLTVTVSS	1292	QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSNI GNTVNWYQQLPGTAPKLLIYNNRPSG VPDRFGSGSKGTSASLAISGLQSEDEADY YCAAWDDSLNGVFGGGTKLTVL
1164	QVQLVQSGAEVRKPVASVKVSCASGYTFTDH SIHWVRQAPGQGLEWMGSI SWNSGSI GYADSV QGRVTMTWDTYNSTAFMELSLRLSRDDTAVYYC ARSDGGSHYVFFDDWGQGLTVTVSS	1293	QSVLTQPPSVSEAPRQRTVITSCSGSISNI GNNAVSWYQQVPGKAPKLLIYDVLPSG VSDRFGSGRSVTSASLAISGLQSEDDADY YCTAWDDRLNGPVFGGGTKLTVL
1165	EVQLVESGGGLVLPKPGSLRLSCAASGFTFDDY AMHWVRQAPGKGLEWVSI SWNSGSI GYADSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC AKDIAYSSSGHFDYWGQGLTVTVSS	1294	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPGKAPKLLIYEVSKRPS GVDPDRFGSGSKGNTASLTVSLQAEDEAD YYCSSYAGSNNLVFGGGTKLTVL
1166	QVQLQESGPGILVKPSGTLSTLCVVGSGSITSS NWWSWVRQPPGKGLEWIGEIYHSGNTNYPSSL KSRVTISVDKSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYC ARAPLTGTTNWFDPWGQGLTVTVSS	1295	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITSCSGSSNI GAGYDVHWYQQLPGTGPKVLIYGNRNP GVDPDRFGSGSKGTSASLVIITGLQAEDEAD YSCQSYDSSLGWFVFGGGTKLTVL
1167	EVQLVESGGGLVLPKPGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC AGVLYYDSSGYPFYWGQGLTVTVSS	1296	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLAK KYARWFQKPGQAPVLVIYKDSERPSPGIP ERFSGSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYC YSAADNNLVFGGGTKLTVL
1168	QVQLVQSGSELKPGASVKVSCASGYTFTSY AMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGF TGRFVFLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYC ARDPLAARFVGWFDPWGQGLTVTVSS	1297	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTAVFGGGTKLTVL
1169	EVQLVESGGGLVLPKPGSLRLSCAASGFTFSSY SMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC AREDGYSSGWNFYFDYWGQGLTVTVSS	1298	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRS YYASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNPSPGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHWVFGGGTKLTVL
1170	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCVSGYTLTEL SMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAKKF	1299	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGS KSVHWYQQKPGQAPVLVIYEDSDRPSGIP

10

20

30

40

【表 7 - 8】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	QGRVTMTEDTSTDTAYMDLSSLRSED TAVYYC ATGGQTIVAARVFDYWGQGLVTVSS		ERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYC QVWDSSSDHVVFEGGKTLTVL
1171	QVQLVQSGSELKPGASVKVSCASGYTVTRH ALNWVRQAPGGGLEWMGWINTNTGTPYAQGF IGRFVETLDTSVSTAYLQINSLKAEDTAVYYC ARDQTPSDHYYYMDVWGKGTITVTVSS	1300	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLR YYASWYQQKPGQAPVLIYQGNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHYVFEGTGTVTVL
1172	LAHLVQSGAEVKRPGASVKVSCAFGYAFRGQ HIHWVRQAPGGGLEWMGWIRENSGDTNYSQKF QGRVTMTRDTSITTAYMELRLSRDSDAVYYC ARDRGITMRLDNMDVWGKGTITVTVSS	1301	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLR YYASWYQQKPGQAPVLIYQGNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHVFEGGKTLTVL
1173	EVQLVESGGTLVQPGGSLTSLCAASGFTFSDS AMHWVRQAPGKGLWVGRIKPNNTYATAYAA SVKGRFTISKDDSKNTAFLOMNSLKTEDRAVY YCTRRYNWNVGFDYWGQGLVTVSS	1302	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GAYNVVSWYQQHPGKAPKFMIDVSKRPS GVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCCSYAGSNTYVFEGTGTVTVL
1174	QITLKESGPTLVKPTQTTLTCTFSGFSLS GVGVVRQAPGKGLWVGRIKPNNTYATAYAA LKSRLTITKDTSKNQVLTMTNMDPVDATYY CAHRPGITGNTGYFDYWGQGLVTVSS	1303	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYACWYQQKPGQAPVLIYQDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTVVFEGGKTLTVL
1175	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSY GISWVRQAPGGGLEWMGWISAYNGNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELRLSRDSDAVYYC ARCRYSGLTSYYMDVWGKGTITVTVSS	1304	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYACWYQQKPGQAPVLIYQDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTVVFEGGKTLTVL
1176	EVQLVESGGGLVQPGGRSLRLSCAASGFTFDDY AMHWVRQAPGKGLWVGRIKPNNTYATAYAA KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC AKDMITGTTNYYMDVWGKGTITVTVSS	1305	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYACWYQQKPGQAPVLIYQDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTVVFEGGKTLTVL
1177	EVQLVESGGGLVQPGGRSLRLSCAASGFTFDDY AMHWVRQAPGKGLWVGRIKPNNTYATAYAA RGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYC AKGGYDFWSGYYPFDWPWGQGLVTVSS	1306	SYELTQPLSVSVALGQTARITCGENNIVN KNVHWYQQKPGQAPVLIYRDNRPSPGIP ERFSGSNSGNTATLTISRAGQAEDEADYYC QVWDNNTPWVFEGGKTLTVL
1178	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLWVGRIKSKTDGTTDYAA PVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTEGTTVTWAFDIWGQGTMTVTVSS	1307	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFEGGKTLTVL
1179	QVQLQQSGGPGVLVPSQTLSTCAISGDSVSSN SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYA VSVKSRITINPDTSKNQFSLQLSNVTPEdTAV YYCASSGSYSDAFDIWGQGTMTVTVSS	1308	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFEGGKTLTVL
1180	QVQLVQSGSELKPGASVMVSCASGYTFTTRN GINWLRQAPGGGLEWMGWIDTHTGNPTVYQGF TGRFVETLDTSVNTAYLQISSLRADTAVYYC AKDRGTGYHYHYFMDVWGKGTAVTVSS	1309	QSVLTQPPSASGAPGQRTVMTSCSGSSNI ERTAVNWYSHLPGAAPKLLIYSDNRPGLG VPDRFAGSKSGSSASLAISGLQSEDEAAY FCAAWDDSLNGWLFEGGKTLTVL
1181	QVQLVQSGTEMKKPGASVKVSCASGYTFTTY GISWVRQAPGGGLEWMGWISAYNGNTNYAQKL QARVTMTTDTSTNTAYMELRLSRDSDAVYYC ARSGYNWKYDYYMDVWGKGTITVTVSS	1310	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITCTGNSSNI GADYDVQWYQQFPGTAPKLLIYANIIRPS GVPDFRFGSKSGTSASLAITGLQAEDEAD YYCQSYDSSLSGSLVFEGGKTLTVL
1182	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY WMSWVRQAPGKGLWVGRIKQDGEKYYVDSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC AREGGYDFWSGLNWFDWPWGQGLVTVSS	1311	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFEGGKTLTVL
1183	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSY GISWVRQAPGGGLEWMGWISAYNGNTNYAQKL QGRVTMTTDTSTSTAYMELRLSRDSDAVYYC ARAGGIAAAGTGYWFDWPWGQGLVTVSS	1312	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFEGGKTLTVL
1184	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLWVGRIKSKTDGTTDYAA PVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTTADYDFWSGYMDVWGKGTITVTVSS	1313	SSEMTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLR YYASWYQQKPGQAPVLIYQGNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHVFEGGKTLTVL
1185	QVQLQQSGPGLVPSQTLSTCAISGDSVSSN SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYA	1314	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLIYEDSKRPSGIP

10

20

30

40

50

【表 7 - 9】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	VSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAV YYCARDLELRGGAFDIWGQGTMTVTVSS		ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFVGGGTKLTVL
1186	EVHLVESGGGLVVRPGGSLRLSCEVSGFTFSTY SMNWVRQAPGKGLEWVSSISSRSSYIYADSV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYC TRGEGATWGNHCHCYMDVWGKGTTVIVVSS	1315	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFVGGGTKLTVL
1187	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYSTFGY YMHVVRQAPGQGLEWVGWLNPNSSGNTYAQKF QGRVTMTWDTSTISAYMELSLRLSDDTAVYYC ARDQITMVRGFLGDWFDPWGQGTTLTVTVSS	1316	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRS YYASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHVLVFGGGTKLTVL
1188	QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSS SYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARGSYEFDYWGQGTTLTVTVSS	1317	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFVGGGTKLTVL
1189	QVQLQQSGPGLVKPQSQTLSLTCAISGDSVSSN SAAWNWRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYA VSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAV YYCARDEIVGATTAFDIWGQGTMTVTVSS	1318	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGS KSVHWYQQKPGQAPVLVIYEDSDRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYC QVWDSSSDHWVFGGGTKLTVL
1190	QVQLQQSGPGLVKPQSQTLSLTCAISGDSVSSN SAAWNWRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYA VSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAV YYCARDYGGNSGWYFDLWGRGTLTVTVSS	1319	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFVGGGTKLTVL
1191	QVQLQQWAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGH YWNWIRQPPGKGLEWIGIINHSSTYNNPSLK SRVTISVDTPKNQFSLNLSVTAADTAVYYCA REGLTGHVFDIWGQGTMTVTVSS	1320	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GVYNYVSWYQQHPTKAPKLMIEVSNRPS GVSNRFGSGSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYTSSTWVFGGGTKLTVL
1192	QVQVQQSGPGLVKPQSQTLSLTCAISGDSVSSN SAAWNWRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDFA VSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAV YYCARGGGSGSYDWFDPWGQGTTLTVTVSS	1321	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDV GGYNYVSWYQQHPTKAPKLMIEVSNRPS GVSNRFGSGSGNTASLTISGLQAEDEAD YYCSSYTSSTWVFGGGTKLTVL
1193	EVRLVESGGGLVVKPGGSLRLSCAASGFIFFSY SMTWVRQAPGKGLEWVSSISGSSSFVYGDV KGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYC AREGVLCSSGSCYREIFDYWGQVTLTVTVSS	1322	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRS YYASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYC NSRDSSGNHVLVFGGGTKLTVL
1194	EVQLVESGEGLVKPGGSLRLSCVASGFDFETNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGSIDYAA PVKGRFTISRDKSTLYLQMTSLRTEDTAVY YCSTSPYYDFWSSGYGYIDYWGQGTTLTVTVSS	1323	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITCTGSSSNI GAGYAVHWYQQFPGIAPKLLIYGNINRPS GVPDRFSGSKSDTSASLAITGLQAEDEAD YYCQSFDSLSLGVFMFGGGTKLTVL
1195	EVHLVESGGGLVVKPGGSLRLSCVASRFTFSSA WMTWVRQVPGKGLEWIGRIKTKTEGGTTEYAA PVKGRFAISRDSKKTLYLQMNLSLKTEDTAVY YCSTSPYDFWSSGYGYLDYWGQGTTLTVTVSS	1324	WAQSVLTQPPSVSGAPGQRTVITCSGSSS NIGAGYAVHWYQQLPGTVPKLLIYGNLNR PSGVPDRFSGSMSDTSVSLAITGLQAEDE ADYYCQSYDSSLSGVVFGGGTKVTVL
1196	QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSS SYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARHAAAGGFDPWGQGTTLTVTVSS	1325	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGIN VGTYRIYWYQQKPGSPQYLLRYKSDSDK QQGSGVPSRFRSGSKDASANAGILLISGLQ SEDEADYYCMIWSSAVVFGGGTKLTVL
1197	QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSS SYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARRSSSGIGAFDIWGQGTMTVTVSS	1326	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTVVFGGGTKLTVL
1198	QVQLQQWAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGY YWSWIRQPPGKGLEWIGIINHSSTYNNPSLK SRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA RGRGIAARPPYFDYWGGQGTTLTVTVSS	1327	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGS KSVHWYQQKPGQAPVLVIYEDSDRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYC QVWDSSSDHVFGGGTKLTVL
1199	QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSS SYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYSGSTYYNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CASEYSSSSLDADFIDWGQGTMTVTVSS	1328	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPK KYAYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIP ERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYC YSTDSSGNHRVFVGGGTKLTVL
1200	QVQLQQWAGLLKPSSETLSLTCAVYGGSFSGY YWSWIRQPPGKGLEWIGIINHSSTYNNPSLK	1329	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGD KYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIP

10

20

30

40

【表 7 - 10】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	SRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA RGTTVVTPTEYYMDVWGKGTTVTVTVSS		ERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC QAWDSSTVVFGGGTKLTVL
1201	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSY DINWVRQATGQGLEWVGWLNPNKNGYTGYSKHF QGRVTMTNRNTSISTAYMELSSLRSEDAVYFC ARRGDFWSSGYSTSQNIVIHWFDSWGLGTLVT VSS	1330	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITCTGSSSNI GAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNINRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEAD YYCQSYDSSLSGSVFGGGTKLTVL

50

【 0 6 4 9 】

【 表 8 - 1 】

表 8. EPOR/CD131 結合剤のための VH-CDR3 配列および VL-CDR3 配列

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 7	17	IGHV1 -8	IGLV 3-1	CARWGRGFDPW	1331	CQAWDSS TAVF	1467	1603	1739
クローン型 9	10	IGHV1 -69D	IGLV 2-23	CARERLELRWF DPW	1332	CCSYAGS STWVF	1468	1604	1740
クローン型 14	8	IGHV4 -39	IGLV 2-23	CARQTDYWFD W	1333	CCSYAGS STLVF	1469	1605	1741
クローン型 15	6	IGHV3 -21	IGLV 2-14	CAREGGIAVAG FDYW	1334	CSSYTSS STLVF	1470	1606	1742
クローン型 17	5	IGHV3 -13	IGLV 3-9	CARDSSSWYED AFDIW	1335	CQVWDSS TVVF	1471	1607	1743
クローン型 19	5	IGHV3 -11	IGLV 2-14	CAREETMVRGV IAYW	1336	CSSYTSS STVVF	1472	1608	1744
クローン型 22	4	IGHV3 -21	IGLV 3-10	CARDWGSFDLW	1337	CYSTDSS GNHWVF	1473	1609	1745
クローン型 29	4	IGHV3 -53	IGLV 2-8	CARDGGEYSSS YFDYW	1338	CSSYAGS NNVVF	1474	1610	1746
クローン型 32	4	IGHV4 -39	IGLV 4-3	CARHDPSPFDYW	1339	CGESHTI DGQVG VVF	1475	1611	1747
クローン型 38	3	IGHV1 -18	IGLV 3-21	CARERSNWDFD YW	1340	CQVWDSS SDHRVF	1476	1612	1748
クローン型 42	2	IGHV3 -7	IGLV 3-1	CARDGGVIRGVI TYFDYW	1341	CQAWDSS NVVF	1477	1613	1749
クローン型 43	2	IGHV1 -8	IGLV 3-1	CARGRGSSWYW YFDLW	1342	CQAWDSS TAVF	1478	1614	1750
クローン型 44	2	IGHV3 -13	IGLV 3-9	CARGSSSAFD IW	1343	CQVWDSS TWVF	1479	1615	1751
クローン型 45	2	IGHV3 -21	IGLV 3-27	CARDGGIAAAG TDYW	1344	CYSAADN NLVF	1480	1616	1752
クローン型 56	2	IGHV3 -21	IGLV 3-10	CARADSLTGGF FDYW	1345	CYSTDSS GNHSWVF	1481	1617	1753
クローン型 57	2	IGHV7 -4-1	IGLV 7-46	CAERGWNIDYW	1346	CLLSYSG AWVF	1482	1618	1754
クローン型 65	2	IGHV3 -53	IGLV 2-14	CARDSTTVTLF DYW	1347	CSSYTSS STYVF	1483	1619	1755
クローン型 68	2	IGHV3 -21	IGLV 2-8	CARGIAVAGPH AFDIW	1348	CSSYAGS NNEVVF	1484	1620	1756
クローン型 70	2	IGHV3 -53	IGLV 1-40	CARGYSGSYAY W	1349	CQSYDSS LSGYVF	1485	1621	1757

10

20

30

40

【表 8 - 2】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 72	2	IGHV6 -1	IGLV 2-23	CARKWELRDAF DIW	1350	CCSYAGR STLGIDW VF	1486	1622	1758
クローン型 74	2	IGHV5 -51	IGLV 3-21	CAKRRMTGSHS WFDPW	1351	CQVWDNG SDHVVF	1487	1623	1759
クローン型 215	1	IGHV3 -74	IGLV 2-14	CARIDYW	1352	CSSYTSS STWVF	1488	1624	1760
クローン型 216	1	IGHV3 -7	IGLV 3-10	CARDGGTP	1353	CYSTDSS GNHRVF	1489	1625	1761
クローン型 219	1	IGHV4 -59	IGLV 3-27	CAIVGARFDYW	1354	CYSAADN NLVF	1490	1626	1762
クローン型 221	1	IGHV3 -15	IGLV 3-25	CTTGGTHW	1355	CQSADSS GTWVF	1491	1627	1763
クローン型 223	1	IGHV3 -15	IGLV 3-25	CTTGGYRW	1356	CQSADSS GTNWVF	1492	1628	1764
クローン型 224	1	IGHV3 -15	IGLV 3-10	CTDLYYW	1357	CYSTDSS GNHRVF	1493	1629	1765
クローン型 225	1	IGHV1 -18	IGLV 2-14	CARGWYFDYW	1358	CSSYTSS STLVF	1494	1630	1766
クローン型 226	1	IGHV3 -23	IGLV 2-14	CAKRVFFDYW	1359	CSSYTIS STWVF	1495	1631	1767
クローン型 228	1	IGHV3 -13	IGLV 3-10	CARDLGRVFDY W	1360	CYSTDSS GNHRVF	1496	1632	1768
クローン型 229	1	IGHV3 -7	IGLV 2-14	CATDLNWNNGYW	1361	CSSYTRS RTWVF	1497	1633	1769
クローン型 230	1	IGHV3 -13	IGLV 5-45	CATGYNWNPDY W	1362	CMIWHSS ASVF	1498	1634	1770
クローン型 231	1	IGHV3 -33	IGLV 3-27	CARDRSSSSDY W	1363	CYSAADN NRVF	1499	1635	1771
クローン型 232	1	IGHV3 -74	IGLV 3-27	CAGITGTDFDY W	1364	CYSAADN NLVF	1500	1636	1772
クローン型 233	1	IGHV3 -43	IGLV 3-10	CAKDSGYSPDY W	1365	CYSTDSS GKGVF	1501	1637	1773
クローン型 234	1	IGHV1 -18	IGLV 3-10	CARDRPYYFDY W	1366	CYSTDSS GNHRVF	1502	1638	1774
クローン型 235	1	IGHV1 -46	IGLV 3-19	CARGGWGTMDV	1367	CNSRDSS GNHYVF	1503	1639	1775
クローン型 236	1	IGHV3 -13	IGLV 3-19	CARAWELDAFD IW	1368	CNSRDSS GNHVVF	1504	1640	1776
クローン型 237	1	IGHV3 -23	IGLV 3-10	CAKDNWNYFDY W	1369	CYSTDSS GNHRVF	1505	1641	1777
クローン型 238	1	IGHV3 -33	IGLV 3-10	CARVYNWIFDY W	1370	CYSTDSS GNHRVF	1506	1642	1778
クローン型 239	1	IGHV3 -21	IGLV 2-23	CARITVVSFDY W	1371	CCSYAGS STWVF	1507	1643	1779
クローン型 240	1	IGHV3 -23	IGLV 2-8	CAKAAAGKGDY W	1372	CSSYSGS NNYVF	1508	1644	1780
クローン型 241	1	IGHV1 -46	IGLV 2-14	CARGDWGTMDV W	1373	CTSYTRN NTYVF	1509	1645	1781
クローン型 242	1	IGHV3 -7	IGLV 1-40	CARDGTGWFDY W	1374	CQSYDSS LSGWVF	1510	1646	1782

10

20

30

40

50

【表 8 - 3】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 243	1	IGHV1 -18	IGLV 2-23	CARRGTVVFDY W	1375	CCSYAGS STYVVF	1511	1647	1783
クローン型 244	1	IGHV1 -18	IGLV 2-23	CARPLSGTLDN W	1376	CCSYAGR STLGIDW VF	1512	1648	1784
クローン型 246	1	IGHV3 -48	IGLV 3-19	CARESTIAALFD YW	1377	CNSRDSS GNHLVF	1513	1649	1785
クローン型 247	1	IGHV3 -13	IGLV 3-16	CARGDHSYGGL DYW	1378	CLSADSS GTYRVF	1514	1650	1786
クローン型 249	1	IGHV1 -8	IGLV 2-14	CARGDWAWSFD LW	1379	CSSYTSS SSLVF	1515	1651	1787
クローン型 250	1	IGHV1 -46	IGLV 2-14	CARGLRRDWFD PW	1380	CSSYTSS STWVF	1516	1652	1788
クローン型 251	1	IGHV3 -15	IGLV 2-11	CTTGTGRSDYW	1381	CCSYSGS YTYVF	1517	1653	1789
クローン型 252	1	IGHV3 -33	IGLV 2-14	CVRGGVGDGFD MW	1382	CISYTNT NTRVF	1518	1654	1790
クローン型 253	1	IGHV3 -33	IGLV 2-14	CASVGSYGYPQ HW	1383	CSSYTSS STWVF	1519	1655	1791
クローン型 254	1	IGHV3 -20	IGLV 2-8	CARKGNWNSFD YW	1384	CSSYAGS NNWVF	1520	1656	1792
クローン型 255	1	IGHV3 -21	IGLV 2-8	CARDSAYYTFD YW	1385	CSSYAGS NNFWVF	1521	1657	1793
クローン型 256	1	IGHV3 -23	IGLV 2-14	CGSGWYEGAFD YW	1386	CSSYTSS STYWVF	1522	1658	1794
クローン型 259	1	IGHV3 -13	IGLV 3-1	CARDRDSSHDA FDIW	1387	CQAWDSS TVVF	1523	1659	1795
クローン型 260	1	IGHV3 -20	IGLV 3-27	CVRDEIWNYF DYW	1388	CYSAADN NRVF	1524	1660	1796
クローン型 262	1	IGHV3 -21	IGLV 3-10	CARDSYDFHAF DIW	1389	CYSTDSS GNHRVF	1525	1661	1797
クローン型 264	1	IGHV3 -74	IGLV 3-19	CARVGWGGHAF DIW	1390	CNSRDSS GNHVVF	1526	1662	1798
クローン型 265	1	IGHV3 -21	IGLV 2-14	CARGYNWNYVG DYW	1391	CSSYTSS STLVF	1527	1663	1799
クローン型 266	1	IGHV3 -23	IGLV 1-40	CAKDANWGYAF DIW	1392	CQSYDSS LSGSVF	1528	1664	1800
クローン型 270	1	IGHV1 -18	IGLV 3-1	CARRFIWNYGD FDYW	1393	CQAWDSS TVVF	1529	1665	1801
クローン型 271	1	IGHV3 -48	IGLV 3-1	CARGRLGIEDY FDYW	1394	CQAWDSS TVVF	1530	1666	1802
クローン型 272	1	IGHV3 -48	IGLV 3-19	CARECYSSSWA FDYW	1395	CNSRDSS GWVF	1531	1667	1803
クローン型 273	1	IGHV4 -4	IGLV 3-1	CARDVGVDGRG FDYW	1396	CQAWDST TAWVF	1532	1668	1804
クローン型 274	1	IGHV3 -7	IGLV 3-19	CARDILWSGGY LDVW	1397	CYSRDSS GSLWIF	1533	1669	1805
クローン型 275	1	IGHV3 -7	IGLV 3-19	CARKQLWLNWY FDFW	1398	CNSRDSS GNHLVF	1534	1670	1806
クローン型 276	1	IGHV1 -18	IGLV 3-19	CARENWNYGW FDPW	1399	CNSRDSS GNHYVF	1535	1671	1807

10

20

30

40

50

【表 8 - 4】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 277	1	IGHV3 -13	IGLV 3-10	CAREGYGDYPL PMDVW	1400	CYSTDSS GNHRVF	1536	1672	1808
クローン型 278	1	IGHV3 -15	IGLV 3-10	CTTDNWNsyFD YW	1401	CYSTDSS GNHRVF	1537	1673	1809
クローン型 279	1	IGHV3 -23	IGLV 3-10	CAGNSGYDSPY FDYW	1402	CYSTDSS GNHRVF	1538	1674	1810
クローン型 280	1	IGHV3 -33	IGLV 3-10	CAREYSSSSDW FDPW	1403	CYSTDSS GNHRVF	1539	1675	1811
クローン型 281	1	IGHV3 -21	IGLV 2-11	CARDGGITGRY FDLW	1404	CCSYAGS YTWVF	1540	1676	1812
クローン型 282	1	IGHV3 -21	IGLV 2-23	CAREGNWGPYY FDYW	1405	CCSYAGS STVVF	1541	1677	1813
クローン型 283	1	IGHV1 -2	IGLV 2-8	CARGVWSGYT FDPW	1406	CSSYAGS NNWVF	1542	1678	1814
クローン型 284	1	IGHV3 -15	IGLV 2-14	CTPHSSSPVFD YW	1407	CSSYTSS SHVVF	1543	1679	1815
クローン型 286	1	IGHV1 -2	IGLV 3-1	CARDDTGTGG YFQHW	1408	CQAWDSS TVVF	1544	1680	1816
クローン型 287	1	IGHV1 -8	IGLV 3-1	CARAVAVAGTG WFDPW	1409	CQAWDSS TVVF	1545	1681	1817
クローン型 288	1	IGHV3 -15	IGLV 3-27	CTTNYGDYVGF DYW	1410	CYSAADN NLVF	1546	1682	1818
クローン型 289	1	IGHV3 -7	IGLV 3-10	CAREIDWNYGF HFDYW	1411	CFSTDSS GNKVF	1547	1683	1819
クローン型 290	1	IGHV1 -8	IGLV 3-10	CARGYDFWGS PFDYW	1412	CYSTDSS GNRVF	1548	1684	1820
クローン型 291	1	IGHV3 -33	IGLV 3-10	CARDSKWELLN WFDPW	1413	CYSTDSS GNRVF	1549	1685	1821
クローン型 292	1	IGHV4 -59	IGLV 3-19	CARGRHFDWLL SYFDYW	1414	CNSRDSS GNHYVF	1550	1686	1822
クローン型 293	1	IGHV3 -21	IGLV 3-19	CARDRAIVGAT WFDPWGQGTIV IV	1415	CNSRDSS YNHWVF	1551	1687	1823
クローン型 294	1	IGHV3 -21	IGLV 3-19	CARDRYNWNRY YFDLW	1416	CNSRDSS GNHLVF	1552	1688	1824
クローン型 295	1	IGHV3 -21	IGLV 3-10	CARDSHDYGDS YFDYW	1417	CYSTDSS GNHRVF	1553	1689	1825
クローン型 296	1	IGHV1 -18	IGLV 3-19	CARDGAARPPR YMDVW	1418	CNSRDSS GNHLVF	1554	1690	1826
クローン型 297	1	IGHV1 -2	IGLV 3-19	CARSDSGSHYV FFDDW	1419	CNSRDSS GNHWVF	1555	1691	1827
クローン型 298	1	IGHV1 -2	IGLV 3-19	CARDLDYYGSG NYDYW	1420	CNSRDSS DNHRVF	1556	1692	1828
クローン型 300	1	IGHV3 -74	IGLV 3-19	CARNRDYHGSG SFDYW	1421	CNSRDSS GNHWVF	1557	1693	1829
クローン型 301	1	IGHV6 -1	IGLV 3-19	CARDWNFAFDI W	1422	CNSRDSS GNHLVF	1558	1694	1830
クローン型 302	1	IGHV1 -18	IGLV 1-36	CARTIFGVVNN WFDPW	1423	CAAWDAR LNGWVF	1559	1695	1831
クローン型 303	1	IGHV1 -2	IGLV 2-11	CARDGEQLALN WFDPW	1424	CCSYAGS YTWVF	1560	1696	1832

10

20

30

40

50

【表 8 - 5】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 304	1	IGHV3 -21	IGLV 1-40	CARETPVTLFD AFDIW	1425	CQSYDSS LSGSVF	1561	1697	1833
クローン型 305	1	IGHV3 -43	IGLV 1-40	CAKDIFTGRAG YFDYW	1426	CQSYDSS LSGWVF	1562	1698	1834
クローン型 306	1	IGHV3 -33	IGLV 1-40	CARAITGTTGN WFDPW	1427	CQSYDSS LSGWVF	1563	1699	1835
クローン型 307	1	IGHV2 -5	IGLV 5-45	CTHTEYGSSWS VDYW	1428	CMIWHSS AVVF	1564	1700	1836
クローン型 308	1	IGHV3 -20	IGLV 5-45	CARHFDWLLSN AFDIW	1429	CMIWHSS ASVVF	1565	1701	1837
クローン型 309	1	IGHV1 -8	IGLV 3-1	CVRRITVVRGV ISLDYW	1430	CQAWDSS TAVF	1566	1702	1838
クローン型 310	1	IGHV3 -21	IGLV 3-10	CARETYYYDSS GYFDYW	1431	CYSTDSS GNHRVF	1567	1703	1839
クローン型 316	1	IGHV3 -7	IGLV 3-19	CARDDTIFGVV TDAFDIW	1432	CNSRDSS GNLF	1568	1704	1840
クローン型 318	1	IGHV6 -1	IGLV 3-1	CARGVGARGWF DPW	1433	CQAWDSS TAVF	1569	1705	1841
クローン型 319	1	IGHV3 -21	IGLV 3-19	CARDPPLSGSY AGEFDYW	1434	CNSRDSS GNHWVF	1570	1706	1842
クローン型 320	1	IGHV2 -70	IGLV 3-10	CARRRGYSYGW GDFDYW	1435	CYSTDSS GNHRVF	1571	1707	1843
クローン型 322	1	IGHV3 -48	IGLV 3-10	CARGGLLNWNY EGWFDPW	1436	CYSTDSS GNHRVF	1572	1708	1844
クローン型 323	1	IGHV3 -11	IGLV 3-10	CARDGGIAARP DWYFDLW	1437	CYSTDSS GNHRVF	1573	1709	1845
クローン型 326	1	IGHV3 -48	IGLV 1-40	CARTYYGSGS YITLDYW	1438	CQSYDSS LSGVVF	1574	1710	1846
クローン型 327	1	IGHV1 -8	IGLV 5-45	CARGGITIFGV VTPFDYW	1439	CMIWHSS AWVF	1575	1711	1847
クローン型 328	1	IGHV4 -30-4	IGLV 3-1	CARDALHYYGS GSAFDYW	1440	CQAWDSS TVVF	1576	1712	1848
クローン型 333	1	IGHV3 -7	IGLV 3-19	CAREGVLWFGE FYYYMDVW	1441	CNSRDSS GNHLVF	1577	1713	1849
クローン型 339	1	IGHV3 -48	IGLV 3-10	CARDGDYYDSS GYYHFDYW	1442	CYSTDSS GNHRVF	1578	1714	1850
クローン型 340	1	IGHV3 -23	IGLV 3-10	CAKDRGGENWN YGGWFDPW	1443	CYSTDSS GNHRVF	1579	1715	1851
クローン型 341	1	IGHV3 -33	IGLV 3-21	CAGAYYYDSSG YLNMYDVW	1444	CQVWDSS SDHPVF	1580	1716	1852
クローン型 342	1	IGHV3 -15	IGLV 1-44	CTTDHIEYSSL YYFDYW	1445	CSSYAGS NNFVF	1581	1717	1853
クローン型 343	1	IGHV1 -18	IGLV 2-8	CARQLAYCGGD CYLYFDYW	1446	CSSYAGS NNLVF	1582	1718	1854
クローン型 345	1	IGHV6 -1	IGLV 2-8	CAREAYWNYGG FDYW	1447	CSSYAGS NNFGVF	1583	1719	1855
クローン型 349	1	IGHV3 -21	IGLV 3-1	CARDGRITMVR GVRNWFDPW	1448	CQAWDSS TVVF	1584	1720	1856
クローン型 350	1	IGHV3 -48	IGLV 3-1	CARMSSQLELH YCYMYDVW	1449	CQAWDSS TVVF	1585	1721	1857
クローン型 351	1	IGHV3 -15	IGLV 3-1	CTDLGYSGYD WGAFDYW	1450	CQAWDSS TVVF	1586	1722	1858

10

20

30

40

50

【表 8 - 6】

クローン型 _id	頻度	VH 遺伝子	VL 遺伝子	VH-CDR3 AA	配列 番号	VL-CDR3 AA	配列 番号	完全 HC AA 配列 配列番号	完全 LC AA 配列 配列番号
クローン型 352	1	IGHV6 -1	IGLV 3-1	CARDRVNWNDV GFDYW	1451	CQAWDSS TVVF	1587	1723	1859
クローン型 356	1	IGHV3 -7	IGLV 3-10	CARTPGYSSSW YEGPYFDYW	1452	CYSTDSS GNHVVF	1588	1724	1860
クローン型 358	1	IGHV4 -39	IGLV 3-10	CAREDLIGNDY W	1453	CYSTDSS GNHRVF	1589	1725	1861
クローン型 359	1	IGHV4 -39	IGLV 1-44	CAREDLIGNDY W	1454	CAAWDDS LKVF	1590	1726	1862
クローン型 360	1	IGHV4 -34	IGLV 7-43	CAREGLTGHVF DIW	1455	CLLYYGG AQVF	1591	1727	1863
クローン型 361	1	IGHV4 -34	IGLV 2-23	CAREGLTGHTF DIW	1456	CCSYAGS STVVF	1592	1728	1864
クローン型 363	1	IGHV1 -18	IGLV 3-27	CARGVWGSYRS HSYYTFMDVW	1457	CFSAADN TSVF	1593	1729	1865
クローン型 364	1	IGHV3 -21	IGLV 3-19	CARDYRPYYDI LTGYSHFDYW	1458	CNSRDSS GNHVVF	1594	1730	1866
クローン型 365	1	IGHV1 -46	IGLV 3-10	CARRVLWFGEL RDYFYMDVW	1459	CYSTDSS GNHVVF	1595	1731	1867
クローン型 366	1	IGHV4 -30-4	IGLV 2-8	CVRQGYDSWTG YSFFYFDYW	1460	CSSYAGS NNLVF	1596	1732	1868
クローン型 367	1	IGHV4 -34	IGLV 1-44	CARGGGYSFGG FDYW	1461	CTSWDDS LNTWVF	1597	1733	1869
クローン型 368	1	IGHV4 -39	IGLV 3-9	CARQNWGSDAF DIW	1462	CQVWDSS TAVF	1598	1734	1870
クローン型 369	1	IGHV4 -34	IGLV 3-19	CARGELGIGYW YFDLW	1463	CNSRDSS GNHVVF	1599	1735	1871
クローン型 370	1	IGHV4 -34	IGLV 3-10	CAREGGTTHEP LFDYW	1464	CYSTDSS GNHRVF	1600	1736	1872
クローン型 379	1	IGHV1 -18	IGLV 2-23	CARAPGGSCGS TNCYKWNYPY YFDYW	1465	CCSYAGS STLVF	1601	1737	1873
クローン型 380	1	IGHV1 -18	IGLV 2-23	CARAPGGDCSS TSCYKWNYPY YFDYW	1466	CCSYAGS STLVF	1602	1738	1874

【 0 6 5 0 】

10

20

30

40

50

【表 9 - 1】

表9. EPOR/CD131 結合剤のための完全重鎖(HC)配列および完全軽鎖(LC)配列

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
1603	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YDINWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQ KFQGRVTMTNRTSISTAYMELSSLRSEDYAV YYCARWGRGFDPWGQGTLVTVSS	1739	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TAVFGGGTKLTVL
1604	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSS YAIHWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQ KFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDYAV YYCARERLELRWFDYPWGQGTLVTVSS	1740	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSN RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGSSTWVFGGGTKLTVL
1605	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISS SSYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYSGSTYYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARQTDYWFDPWGQGTLVTVSS	1741	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSN RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDADYYCCSY AGSSTLVFGGGTKLTVL
1606	EVQLVESGGGLVFRPGGSLRLSCAASGFTFSS YSIHWVRQAPGKLEWVSSISSSTYIYYAD	1742	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYEVSNRPSGVSN

10

20

30

40

50

【表 9 - 2】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	SLKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCAREGGIAVAGFDYWGGTTLVTVSS		RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY TSSSTLVFGGGTKLTVL
1607	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQATGKGLEWVSAIGTAGDTYYPGS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAGDTAVY YCARDSSSWYEDAFDIWGGTMTVTVSS	1743	SYELTQPLSVSVALGQTARITCGGNNIGSKN VHWYQQKPGQAPFVLVIYRDSNRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRAGQAEADYYCQVWDSS TVVFVGGGTKLTVL
1608	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSD YMSWVRQAPGKGLEWVSISSGGSTIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCAREETMVRGVIAIYWGQGTTLVTVSS	1744	QSALTQFASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY TSSSTVVFVGGGTKLTVL
1609	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFST DSMNWVRQAPGKGLEWVSISSGGSTIYYTD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YCARDWGSFDLWGRGTLVTVSS	1745	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPFVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTATLTISGAQVEADYYCYSTDSS GNHWVFVGGGTKLTVL
1610	EVQLVSGGGGLIQQPGGSLRLSCAASGFTVSS NYMSWVRQAPGKGLEWVSIYSGGSTYYADS VKGRFTISRDNASKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGGEYSSSYFDYWGGTTLVTVSS	1746	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY AGSNNVVFVGGGTKLTVL
1611	QLQLQESGPGILVKPSETLSLTCTVSGGSISS SSYISWVRQAPGKGLEWVSIYSGGSTYYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTA VYYCARHDPSEFDYWGGTTLVTVSS	1747	LPVLTQPPSASALLGASIKLTCTLSSEHSTY TIEWYQQKPGRSPQYIMKVKSDGSHSKDGI PDRFMGSSSGADRYLTFSNLQSDDEAEYHCG ESHTIDGQVGVVFVGGGTKLTVL
1612	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFETS YGISWVRQAPGQGLEWMGWI SAYNGNTNYAQ KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARERSNWFDFYWGGTTLVTVSS	1748	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKS VHWYQQKPGQAPFVLVIYDSDRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDHRVFVGGGTKLTVL
1613	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YCARDGGVGRVITYFDYWGGTTLVTVSS	1749	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDRY ACWYQQKPGQSFVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS NVVFVGGGTKLTVL
1614	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFETS YDINWVRQATGQGLEWMGMNPNSGNTGYAQ KFQGRVTMTNTSISTAYMELSSSLRSED TAV YYCARGRSSWYWFYDLWGRGTLVTVSS	1750	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDRY ACWYQQKPGQSFVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TAVFVGGGTKLTVL
1615	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQATGKGLEWVSAIGTAGDTYYPGS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAGDTAVY YCARGSSSAFDIWGGTMTVTVSS	1751	SYELTQPLSVSVALGQTARITCGGNNIGSKN VHWYQQKPGQAPFVLVIYRDSNRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRAGQAEADYYCQVWDSS TWVFVGGGTKLTVL
1616	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSISSSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YCARDGGIAAGTDYWGGTTLVTVSS	1752	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDLAKKY ARWFQQKPGQAPFVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTMTATLTISGAQVEADYYCYSAADN NLVFVGGGTKLTVL
1617	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSISSSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARADSLTGGFFDYWGQGTTLVTVSS	1753	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPFVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTATLTISGAQVEADYYCYSTDSS GNHSWVFVGGGTKLTVL
1618	QVQLVQSESELKPGASVKVSCASGYTFETS YAMSWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTTYAQ GFTGRVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAV YYCAERGWNIDYWGGTTLVTVSS	1754	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTS GHYPYWFQQKPGQAPRTLIYDTSNKHSWTPA RFSGSLGKKAALTLSGAQPEDEAEYCYCLLS YSGAWVFVGGGTKLTVL
1619	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSS NYMSWVRQAPGKGLEWVSIYSGGSTYYADS VKGRFTISRDNASKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDSTTVTLFDYWGGTTLVTVSS	1755	QSALTQFASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY TSSSTYVFGTGKVTVL
1620	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSISSSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGIAVAGPHAFDIWGGTMTVTVSS	1756	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSY AGSNNFVFVGGGTKLTVL
1621	EVQLVSGGGGLIQQPGGSLRLSCAASGFTVSS NYMSWVRQAPGKGLEWVSIYSGGSTYYADS	1757	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITCTGSSSNIGA GYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNRPSGVDP

10

20

30

40

【表 9 - 3】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARGYSGSYAYWGQGLVTVSS		RFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DSSLSGYVFGGTGKTVTL
1622	QVQLQQSGPGLVKPSTLSLTCASIGDSVSS NSAAWNIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYND YAGSVKSRIIINPDTSKNQLSLQLKSVTPED TAVYYCARKWELRDAFDIWGQGTMTVTVSS	1758	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGRSTLGIDWVFGGGTKLTVL
1623	EVQLVQSGAVVKPAGESLKISCKSGSYFSS YWGIVWRQMPGKGLEWMIYIPGDSTRYSP SFQGGQVTISADKSIISTAYLQWSSLQASDTAM YFCAKRMTGSHSWFDPWGQGLVTVSS	1759	SYVLTQPPSVSVAPGKTARITCEGDNIGSES VHWYQQKPGQAPVLVIYFDSDRPSGIPERFS GSNSGITATLTISRVEAGDEADFCQVWDNG SDHVFVGGGTGKTVL
1624	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMHWVRQAPGKGLVWVRINSDGSSTSYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARIDYWGQGLVTVSS	1760	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY TSSSTWVFGGGTKLTVL
1625	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMHWVRQAPGKGLVWVRINSDGSSTSYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGGTGGQGLVTVSS	1761	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFVGGGTGKTVL
1626	QVQLQESGPGGLVKPSETLSLCTVSGGSISS YVMSWVRQAPGKGLVWVRINSDGSSTSYAD LKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVY YCAIVGARFDYWGQGLVTVSS	1762	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLAKEY ARWFQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSAADN NLVFGGGTKLTVL
1627	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFIN AWMSWVRQAPGKGLVWVRINSDGSSTSYAD AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTGGTHWGQGLVTVSS	1763	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSADALPNQY AYWYQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGVQAEDEADYYCQSDSS GTWVFGGGTKLTVL
1628	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLVWVRINSDGSSTSYAD AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTGGYRWGQGLVTVSS	1764	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSADALSKQY AYWYQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGVQAEDEADYYCQSDSS GTNWFVGGGTGKTVL
1629	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLVWVRINSDGSSTSYAD AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTDLYWGQGLVTVSS	1765	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFVGGGTGKTVL
1630	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YGI SWVRQAPGQGLEWVMSAIGTAGDTYYPGS KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARGWYFDYWGQGLVTVSS	1766	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY TSSSTLVFGGGTKLTVL
1631	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFST YAMNHWVRQAPGKGLVWVSAISGGGGSTYYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKRVEFDYWGQGLVTVSS	1767	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY TISSTWVFGGGTKLTVL
1632	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQATGKGLVWVSAIGTAGDTYYPGS VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAGDTAVY YCARDLGRVFDYWGQGLVTVSS	1768	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFVGGGTGKTVL
1633	VVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSR YWMHWVRQAPGKGLVWVSAIGTAGDTYYPGS SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAL YYCATDLNNGYWGQGLVTVSS	1769	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YDYVSWYQQHPGKAPKLMYEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY TRSRWVFGGGTKLTVL
1634	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSR CDMYWVRQATGKGLVWVSAIGTAGDTYYPGS VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAGDTAVY YCATGYNWNPDYWGQGLVTVSS	1770	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGINVG TYRIYWYQQKPGSPQYLLRYKSDSDKQQGS GVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSASVFGGGTKLTVL
1635	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFIN YGMHWVRQAPGKGLVWVSAIGTAGDTYYPGS SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDRSSSDYWGQGLVTVSS	1771	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLAKEY ARWFQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSAADN NRVFGGGTKLTVL
1636	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMHWVRQAPGKGLVWVRINSDGSSTSYAD	1772	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLAKEY ARWFQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS

10

20

30

40

【表 9 - 4】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAGITGTYYFDYWGQGTTLTVSS		GSSSGTTVTTLTISGAQVEDEADYYCYSAADN NLVFGGGTKLTVL
1637	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDD YAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSSGIYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCAKDSGYSFDYWGQGTTLTVSS	1773	SYELTQPPSVSVSPGGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GKGVFVGGGTKLTVL
1638	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTS YGIHWVRQAPGKGLEWVSAISYNGNTNYAQ KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDRPYYFDYWGQGTTLTVSS	1774	SYELTQPPSVSVSPGGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1639	QVQVQSGAEVRKSGASVKVSKASGYTFTS YYIHWVRQAPGKGLEWVSAISGGSTIYAAQ KFQGRVTMTTDTSTSTSVYMELSSLRSEDAA YYCARGWGTMVWVGQGTTLTVSS	1775	SSELTQDPAVSVLGGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHYVFGTGTKTVL
1640	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQAPGKGLEWVSAIGTAGDTIYPGS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAGDTAVY YCARAWELDAFDIWGQGTMTVTSS	1776	SSELTQDPAVSVLGGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHVVFVGGGTKLTVL
1641	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTIYAD SVKGRFTISRDNASKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKDNWNYFDYWGQGTTLTVSS	1777	SYELTQPPSVSVSPGGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1642	QVQLVSGGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YGLHWVRQAPGKGLEWVSAIWDGSKNYAD SVKGRFTISRDNASKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARVYNWIFDYWGQGTTLTVSS	1778	SYELTQPPSVSVSPGGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1643	EVQVMESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS HSLNHWVRQAPGKGLEWVSAISGISNYIAYAD SVRGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTGV YYCARITVVSFDYWGQGTTLTVTS	1779	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTNNNDVG YNYVSWYQQHPDKAPKLMIYDVIKRPBGVSD RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTWVFVGGGTKLSVL
1644	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGNTYNAD SVKGRFTISRDNASKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKAAAGKGDYWGQGTTLTVSS	1780	QSALTQPPASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSKRPSGVPD RFGSGKSGNTASLTIVSGLQAEDEADYYC SGSNNYVFGTGTKTVL
1645	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTS YYIHWVRQAPGKGLEWVSAISGGSTIYAAQ KFQGRVTMTTDTSTSTSVYMELSSLRSEDAA YYCARGDWGTMVWVGQGTTLTVSS	1781	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGN YNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVIRPSGVSN RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCTSY TRNNTYVFGSGTKTVL
1646	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMHWVRQAPGKGLEWVSAIKQDGSEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGTGWFDPWGQGTTLTVSS	1782	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITCTGSSSNIGA GYDVHWYQQLPGTAPKLMIYDVSNNRPSGVPD RFGSGKSGTASLTISGLQAEDEADYYCQSY DSSLGWFVGGGTKLTVL
1647	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTS YGIHWVRQAPGKGLEWVSAISYNGNTNYAQ KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARRGTVVDYWGQGTTLTVSS	1783	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNNRPSGVSN RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTYVVFVGGGTKLTVL
1648	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTN YGIHWVRQAPGKGLEWVSAISYNGNTNYAQ NLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARPLSGTLDNWGQGTTLTVSS	1784	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNNRPSGVSN RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGRSTLGLDWVFGGGTKLTVR
1649	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNHWVRQAPGKGLEWVSYISSSSTIYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSPRDEDTAV YYCARESLAALFDYWGQGTTLTVSS	1785	SSELTQDPAVSVLGGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNKNNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
1650	EVQLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQATGKGLEWVSAIGTAGDTIYPGS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAGDTAVY YCARGDHSYGGLDYWGQGTTLTVSS	1786	SYELTQPPSVSVSLGQMARITCSGEALPKKY AYWYQQKPGQFPVLVIYKDSERPSPGIPERFS GSSSGTIVTLTISGVQAEDEADYYCLSDSS GTYRVFGGGTKLTVL
1651	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTS YDIYHWVRQATGKGLEWVSAIPNSGNTGYAQ	1787	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSHRPSGVSN

10

20

30

40

50

【表 9 - 5】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	RFEDRVMTMRSTSMNTAYMELNSLRSED TAV YYCARGDWAWSFDLWGRGTLVTVSS		RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDES DYCCSSY TSSSSLVFGGGTKLTVL
1652	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTS YMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSSGGS TSAQ KFQGRVTMTTRDTSTSTVYMESSLRSED TAV YYCARGLRDWFDPWQGQTLVTVSS	1788	QSALTQPAVS VSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCCSSY TSSSTWVFGGGTKLTVL
1653	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSN AWMSVWRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDY AAPVKGRFTISRDDSNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTGTRSDYWGQGTLLVTVSS	1789	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIDVTTTRPSGVDP RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCCSSY SGSYTYVFGTGKVTVL
1654	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTS YMHVWRQAPGKGLDWAVIWDGNNEYYAD SVKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDRAV YYCVRGGVGDGDFMWQGQTMVTVSS	1790	QSALTQPAVS VSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKVPKLMIEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCCISY TNTNTRVFGGGTKLTVL
1655	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTS YMHVWRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYAD SVKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAV YYCASVGSYGFQHWQGQTLVTVSS	1791	QSALTQPAVS VSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCCSSY TSSSTWVFGGGTKLTVL
1656	EVQLVQSGGGVLPVPGGSLRLSCAASGFTFSS YGMVWRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCARKGNWNSFDYWGQGTLLVTVSS	1792	QSALTQPPSASVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCCSSY AGSNWVFGGGTKLTVL
1657	EVQLVQSGGGVLPVPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDASYYTFDYWGQGTLLVTVSS	1793	QSALTQPPSASVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCCSSY AGSNFWVFGGGTKLTVL
1658	EVQLVQSGGGVLPVPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMVWRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYAD SVKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAV YYCGSGWYEGAFDYWGQGTLLVTVSS	1794	QSALTQPAVS VSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCCSSY TSSSTYVFGGGTKLTVL
1659	EVQLVQSGGGVLPVPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWRQATGKGLEWVSAIGTAGDTYYPGS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAGDTAVY YCARDRDSHDAFDIWQGQTMVTVSS	1795	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYCCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
1660	EVQLVQSGGGVLPVPGGSLRLSCAASGFTFSS FGLNWRQAPGKGLEWVSGINWNGGTTTYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRVEDTAL FYCVRDEIWNYYFDYWGQGTLLVTVSS	1796	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDLAKKY ARWFQQKPGQAPVLVIYKDSERPSGIPERFS GSSSGTIVTLTISGAQVEDEADYCYSAADN NRVFGGGTKLTVL
1661	EVQMVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS NNMNWRQAPGKGLEWVSSISSSTYIYYAD SVKGRFTISRDNASTLYLQMNSLRAEDTGV YYCARDSDYHDAFDIWQGQTMVTVSS	1797	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1662	EVQLVQSGGGVLPVPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMHWRQAPGKGLVWVSRINDGSSSTSYAD SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARVWGWHDAFDIWQGQTMVTVSS	1798	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYCNDRDSS GNHVFGGGTKLTVL
1663	EVQLVQSGGGVLPVPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWRQAPGKGLEWVSSISSSTYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGYNWNYVDYWGQGTLLVTVSS	1799	QSALTQPAVS VSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYCCSSY TSSSTLVFGGGTKLTVL
1664	EVQLVQSGGGVLPVPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMVWRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYAD SVKGRFTISRDNSTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKDANWYAFDIWGQGTLLVTVSS	1800	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITCSGSSNIGA GYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNRPSGVDP RFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYCCQSY DSSLSGSVFGGGTKLTVL
1665	QVQLVQSVSEVNPASVKVSCKASGYTFTT YGISVWRQAPGQGLEWMGWSIGSYGYTSAQ KFQGRVTMTTDTSTANTAYMELRSLRSDDTAV YYCARFIWNYGDFDYWGQGTLLVTVSS	1801	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSRDGLDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYCCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
1666	EVQLVQSGGGVLPVPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWRQAPGKGLEWVSYISRSSGTIYYAD	1802	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS

10

20

30

40

50

【表 9 - 6】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAV YYCARGRLGLEDYFDYWGQGLVTVSS		GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
1667	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNR YMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSDTIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAM YYCARECYSSSWAFDYWGQGLVTVSS	1803	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQQKPGQAPVLVIYQKNRPSGIPERFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEGDDYYCNSRDSS GWVFGGGTKLTVL
1668	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAISGGSISS SNWWSVRQAPGKGLEWVIGIYHSGSTNFP SLKSRVTISVDKSKNQFSLHLSSTAADTAV YYCARDVGVDRGFYWGQGLVTVSS	1804	SYELTQPPSVSVSPGQTANITCSGDKLENKY TCWYQQKPGQAPVLVIYQKNRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDST TAWVFGGGTKLTVL
1669	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCGVSGFTFSI YDMHWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD SVKGRFTISRDNAKNSLFLQMTSLRAEDTAV YYCARDILWGGYLDVWGKGLVTVSS	1805	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDNIIRNY ASWYQQKPGQAPVLVIYQKNRPSGIPERFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEAYYYCYSRDSS GSLWIFGGGKLTVL
1670	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSG YDMHWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD SVKGRFTISRDNQNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARKQLWLNWYFDWGRGILVTVSS	1806	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDNIIRNY ASWYQQKPGQAPVLVIYQKNRPSGIPERFS GSSSGNTASLTITGTQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
1671	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTT YGISWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD NLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAV YYCARENWNYGWDFWGGQGLVTVSS	1807	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDNIIRNY ASWYQQKPGQAPVLVIYQKNRPSGIPERFS GSSSGNTASLTITGTQAEDEADYYCNSRDSS GNHVFVGGGKLTVL
1672	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YDMHWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD VKGRFTISRDNQNSLYLQMNSLRAGDTAVY YCAREGYGDYPLPMDVWGKGLVTVSS	1808	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1673	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTDWNNSYFDYWGQGLVTVSS	1809	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1674	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD SVKGRFTISRDNQNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCAGNSGYDYPFDYWGQGLVTVSS	1810	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1675	QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD SVKGRFTISRDNQNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCAREYSSSDWDFWGGQGLVTVSS	1811	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1676	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD SVKGRFTISRDNQNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGGITGRYFDLWGRGLVTVSS	1812	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIVDSKRPSGVPD RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSYTWVFGGGTKLTVL
1677	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD SVKGRFTISRDNQNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCAREGNWGPYYFDYWGQGLVTVSS	1813	QSALTQPFASVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIVDSKRPSGVPD RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTVWFGGGTKLTVL
1678	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTG YIMHWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD KFQGRVTMTTRDTISIAYMELSLRSDDTAV YYCARGVWSGYTFDFWGGQGLVTVSS	1814	QSALTQPPSVSVSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIVDSKRPSGVPD RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSNNWVFGGGTKLTVL
1679	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTPHSSSPVFDYWGQGLVTVSS	1815	QSALTQPFASVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIVDSKRPSGVPD RFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY TSSSHVWFGGGTKLTVL
1680	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTG YIMHWVRQAPGKGLEWVSAIIGDSEKHYVD KFQGRVTMTTRDTISIAYMELSLRSDDTAV YYCARDTGTGGYFQHWGQGLVTVSS	1816	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
1681	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YDINWVRQATGQGLEWVSAIIGDSEKHYVD	1817	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS

10

20

30

40

【表 9 - 7】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	KFQGRVTMTNTSISTAYMELSSLRSED TAV YYCARAVAVAGTGWFDWPQGQGLTVTVSS		GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDS TVVFGGGTKLTVL
1682	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY AAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNLSLKTEDT AVYYCTTNYGDYVGFYDWGQGLTVTVSS	1818	SYELTQPPSSVSVSPGQTARITCSGDLAKKY ARWFQKPGQAPVLVIYKDSERPSPGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEADYYCYSAADN NLVFGGGTKLTVL
1683	EVHLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSG YWMHWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY SVKGRFTISRDNAINSLFLQLTSLRAEDTAV YYCAREIDWNYGFHFDYWGQGLTVTVSS	1819	SYELTQPPSSVSVSPGQTARITCSGDALPQKY AFWYQKSGQAPVLVIYEDSERPSPGIPERFS GSTSGTMTLTISGAQVEADYYCFSTDSS GNKVFGGGTKLTVL
1684	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YDINWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY KFQGRVTMTNTSISTAYMELSSLRSED TAV YYCARGYDFWVGFDYWGQGLTVTVSS	1820	SYELTQPPSSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQKSGQAPVLVIYEDSERPSPGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEADYYCYSTDSS GNRVFGGGTKLTVL
1685	QVQLVESGGGVVLPGRSLRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAV YYCARDKSWELLNWFDPWGQGLTVTVSS	1821	SYELTQPPSSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPDRFS GSSSGTMTLTISGAQVEADYYCYSTDSS GNRVFGGGTKLTVL
1686	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSISD YDINWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY LKSRTVLSVDSSKNQFSLKLTSTVAADTAVF YCARGHFDWLLSYFDYWGQGLTVTVSS	1822	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEADYYCNSRDSS GNHYVFGGTGTKTVL
1687	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSS DNMHWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAV YYCARDRAIVGATWFDWPQGQGLTVTVSS	1823	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRNYY ASWYQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEADYYCNSRDSS YNHWVFGGGTKLTVL
1688	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAV YYCARDRYNWNRYFDLWGRGTLTVTVSS	1824	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
1689	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAV YYCARDSDHYGDSYFDYWGQGLTVTVSS	1825	SYELTQPPSSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTLTISGAQVEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1690	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YGISWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAV YYCARDGAARPPRYMDVWGKGTTVTVSS	1826	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
1691	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTD HSIHWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY KFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAV YYCARSDSGSHYVFDWVGQGLTVTVSS	1827	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
1692	QVQLVQSGEVKKPGASVKVSCASGYTFTG YYMWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY KFQDRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAI YYCARDLDYGGSNYDWGQGLTVTVSS	1828	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEADYYCNSRDSS DNHRVFGGGTKLTVL
1693	EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSS YWMHWVRQAPGKGLVWVSRVNSDGSNTTYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAV YYCARNRDYHSGSFDYWGQGLTVTVSS	1829	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
1694	QVQLQSGGPGLVKPSQTLSTCAISGDNVSS NSAANNWIRQSPSRGLEWLGRTYYSKWN YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLHLNSVTPED TALYYCARDWNFAFDIWGQGTMTVTVSS	1830	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSY ASWYQKPGQAPVLVIYGNRPSGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
1695	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTS YGITWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY KLQGRVTMTTDTSTSTAYMDLRLSRDDTAV YYCARTIFGVNNWFDWPQGQGLTVTVSS	1831	QSVLSQPPSVSEAPRQRTISCSGSSSNIGY NAVNWYQQLPGKAPKLLISHDDLPSGVS FSGSKSGTSASLAISGLQSDDEADYYCAAWD ARLNGWVFGGGTKLTVL
1696	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTG YYMWVRQAPGKGLLEWVGRIKSKTDGGTTDY KLQGRVTMTTDTSTSTAYMDLRLSRDDTAV YYCARTIFGVNNWFDWPQGQGLTVTVSS	1832	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVPD

10

20

30

40

50

【表 9 - 8】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	KFQGRVMTMRDTSISTAYMELSRRLSDDTAV YYCARDGEQLALNWFDPWGQGLTVTVSS		RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSYTWVFGGGTKLTVL
1697	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSR YSMNWVRQAPGKGLEWVSSIISSSTYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARETPTVTLFDAFDIWGQGLTMVTVSS	1833	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGA RYDVHWYQLLPGSAPKLLIYDNSDRPSGVDP RFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DSSLSGSVFGGGTKLTVL
1698	EVHLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDE YAMHWVRQVPGKGLEWVSGISWNSGSIYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCAKDI FTGRAGYFDYWGQGLTVTVSS	1834	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQLLPGTAPKLLIYGNNSRPSGVDP RFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DSSLSGWVFGGGTKLTVL
1699	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGSGTYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARAITGTTGNWFDPWGQGLTVTVSS	1835	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQLLPGTAPKLLIHGNSRPSGVDP RFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DSSLSGWVFGGGTKLTVL
1700	QITLKESGPTLVKPTQLTLTCTFSGFSIST SGVGVGWIRQPPGKALEWLAFTFWNDDKRY PSLKSRLTITKDTSKNQVLTMTNMDPVDTA TYCYCTHTEYGSWSVDYWGQGLTVTVSS	1836	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGINVG TSRIYWYQQKPGSPPYLLRYKSDSDKQGS GVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSAVVFGGGTKLTVL
1701	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDD YGMHWVRQAPGKGLEWVSGINWNGSGTYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAL YYCARHFDWLLSNAFDIWGQGLTMVTVSS	1837	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGINVG TYRIYWYQQKPGSPPYLLRYKSDSDKQGS GVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSASVVFGGGTKLTVL
1702	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTS YDMNWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGTYAQ KFQGRVMTMRNTSISTAYMELSSSLRSED TAVYYCVRRITVVRGVISLSDYWGQGLTVTVSS	1838	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGAKLGDKY ACWYQQKPGQAPVPLVIYQDRKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TAVFGGGTKLTVL
1703	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSIISSSTYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARETYYYDSGYSYFDYWGQGLTVTVSS	1839	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGAKLGDKY AYWYQQKSGQAPVPLVIYQDRKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1704	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGSGTYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDDTIFGVVTDADFIDWGQGLTMVTVSS	1840	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVPLVIYQDRKRPSGIPERFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNLFGGGTKLTVL
1705	QVQLQQSGPGLVKPQSLTSLTCAISGDSVSS NSAANWIRQSPSRGLEWLGRTYYSKQWYD YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCARGVGARGWFDPWGQGLTVTVSS	1841	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQAPVPLVIYQDRKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TAVFGGGTKLTVL
1706	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFST YMSWVRQAPGKGLEWVSSIISSSTYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRADDTAV YYCARDPELSSGYAGEFDYWGQGLTVTVSS	1842	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYY ASWYQQKPGQAPVPLVIYQDRKRPSGIPERFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHWVFGGGTKLTVL
1707	QVTLRESGPALVKPTQLTLTCTFSGFSLST SGMCVSWIRQPPGKALEWLALIDWDDDKYYS TSLKTRLTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDTA TYYCARRRGYSYWGDFDYWGQGLTVTVSS	1843	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGAKLGDKY AYWYQQKSGQAPVPLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1708	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASEFIFRS YMNWVRQAPGKGLEWVSSIISSSTYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRDEDTAV YYCARGGLLNWNYEGWFDPWGQGLTVTVSS	1844	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGAKLGDKY AYWYQQKSGQAPVPLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1709	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSD YMSWVRQAPGKGLEWVSSIISSSTYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGGIAARPDWYFDLWGRGTLTVTVSS	1845	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGAKLGDKY AYWYQQKSGQAPVPLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1710	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSIISSSTYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAV YYCARTYYYGSGSYTLDYWGQGLTVTVSS	1846	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGA GYDVHWYQLLPGTAPKLLIYGNNSRPSGVDP RFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSY DSSLSGVVFVFGGGTKLTVL
1711	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTS YDINWVRQATGQGLEWGMWNPNSGNTGYAQ	1847	QAVLTQPASLSASPGASASLTCTLRSGINVG TYRIYWYQQKPGSPPYLLRYKSDSDKQGS

10

20

30

40

50

【表 9 - 9】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
	KFQGRVTMTNTSISTAYMELSSLRSED TAV YYCARGGTTIFGVVTPFDYWGQGLTVTVSS		GVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEAD YYCMIWHSSAWVFGGGTKLTVL
1712	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS LCTCTVSGGSISS GGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYSGSTYYN PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSTAAADTA VYYCARDALHYHSGSFAFDYWGQGLTVTVSS	1848	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
1713	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSS YWMWVRQAPGKGLEWVANIKQDGEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCAREGLVWFGEFYFYMDVWGKGTITVTVSS	1849	SSELTQDPAVSVVALGQTVRITCQGDSLRRYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNPSPGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHLVFGGGTKLTVL
1714	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYSISSSTIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAV YYCAGDRGDDYDSSGYHFDYWGQGLTVTVSS	1850	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1715	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSS YAMSWVRQAPGKGLEWVAISGSGGSTYYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAGDRGGENWNYGWFDPWGQGLTVTVSS	1851	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL
1716	QVHLVESGGGVVQPGGSLRLS CAASGFTFSS YGMHWVRQAPGKGLEWVAI IWDGSGNEYAD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLTLEADTAV YYCAGDRGDDYDSSGYLNYMDVWGKGTITVTVSS	1852	SYVLIQPPSVSVSPGKTARITCGGNNIGGKS VHWYQLKPGQAPVLVIYCNDRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDHPVFGGGTKLTVL
1717	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFRN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKTKTDGGATQY AAPVKGRTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTDHIEYSSLYFDYWGQGLTVTVSS	1853	QSVLTQSPSASGTPGQRTVITCSGSNSNIGF NTVNWYQQLPGTAPKLLIDSNQRPSPGVDR FSGSTSGTSASLAISGLQSEDEADYYCSSYA GSNNFVFGGTGKTVL
1718	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTS YGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQ KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARQLAYCGGDCYLYFDYWGQGLTVTVSS	1854	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFGSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYC AGSNNLVFGGGTKLTVL
1719	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSS NSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYND YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCAREAYWNYGGFDYWGQGLTVTVSS	1855	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVDP RFGSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYC AGSNNFVFGGGTKLTVL
1720	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYSISSSYIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARDGRITMVRGVRNWFDPWGQGLTVTVSS	1856	SYELTQPPSVSVSPGQTANITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTIGGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
1721	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSYSISSSTIYYAD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLTDEDTAV YYCARMSSQLELHYCYMDVWGKGTITVTVSS	1857	SYDLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDIKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
1722	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSN AWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTDDY AAPVKGRTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDT AVYYCTTDLGYSYDWDGAFDYWGQGLTVTVSS	1858	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSMRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
1723	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSS NSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYND YAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPED TAVYYCARDVRNWDVGFDPWGQGLTVTVSS	1859	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKY ACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSS TVVFGGGTKLTVL
1724	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSS YWMWVRQAPGKGLEWVANIKQDGEKYYVD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARTPGYSSSWYEGPYFDYWGQGLTVTVSS	1860	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHVVFGGGTKLTVL
1725	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSITT RSYIYWGWLQPPGKGLEWIGTFYYSNTYYN PSLQSRVSI SVDASKNQFSLQLSSVTAADTA VFYCAREDLIGNDYWGQGLTVTVSS	1861	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFGGGTKLTVL

10

20

30

40

【表 9 - 1 0】

配列番号	完全 HC AA 配列	配列番号	完全 LC AA 配列
1726	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSIST RSYYWGWLRQPPGKGLEWIGTFYYSGSTYYN PSLKSRSVTSVDTSKNQFSLQLSSVTAADTA VYYCAREDLIGNDYWGQGLTVTVSS	1862	QSVLTQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSSNIGI NTVNWYQQVPGTAPKLLIYFNNQRPSPGVDR FSGSKSGTSASLAIISGLQSEDEADYYCAAWD DSLKVFGGGTKLTVL
1727	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG HYWNWIRQPPGKGLEWIGEINHSGFTNYPNS LKSRTVTSVDTPKNQFPLNLSVTAADTAVY YCAREGLTGHVFDIWGQGTMTVTVSS	1863	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTSCASSTGAVTS GYYPNWFQKQPGQAPRALIYSTSNKHSWTPA RFSGSLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCLLY YGAQVFGGGTKLTVL
1728	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGFLRG YYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNS LKSRTVTSVDTAENQFSLKLNSTVTAADTAVY YCAREGLTGHTFDIWGQGTMTVTVSS	1864	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTVVFVGGGTKLTVL
1729	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYIFSN YGIQWVRQAPGQGLEWMGWIPYVNRNYAQ SLQGRVTMTTDTSTNSAYMELRSLKSDDTAV YFCARGVWGSYRSHSYTFMDVWVGKTTVT SS	1865	SYELTQPSVSVSPGQARITCSGNLLAKKY PRWFLQKPGQAPIMLTHTDCERPSPGIPERFS GSSSGTTVTLTISGAQVEDEADYYCFSADN TSVFDGGTNLTVL
1730	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSS YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSYIYYAD SVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRADTAV YYCARDYRPPYDILTGYSHFYWGQGLTVTV SS	1866	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNPSPGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHVVFVGGGTKLTVL
1731	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGFTFTS YYIHWVRQAPGQGLEWMGIITPSGGTTSYAQ KFQGRVTMTTDTSTSTVYMESSLRSDDTAV YYCARRVLWFGELRDYFYMDVWVGKTTVT SS	1867	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWFQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTALTIISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHVVFVGGGTKLTVL
1732	QMQLQESGPGGLVRPSETLSLTCTVSGGSIST RSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSVFYSGSTYYN PSLKSRSVAISVDTSKNQFSLKVNSTVTAADTA VFYCVRQGYDSWTGYSFFYFDYWGGTLTV SS	1868	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGG YNYVSWYQQHPGKAPKLMYEVSKRPSGVDP RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSNLNVFVGGGTKLTVL
1733	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFV YYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNS LKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSSTVTAADTAVY YCARGGGYSGFGFDYWGGTLTVTVSS	1869	QSVLNQPPSASGTPGQRTVITSCSGSSSNIGS KTVNWYQQVPGTAPKLLIYSSNQRPSGVDR FSGSKSGTSASLAISELQSEDEADYYCTSWD DSLNTWVFVGGGTKLTVL
1734	QLQLQESGPGGLVKPSETLALTCTVSGGSISS IIYYWGWIRQPPGKGLEWIGNVYYSGSIIYN PSLKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSSTVTAADTA VYYCARQNWGSDAFDIWGQGTMTVTVSS	1870	SYELTQPLSLVALGQTVRITCGENNIGSRN VHWYQQKPGQAPVLVIYRDSRPSGIPERFS GSNSGNTATLTISRAGQDEADYFCQVWDSS TAVFVGGGTKLTVL
1735	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNS LKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSSTVTAADTAVY YCARGELGIGYWFYDLWGRGTLTVTVSS	1871	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRSYY ASWYQQKPGQAPVLVIYGNRNPSPGIPDRFS GSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSS GNHVVFVGGGTKLTVL
1736	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSG YYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNS LKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSSTVTAADTAVY YCAREGGTTHEPLFDYWGGTLTVTVSS	1872	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKY AYWFQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFS GSSSGTMTALTIISGAQVEDEADYYCYSTDSS GNHRVFVGGGTKLTVL
1737	QVQLVQSGAEVKKPGASMKVCKASGYTFTIT YGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNANYAQ KVQDRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARAPGGSCGSTNCKWNYDPYFDYWGG GTLTVTVSS	1873	RSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNYVSWYQHHPGKAPKLMYDVSKRPSGVSN RFSGFKSGNTASLTISGLQAEDEADYFCCSY AGSSTLVFVGGGTKLTVL
1738	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTIT YGISWVRQAPGQGLEWMGWISSYNGNTNYAQ KLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARAPGGDCSSTSCYKWNYPYFDYWGG GTLTVTVSS	1874	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGG YNHVSWYQQNPGKAPKLMYDVSKRPSGVSN RFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSY AGSSTLVFVGGGTKLTVL

【0 6 5 1】

10

20

30

40

50

【表 10 - 1】

表 10. ハイブリドーマ抗体配列

ハイブリドーマ クローン	配列 番号	VH 配列	配列 番号	VK 配列
M1	1739	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSG GSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGN IYYSGNPFYNNPSLKSRLIISVDTSKN QFSLRLNSVTAADTAVYYCATFYYS GSYYNEDYWGQGTLLTVSS	1956	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQGIRIDLGWYQQKPGKAPKRLI YAASSLKSQVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQPEDFTTYFCLQHNSYPY TFGQGTKEIK
M2	1740	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASG FTFSDSYMSWIRQAPGKGLEWVSYIS NSGSYMYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNNLRAEDTAVYYCARDKLGIG DYWGQGTLLTVSS	1957	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQGIRNDLGWFQQKPGKAPKRLI YAASRLQSGVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYCCQLQHHTYPP TFGQGTKEIK
M3	1741	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSG GSISSYDWSWIRQPPGKGLEWIGYIY YSGSTNYPNPSLKSRLTISVDTSKNQF SLKLRSVTAADTAVYYCARKYSYGP DNWGQGTLLTVSS	1958	DIVMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQGINNYLAWYQQKPGKVPQLLI YAASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDVATYYCQKYNXP TFGPGTKVDIK
M9	1742	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCDISG DSVSSNSAAWNIRQSPSRGLEWLGR TYYSRWYNDYAVAVKSRITINPDT KNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAESS GWYEDYNYMDVWGKTTVTSS	1959	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQSYSTPF TFGPGTKVDIK
M19	1743	QLQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSG GSISSNHYWGWRQPPGKGLEWIGT LYYSGSTYEPNPSLKSRLTISVDTSMN QFSLNLSSVTATDTAVYNCARGDRY FDYWGQGTLLTVSS	1960	DIVMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQGIRDDLWYQQKPEKAPKRLI CAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYYCLQYNYRPW TFGQGTKEIK
M24	1744	EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASG FTFTNAWMNWRQAPGKGLEWIGRIK SKTAGETTDYAAPVKGRFTISRDDSK NTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTDTPDY GDPYNYNYFMDVWGKTTVTSS	1961	DIQMTQSPSSLSASIGDRVITICR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQSYSLPL TFGGGTKEIK
M26	1745	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASG YAFSNDISWVRQAPGQGLEWMAWIT TSNGNTNYAPKLQGRVTMTDTST AYMELRSLKSDDTAVYYCARGRTGY FDYWGQGTLLTVSS	1962	DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISCR SSQSLLSNGYNYLDWYLLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGS GTDSTLKISRVEAEDVGVYYCMQV LQIPLTFGGGTKEIR
M37	1746	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSG GSITTNWWSWVRQSPGKGLEWIGE YHSGNTNYPNPSLKSRLTMSVDKSKNQ FSLNLNSVIVADTAVYYCASALGTY GAFDTWGQGTMTVSA	1963	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFTTYCQSYGTPY TFGQGAKLQIK
M38	1747	QVQLVESGGGVQPGRLRLSCAASG FTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI YDGRKNYVDSVKGRFTISRDNKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGDY FDYWGQGTLLTVSS	1964	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICQ ASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLI YDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFT FTISLKPEDIATYYCQYDNLFF TFGPGTKVDIK
M41	1748	QVQLVESGGGLVQFGRSLRLSCAASG FTFDDYAIHWVRQAPGKGLEWVSGIS YNSENIGYADSVKGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRSSEDTALYYCAKDMFLTW FSSFDYWGQGTLLTVSS	1965	ETKLTQSPGTLSPGERTTLSCR ASQSISSYLNWYQQKPGQAPRLI IYRASTRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTIRLEPEDFATYYCQRYGRSP LTFGGGTKEIK
M43	1749	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSG GSISSNWSWVRQPPGKGLEWIGE YHSGINYPNPSLKSRLTISVDKSKNQ FSLKLTSTVTAADTAVYYCASALGNY GAFDLWGQGTMTVSA	1966	DIVMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQTISSYLNWYQQKPGKAPKLLI CAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQSYSTPY TFGQGTKEIK
M52	1750	QLQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSG VSISSNSYWGWRQPPGKGLEWIGN IYHSGRTYNNPSLRSRLTISVDTSKN QFSLKLNSTVTAADTAVYYCARGYSY AFDYWGQGTLLTVSS	1967	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICR ASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYYCLQHNNYPW TFGQGTKEIK

10

20

30

40

【表 10 - 2】

ハイブリッドマ クローン	配列 番号	VH 配列	配列 番号	VK 配列
M54	1751	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCSVSG GSISSSGYYWGWIROPKGLDWIGT IYYSGNTNYPNPSLNSRVTISVDTSRN QFSLKLRSVTAADTAVYYCARGYSYG PFDYWGQGTTLVTVSS	1968	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSNLAWYQLKPGQAPRLLI YGASTRATGIPARFSGSGSGTEFT LTISSLQSEDAVYYCHPYNWPL TFGGGTKVEIK
M71	1752	QVQLVESGAIEVKPRASVKVCKTSG YTFTRHYMHVVRQAPGQGLEWMGIIN PNNNSTSYAQKFQGRITMTRDTSTST VYMELSSLRSEDVAVYYCARFRIVGT TLYFDYWGQGTTLVTVSS	1969	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSNLAWYQLKPGQAPRLLI YGASTRATGIPARFSGSGSGTEFT LTISSLQSEDAVYYCHPYNWPL TFGGGTKVEIK
M80	1753	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSAAAG FTFSDSYMSWIRQAPGKGLEWVSYS NSGSYMYADSVKGRFTISRDNANKS LYLQMNNLRADDTAVYYCARDKLGIG DYWGQGTTLVTVSS	1970	DIVMTQSPFLSLPVTGPGEPAISCR SSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQS PQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGS GTDSTLKISRVEAEDVGVYYCMQV LQIPLTFGGGTKVEIR
M82	1754	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFSSFGITWIRQAPGQGLEWMGWIS GYTGNTNYAQNLQGRVTITTDSTNT AYMELRSLKSDDTAVYYCAREPVLNP NYYYFYMDVWGQGTTLVTVSS	1971	EIQLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR ASQSVRNLSYAWYQQKPGQAPRLI TYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDCAVYFCQQYGSPP TFGGGTKVDIK
M87	1755	QVQLVQSGAEVKKPGASMKVSCKASG YTFNQNHISWVRQAPGQGLEWMGWIS AYSGNTNYAWKFQGRVTMTTDTSTNT AYMELRSLRSDDTAVYYCARDRGNNW DFAYWGRGTLVTVSS	1972	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCK SSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQ PPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSG SGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQ YYSTPYTFGGGTKLEIK

10

20

【0652】

30

40

50

【表 1 1 - 1】

表 11. ハイブリドマクローンおよび EPO/EPOR 遮断効率

抗体 ID	EPO 濃度 (nM)	阻害 %	抗体 ID	EPO 濃度 (nM)	阻害 %	抗体 ID	EPO 濃度 (nM)	阻害 %
EPORab - M1	10	31.2%	EPORab - M30	10	88.6%	EPORab - M59	10	34.5%
EPORab - M2	10	93.6%	EPORab - M31	10	22.4%	EPORab - M60	10	30.0%
EPORab - M3	10	13.4%	EPORab - M32	10	20.9%	EPORab - M61	10	11.2%
EPORab - M4	10	35.0%	EPORab - M33	10	28.6%	EPORab - M62	10	36.3%
EPORab - M5	10	100.7%	EPORab - M34	10	99.6%	EPORab - M63	10	15.0%
EPORab - M6	10	97.2%	EPORab - M35	10	25.4%	EPORab - M64	10	102.0%
EPORab - M7	10	100.4%	EPORab - M36	10	90.2%	EPORab - M65	10	104.2%
EPORab - M8	10	93.9%	EPORab - M37	10	-7.1%	EPORab - M66	10	102.8%
EPORab - M9	10	18.1%	EPORab - M38	10	0.5%	EPORab - M67	10	8.9%
EPORab - M10	10	87.4%	EPORab - M39	10	99.1%	EPORab - M68	10	110.3%
EPORab - M11	10	92.3%	EPORab - M40	10	97.6%	EPORab - M69	10	99.2%
EPORab - M12	10	35.6%	EPORab - M41	10	18.7%	EPORab - M70	10	34.3%
EPORab - M13	10	94.3%	EPORab - M42	10	-5.4%	EPORab - M71	10	0.1%
EPORab - M14	10	95.1%	EPORab - M43	10	-11.4%	EPORab - M72	10	14.8%

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 2】

抗体 ID	EPO 濃度 (nM)	阻害%	抗体 ID	EPO 濃度 (nM)	阻害%	抗体 ID	EPO 濃度 (nM)	阻害%
EPORab - M15	10	101.4%	EPORab - M44	10	26.3%	EPORab - M73	10	100.6%
EPORab - M16	10	96.5%	EPORab - M45	10	19.5%	EPORab - M74	10	5.1%
EPORab - M17	10	92.0%	EPORab - M46	10	98.4%	EPORab - M75	10	32.7%
EPORab - M18	10	28.8%	EPORab - M47	10	26.5%	EPORab - M76	10	88.6%
EPORab - M19	10	10.4%	EPORab - M48	10	1.3%	EPORab - M77	10	106.6%
EPORab - M20	10	31.8%	EPORab - M49	10	22.4%	EPORab - M78	10	104.8%
EPORab - M21	10	96.8%	EPORab - M50	10	99.0%	EPORab - M79	10	-0.8%
EPORab - M22	10	0.6%	EPORab - M51	10	89.8%	EPORab - M80	10	-1.8%
EPORab - M23	10	94.9%	EPORab - M52	10	7.4%	EPORab - M81	10	9.7%
EPORab - M24	10	9.5%	EPORab - M53	10	101.6%	EPORab - M82	10	24.8%
EPORab - M25	10	1.6%	EPORab - M54	10	16.0%	EPORab - M83	10	10.1%
EPORab - M26	10	31.3%	EPORab - M55	10	98.3%	EPORab - M84	10	114.7%
EPORab - M27	10	23.8%	EPORab - M56	10	112.1%	EPORab - M85	10	28.5%
EPORab - M28	10	21.0%	EPORab - M57	10	31.5%	EPORab - M86	10	12.6%
EPORab - M29	10	13.2%	EPORab - M58	10	102.8%	EPORab - M87	10	11.5%

【 0 6 5 3 】

【表 1 2 - 1】

表 12. 操作されたEPOバリエーションアミノ酸配列

プラスミド	タンパク質	変異	配列 番号	アミノ酸配列 (シグナルペプチド配列なし)
IME002	EPO-Fc	N24Q/N38Q/N83Q	1973	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAEQITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVQS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME005	EPO-Fc	K45D	1974	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTDVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME006	EPO-Fc	N147K	1975	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSKFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME007	EPO-Fc	R150E	1976	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME008	EPO-Fc	R103A	1977	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLASLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME009	EPO-Fc	K45D/R103A	1978	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTDVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLASLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2】

プラスミド	タンパク質	変異	配列番号	アミノ酸配列 (シグナルペプチド配列なし)
IME010	EPO-Fc	N147K/R103A	1979	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLASLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME011	EPO-Fc	R150E/R103A	1980	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLASLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME012	EPO-Fc	E62R	1981	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVRVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME013	EPO-Fc	Q65A	1982	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWAGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME014	EPO-Fc	E72R	1983	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSRAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME015	EPO-Fc	R76E	1984	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLEGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME016	EPO-Fc	E62A/Q65A/E72A/R76A	1985	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVAVWAGLALLSAAVLAGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME028	EPO-Fc	N24A/N38A/N83A	1986	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAEAITTGCAEHCSLNEAITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME029	EPO-Fc	N24S/N38S/N83S	1987	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAEISTTGCAEHCSLNEISTVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVSS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME032	EPO-Fc	E62A	1988	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVAVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME033	EPO-Fc	E72A	1989	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSAAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME034	EPO-Fc	R76A	1990	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLAGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR
IME035	EPO-Fc	G151A	1991	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRAKLLKLYTGEACRTGDR
IME036	EPO-Fc	R103A/G151A	1992	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLASLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRAKLLKLYTGEACRTGDR
IME037	EPO-Fc	Q58A	1993	APPRLICDSRVLERLYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQAQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTLLRALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVYSNFLRGKLLKLYTGEACRTGDR

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 3】

プラスミド	タンパク質	変異	配列番号	アミノ酸配列 (シグナルペプチド配列なし)
IME038	EPO-Fc	L69A	1994	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLAALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME039	EPO-Fc	L80A	1995	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLAALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME040	EPO-Fc	N83A	1996	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLAALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME041	EPO-Fc	S84A	1997	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLAALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME042	EPO-Fc	S85A	1998	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLAALLSEAVLRGQALLVNS AQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME043	EPO-HSA	R103A	1999	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLAALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLASLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME044	EPO-HSA	Q65A/E72R	2000	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWAGLALLSRAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME045	EPO-HSA	Q65A/E72R/N83A	2001	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWAGLALLSRAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME046	EPO-HSA	K20A/K45A/K52A	2002	APPRLICDSRVLERYLLEAAEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTAVNIFYAWARMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME047	EPO-HSA	K140A/K152A	2003	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRALFRVYSNFLRGALKLYTGEACRTGDR
IME048	EPO-HSA	K140A/K152A/K154A	2004	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRALFRVYSNFLRGALALYTGEACRTGDR
IME049	EPO-HSA	K20A/K45A/K52A/K140A/K152A/K154A	2005	APPRLICDSRVLERYLLEAAEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTAVNIFYAWARMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRALFRVYSNFLRGALALYTGEACRTGDR
IME050	EPO-HSA	K97A/K116A	2006	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDAAVSGLRSLTTLRLALGAQAEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME051	EPO-HAS	K20A/K45A/K52A/K97A/K116A/K140A/K152A/K154A	2007	APPRLICDSRVLERYLLEAAEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTAVNIFYAWARMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDAAVSGLRSLTTLRLALGAQAEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRALFRVYSNFLRGALALYTGEACRTGDR
IME077	EPO-HSA	K45D/R103A	2008	APPRLICDSRVLERYLLEAKEAEENITTGCAEHCSLNENITVP DTDVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLASLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR

10

20

30

40

【表 1 2 - 4】

プラスミド	タンパク質	変異	配列 番号	アミノ酸配列 (シグナルペプチド配列なし)
IME085	EPO- HSA	K97A	2009	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDAAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME086	EPO- HSA	K116A	2010	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQAEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME087	EPO- HSA	K140A	2011	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRALFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME088	EPO- HSA	K152A	2012	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGALKLYTGEACRTGDR
IME089	EPO- HSA	Q58A/Q65A/E7 2R	2013	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQAQAVEVWAGLALLSRAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME090	EPO- HSA	L80A/N83A/S84 A/S85A	2014	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLALLSEAVLRGQAALVAA AQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME091	EPO- HSA	Q58A/Q65A/E7 2R/ L80A/N83A/S84 A/S85A	2015	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQAQAVEVWAGLALLSRAVLRGQAALVAA AQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME092	EPO- HSA	Q58A/L69A	2016	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQAQAVEVWQGLAALSEAVLRGQALLVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME093	EPO- HSA	Q58A/L80A	2017	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQAQAVEVWQGLALLSEAVLRGQAALVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME094	EPO- HSA	L69A/L80A	2018	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQQAVEVWQGLAALSEAVLRGQAALVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR
IME095	EPO- HSA	Q58A/L69A/L80 A	2019	APPRLICDSRVFLERYLLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVP DTKVNIFYAWKRMEVGQAQAVEVWQGLAALSEAVLRGQAALVNS SQPWEPLQLHVDKAVSGLRSLTTLRLALGAQKEAISPPDAAS AAPLRTITADTFRKLFRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGDR

【 0 6 5 4 】

10

20

30

40

50

【表 13 - 1】

表 13. 操作されたEPOバリエーション核酸配列

プラスミド	配列番号	核酸配列 (シグナルペプチドなし)
IME001 (野生型)	2020	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAGTAAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCTCCGAAACAATCACTGCTGACACTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME005	2021	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAGTAAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC

10

20

30

40

50

【表 13-2】

プラスミド	配列番号	核酸配列 (シグナルペプチドなし)
		AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME006	2022	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTGCGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME007	2023	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTGCGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC AGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME008	2024	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTGCGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME009	2025	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAGCTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTGCGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME010	2026	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTGCGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME011	2027	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTGCGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC AGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME012	2028	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTGCGGCAGCAGGCCGTACGGGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME013	2029	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA

10

20

30

40

50

【表 13-3】

プラスミド	配列番号	核酸配列 (シグナルペプチドなし)
		CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG GCAGGCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCCGTCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTGAGTGGCCTTCGACGCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTTCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME014	2030	GCCCCACCACGCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGCAGCGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCTGGCCCTGCTGTGCGGAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCCGTCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTGAGTGGCCTTCGACGCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTTCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME015	2031	GCCCCACCACGCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGCAGCGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGAGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCCGTCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTGAGTGGCCTTCGACGCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTTCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME016	2032	GCCCCACCACGCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGCAGCGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGCAGTCTGG GCAGGCTGGCCCTGCTGTGCGGAGCTGTCTGGCAGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCCGTCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTGAGTGGCCTTCGACGCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTTCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME032	2033	GCCCCACCACGCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGCAGCGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGCTGTCTGG CAGGGCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCCGTCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTGAGTGGCCTTCGACGCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTTCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME033	2034	GCCCCACCACGCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGCAGCGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCTGGCCCTGCTGTGCGGAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCCGTCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTGAGTGGCCTTCGACGCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTTCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME034	2035	GCCCCACCACGCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGCAGCGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGGCTGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCCGTCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTGAGTGGCCTTCGACGCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTTCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME035	2036	GCCCCACCACGCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGCAGCGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCCGTCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTGAGTGGCCTTCGACGCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTTCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA

10

20

30

40

50

【表 13 - 4】

プラスミド	配列番号	核酸配列 (シグナルペプチドなし)
IME036	2037	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTAGTGGCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACCTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGCAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME037	2038	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCTCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTAGTGGCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACCTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME038	2039	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTAGTGGCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACCTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME039	2040	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTAGTGGCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACCTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME040	2041	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTGCCTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTAGTGGCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACCTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME041	2042	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACGCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTAGTGGCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACCTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME042	2043	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTGCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTAGTGGCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACCTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME043	2044	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTAGTGGCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCAGAAGGAAGCCATCTCCCCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACCTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA

10

20

30

40

50

【表 13 - 5】

プラスミド	配列番号	核酸配列 (シグナルペプチドなし)
IME044	2045	CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCGCTGCAGGACAGGGGACAGA GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG GCAGGCCCTGGCCCTGCTGTGCGGAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCGAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCICGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTC CGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCGCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME045	2046	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG GCAGGCCCTGGCCCTGCTGTGCGGAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCCGCTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCGAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCGCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME046	2047	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCGCGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAGCAGTTAATTTCTATGCCTGGGCTAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCGAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCGCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME047	2048	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCGAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCGCACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAGCCCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCGCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME048	2049	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCGAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCGCACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAGCCCTGGCGCTGTACACAGGGGAGGCGCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME049	2050	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCGCGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAGCAGTTAATTTCTATGCCTGGGCTAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCGAGAAGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCGCACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAGCCCTGGCGCTGTACACAGGGGAGGCGCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME050	2051	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATGCAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCGAGCGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCGCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME051	2052	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCGCGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAGCAGTTAATTTCTATGCCTGGGCTAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGGCCCTGCAGCTGCATGTGGATGCAGCCGTCAGTGGCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCCGAGCGGAAGCCATCTCCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCGCACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCGCTGCAGGACAGGGGACAGA

10

20

30

40

【表 1 3 - 6】

プラスミド	配列番号	核酸配列 (シグナルペプチドなし)
		AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATGCAGCCGTCACTGGCCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGCGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCGCACTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAGCCCTGGCGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME077	2053	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCACGCTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTCGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCACTGGCCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME085	2054	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTCGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCACTGGCCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME086	2055	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTCGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCACTGGCCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGGCGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME087	2056	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTCGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCACTGGCCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCGCACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME088	2057	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTCGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCACTGGCCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAGCCCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME089	2058	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCCTCAGGCCGTAGAAGTCTGG GCAGGCCTGGCCCTGCTGTCGCGAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCACTGGCCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME090	2059	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCCTGCTGTCGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTGTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCACTGGCCCTTGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAGGAAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCCGCAAACTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME091	2060	GCCCCACCACGCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCACGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA

10

20

30

40

50

【表 1 3 - 7】

プラスミド	配列番号	核酸配列 (シグナルペプチドなし)
		CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGGCTCAGGCCGTAGAAGTCTGG GCAGGCCCTGGCCCTGCTGTCGCGAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCGCTTGGTCGCCCGCTGCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAAGGAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME092	2061	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGGCTCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCGCTCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAAGGAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME093	2062	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGGCTCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCGCTGTGTCGGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCGCTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAAGGAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME094	2063	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCGCTCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCGCTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAAGGAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME095	2064	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAGGAGG CCGAGAATATCAGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGAATATCACTGTCCCAGA CACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGGCTCAGGCCGTAGAAGTCTGG CAGGGCCTGGCCGCTCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCGCTTGGTCAACTCTTCCC AGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGTGGCCCTTCGCAGCCTCACCAC TCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAAGGAGCCATCTCCCTCCAGATGCGGCCCTCAGCTGCT CCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAACTCTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCTCC GGGGAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCCCTGCAGGACAGGGGACAGA
IME002	2065	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAG GAGGCCGAGCAGATCAGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGCAGATCACT GTCCCAGACACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCC GTAGAAGTCTGGCAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTG TTGGTCCAGTCTTCCCAGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGT GGCCTTCGCAGCCTCACCACCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAAGGAGCCATCTCC CCTCCAGATGCGGCCCTCAGTGTCTCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAA CTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCCGGGGAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCC TGCAGGACAGGGGACAGA
IME028	2066	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAG GAGGCCGAGGCGATCAGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGGCGATCACT GTCCCAGACACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCC GTAGAAGTCTGGCAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTG TTGGTCCGCTCTTCCCAGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGT GGCCTTCGCAGCCTCACCACCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAAGGAGCCATCTCC CCTCCAGATGCGGCCCTCAGTGTCTCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAA CTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCCGGGGAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCC TGCAGGACAGGGGACAGA
IME029	2067	GCCCCACCACGCCCTCATCTGTGACAGCCGAGTCCTGGAGAGGTACCTCTTGGAGGCCAAG GAGGCCGAGTCCGATCAGACGGGCTGTGCTGAACACTGCAGCTTGAATGAGTCCATCACT GTCCCAGACACCAAAGTTAATTTCTATGCCTGGAAGAGGATGGAGGTCGGGCAGCAGGCC GTAGAAGTCTGGCAGGGCCTGGCCCTGCTGTGCGAAGCTGTCTGCGGGGCCAGGCCCTG TTGGTCTCGTCTTCCCAGCCGTGGGAGCCCTGCAGCTGCATGTGGATAAAGCCGTCAGT GGCCTTCGCAGCCTCACCACCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAAGGAGCCATCTCC GGCCTTCGCAGCCTCACCACCTGCTTCGGGCTCTGGGAGCCAGAAAGGAGCCATCTCC

10

20

30

40

【表 1 3 - 8】

プラスミド	配列番号	核酸配列 (シグナルペプチドなし)
		CCTCCAGATGCGGGCCTCAGCTGCTCCACTCCGAACAATCACTGCTGACACTTTCGCAAA CTCTTCCGAGTCTACTCCAATTTCTCCGGGGAAGCTGAAGCTGTACACAGGGGAGGCC TGCAGGACAGGGGACAGA

【 0 6 5 5 】

50

【表 1 4 - 1】

表 14. 抗 EPOR 抗体のための VH-CDR1 配列、VH-CDR2 配列、VL-CDR1 配列および VL-CDR2 配列

クローン型 _id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 10	2068	GDSVSSNSA	2256	YYRSKWY	2444	TGTSSDVGGYN YVS	2632	EVSNRPS
クローン型 13	2069	GDSVSSNSA	2257	YYRSKWY	2445	TGTSSDVGGYN YVS	2633	DVSKRPS
クローン型 22	2070	GFTFDDY	2258	NWNGGS	2446	SGDKLGDKYAC	2634	QDSKRPS
クローン型 31	2071	GGSISSSSY	2259	YYSGS	2447	SGDVLAKKYAR	2635	KDSEKPS
クローン型 33	2072	GFTFSSY	2260	SSSSSY	2448	QGDSLRSYYAS	2636	GKNNRPS
クローン型 36	2073	GFTFNYY	2261	SSSSSY	2449	TGTSSDVGGYN YVS	2637	DVSKRPS
クローン型 42	2074	GFTFSSY	2262	WYDGSN	2450	TGTSSDVGGYN YVS	2638	EVSKRPS
クローン型 43	2075	GFTFSSY	2263	SGSGGS	2451	TGTSSDVGGYN YVS	2639	EVSNRPS
クローン型 44	2076	GYTFTSY	2264	SPYNGN	2452	TGTSSDVGGYN YVS	2640	DVSKRPS
クローン型 45	2077	GGSFSGY	2265	NHSGS	2453	QGDSLRSYYAS	2641	GKNNRPS
クローン型 47	2078	GFTFSSY	2266	WYDGSN	2454	GGNNIGSKSVH	2642	YDSRPS
クローン型 56	2079	GFSFSGS	2267	RSKPNNYA	2455	TLRSGINVGTY RIY	2643	YKSDSDKQQ GS
クローン型 58	2080	GYTFTGY	2268	NPNSGG	2456	QGDSLRSYYAS	2644	GKNNRPS
クローン型 62	2081	GYTFINY	2269	SAYSGN	2457	SGDALPKKYAY	2645	EDSKRPS
クローン型 66	2082	GFTFSSY	2270	WYDGSN	2458	TGTSSDVGGYN YVS	2646	EVSNRPS
クローン型 69	2083	GGSISSSN	2271	YHSGS	2459	TLRSGINVGTY RIY	2647	YKSDSDKQQ GS
クローン型 75	2084	GFSLSGSGV	2272	YWNDD	2460	SGDKLGDKYAC	2648	QDSKRPS
クローン型 80	2085	GFTFSSY	2273	SGSGGS	2461	SGDALPKKYAY	2649	EDSKRPS
クローン型 82	2086	GFTFSNA	2274	KSKTDGGT	2462	QGDSLRSYYAS	2650	GKNNRPS
クローン型 95	2087	GFTFSSY	2275	SSSSST	2463	TGTSSDVGGYN YVS	2651	DVSKRPS
クローン型 99	2088	GFTFDDY	2276	NWNGGS	2464	TGTSSDVGGYN YVS	2652	EVSNRPS
クローン型 102	2089	GYSFTSY	2277	YPSDSD	2465	TGTSSDVGGYN YVS	2653	DVSKRPS
クローン型 103	2090	GYTFTSY	2278	SVYNGN	2466	TGTSSDVGGYN YVS	2654	DVSKRPS
クローン型 109	2091	GDSVSSNSA	2279	YYRSKWY	2467	TGTSSDVGGYN YVS	2655	DVSKRPS
クローン型 110	2092	GGSFSGY	2280	NHSGS	2468	TLSEHSTYTI E	2656	VKSDGSHSK GD

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 2】

ノード型 _id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
ノード型 111	2093	GFTFSSY	2281	SSSSSY	2469	TLSEHSTYTI E	2657	VKSDGSHSK GD
ノード型 112	2094	GFTFSNA	2282	KSKTDGGT	2470	QGDSLRSYYAS	2658	GKNNRPS
ノード型 397	2095	GGSISSGGY	2283	YYIGI	2471	GGNNVGSKSVH	2659	YDTRPS
ノード型 398	2096	GGSISSGGY	2284	YYSGS	2472	GGNTFGSKTVH	2660	YSDRPS
ノード型 399	2097	GFTFSNA	2285	KSKTDGGT	2473	SGDALPKKYAY	2661	EDSKRPS
ノード型 400	2098	GYTFTSY	2286	NPNSGN	2474	TGTSSDVGGYN YVS	2662	EVSNRPS
ノード型 401	2099	GYTFTTY	2287	SAYNGN	2475	TGTSSDVGGYN YVS	2663	EVIKRPS
ノード型 402	2100	GFTFSSY	2288	SGSGGS	2476	SGSSSNIGSNT VN	2664	SNNQRPS
ノード型 407	2101	GFTFSNA	2289	KSKSDGGT	2477	SADALPKQYAY	2665	KDSERPS
ノード型 408	2102	GYTFTSY	2290	NPNSGN	2478	SGDALPKKYAY	2666	EDSKRPS
ノード型 409	2103	GFTFSNA	2291	KSKTDGGT	2479	SADALPKQYAY	2667	KDSERPS
ノード型 413	2104	GFTFSSY	2292	SSSSSY	2480	SGDKLGDKYAC	2668	QDSKRPS
ノード型 414	2105	GYTFTSY	2293	NPNSGN	2481	SGDKLGDKYAC	2669	QDSKRPS
ノード型 415	2106	GFTFSNA	2294	KSKTDGGT	2482	SGDKLGDKYAC	2670	QDSKRPS
ノード型 418	2107	GFTFSSY	2295	SSSSSY	2483	QGDSLRSYYAS	2671	GKNNRPS
ノード型 419	2108	GFTFSSY	2296	GTAGD	2484	TGTSSDVGGYN YVS	2672	DVSKRPS
ノード型 420	2109	EFTFRNA	2297	RSEIDGGT	2485	QGDSLRSYYAS	2673	GKNNRPS
ノード型 421	2110	GFTFSNA	2298	KSKTDGGT	2486	QGDSLRSYYAS	2674	GKNNRPS
ノード型 423	2111	GFTFSNY	2299	WYDGSN	2487	SGSSSNIGNNA VN	2675	YDDLPS
ノード型 424	2112	GFTFSDY	2300	SSSGST	2488	TGTSSDVGGYN YVS	2676	DVSKRPS
ノード型 426	2113	GYTFNTY	2301	NTYNDK	2489	SGDKLGDKHAC	2677	QDSKRPS
ノード型 427	2114	GYTFTSY	2302	SAYNGN	2490	SGDVLAKKYAR	2678	KDSERPS
ノード型 428	2115	GFTFSSY	2303	GTAGD	2491	SGDVLAKKYAR	2679	KDSERPS
ノード型 429	2116	GFTFSNA	2304	KSKTDGGT	2492	SGDVLAKKYAR	2680	KDSERPS
ノード型 430	2117	GFTFSNA	2305	KSKTDGGT	2493	SGDVLAKKYAR	2681	KDSERPS
ノード型 431	2118	GFTFSSY	2306	SSSSSY	2494	QGDRLRSYYAS	2682	GKNNRPS
ノード型 432	2119	GFTFSSY	2307	KQDGSE	2495	QGDSLRSYYAS	2683	GKNNRPS
ノード型 434	2120	RYTFTSY	2308	NPSSGGT	2496	GGNNIGSKSVH	2684	YSDRPS
ノード型 435	2121	GFTFSSY	2309	SSSSST	2497	SGDALPKKYAY	2685	EDSKRPS
ノード型 436	2122	GLTVSTN	2310	YSGGG	2498	ASSTGAVTSGY YPN	2686	STSNKHS

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 3】

クローン型 id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 437	2123	GFTFDDY	2311	NWNGGS	2499	TGTSSDVGGYN YVS	2687	EVSKRPS
クローン型 438	2124	GFTVSSN	2312	YSGGS	2500	TGTSSDVGGYN YVS	2688	DVSKRPS
クローン型 439	2125	GFTFSSY	2313	SSSSSY	2501	TGTSSDVGGYN YVS	2689	DVSKRPS
クローン型 442	2126	GFTFSSY	2314	NSDGSS	2502	SGDKLGDKYAC	2690	QDSKRPS
クローン型 443	2127	GGSISSNN	2315	YHSGS	2503	SGDKLGDKYAC	2691	QDNKRPS
クローン型 444	2128	GYTFTRN	2316	NTNIGN	2504	SGDKLGDKYAC	2692	QDSKRPS
クローン型 445	2129	GFTFSSY	2317	SSSSSY	2505	QGDSLRSYYAS	2693	GKNNRPS
クローン型 446	2130	GYTFTSY	2318	SAYNGN	2506	SGDALPKKYAY	2694	EDSKRPS
クローン型 448	2131	GFTFSSY	2319	GTAGD	2507	QGDSLRSYYAS	2695	GKNNRPS
クローン型 450	2132	GFTFSSY	2320	WYDGSN	2508	SGDALPKKYAY	2696	EDSKRPS
クローン型 451	2133	GYSFYSY	2321	YPGDSD	2509	GGNNIGSKSVH	2697	YDSDRPS
クローン型 452	2134	GFTFSNY	2322	KYDGRE	2510	SGSISNLGSNT VN	2698	SNNQRPS
クローン型 453	2135	GFTFSSY	2323	KQDGSE	2511	TGTSSDVGGYN YVS	2699	EVSKRPS
クローン型 454	2136	GYTFYSY	2324	SAYNGN	2512	TGTSSDVGGYN YVS	2700	EVSKRPS
クローン型 455	2137	GFTFSSY	2325	NSDGSS	2513	TGTSSDVGGYN YVS	2701	DVSKRPS
クローン型 456	2138	GFTVSSN	2326	YSGGS	2514	TGTSSDVGGYN YVS	2702	DVSKRPS
クローン型 457	2139	GFTFDDY	2327	SWNSGS	2515	TGTSSDVGGYN YVS	2703	EVSKRPS
クローン型 458	2140	GFTFSDY	2328	SSSGST	2516	TGSSSNIGAGY DVH	2704	GNSNRPS
クローン型 459	2141	GFTVSRN	2329	YAGGN	2517	TGSSSNIGAGY DVH	2705	GNNNRPS
クローン型 460	2142	GFTFSSY	2330	KQDGSE	2518	TLRSGINVGTY RIY	2706	YKSDSDKQQ GS
クローン型 461	2143	GFTFSSY	2331	KQDGSE	2519	TLRSGINVGTY RIY	2707	YKSDSDKQQ GS
クローン型 464	2144	GFTFSRY	2332	NIVGST	2520	RGNNIGSQNVH	2708	RNINRPS
クローン型 465	2145	GFTFSSY	2333	SSSSSY	2521	SGDALPKKYAY	2709	EDSKRPS
クローン型 466	2146	GFTFSIY	2334	KEDGSE	2522	QGDSLRSFYAS	2710	GKSNRPS
クローン型 468	2147	GYTFYSY	2335	SAYNGN	2523	QGDSLRSYYAS	2711	GKNNRPS
クローン型 469	2148	GYTFYSY	2336	NPNSGN	2524	SGDALPKKYAY	2712	EDSKRPS
クローン型 470	2149	GYTFYSY	2337	NPSGGS	2525	QGDSLRSYYAS	2713	GKNNRPS
クローン型 471	2150	GFTFSSY	2338	GTAGD	2526	SGDALPKKYAY	2714	EDSKRPS
クローン型 474	2151	GFTFSNA	2339	KSKTDGGT	2527	ASSTGAVTSGY YPN	2715	STSNKHS
クローン型 475	2152	GFTFSSH	2340	SSNGGN	2528	TGTSSDVGGYN YVS	2716	EVSNRPS

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 4】

クローン型 _id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 476	2153	GFTFSSY	2341	SSSSSY	2529	SGSSSNIGSNT VN	2717	SNNQRPS
クローン型 477	2154	GGSFSGY	2342	NHSGS	2530	TGTSSDVGGYN YVS	2718	EVSKRPS
クローン型 478	2155	GYTFTSY	2343	NPSGGS	2531	TGTSSDVGGYN YVS	2719	DVSKRPS
クローン型 479	2156	GFTFSDY	2344	SSSGST	2532	TGTSSDVGGYN YVS	2720	DVSKRPS
クローン型 480	2157	GYSFTSY	2345	YPGDSD	2533	TGTSSDVGGYN YVS	2721	EVSKRPS
クローン型 481	2158	GFTFSSY	2346	SSSSST	2534	TLRSGINVGTY RIY	2722	YKSDSDKQQ GS
クローン型 486	2159	GGSISSGGY	2347	FYSGS	2535	SGDKLGDKYAC	2723	QDSKRPS
クローン型 487	2160	GFSLSSTSGV	2348	YWNDD	2536	SADALPKQYAY	2724	KDSERPS
クローン型 488	2161	GFTFSSY	2349	SYDGSN	2537	SGDKLGDKYAC	2725	QDTKRPS
クローン型 490	2162	GFSLSSTSGV	2350	YWSDD	2538	SADALPNQYAY	2726	KDSERPS
クローン型 492	2163	GYPFTSY	2351	SAYNSN	2539	QGDSLRSYYAS	2727	GKNNRPS
クローン型 493	2164	GYSFTGY	2352	SAYNGN	2540	SGDALPKKYAY	2728	EDSKRPS
クローン型 494	2165	GYTFSSY	2353	NTNTGN	2541	QGDSLRSYYAS	2729	GKNNRPS
クローン型 495	2166	GYTFTGY	2354	NPNSGG	2542	SGDALPKKYAY	2730	EDSKRPS
クローン型 496	2167	GYTFTSY	2355	NPNSGN	2543	SGDALPKKYAY	2731	EDSKRPS
クローン型 497	2168	GYTFTSY	2356	NPNSGN	2544	SGDALPKKYAY	2732	EDSKRPS
クローン型 498	2169	GDTFSNF	2357	IPIFAT	2545	GGNNIGSKSVH	2733	YSDSRPS
クローン型 499	2170	GFTFSNA	2358	KRKTDGGT	2546	SADALPKQYAY	2734	KDSERPS
クローン型 501	2171	GDSVSSNSA	2359	YYRSKWY	2547	QGDSLRSYYAS	2735	GKNNRPS
クローン型 502	2172	GFTFNNA	2360	KSKTDGGT	2548	GSSTGAVTSGH YPY	2736	DTSNKHS
クローン型 504	2173	GFTFSNA	2361	KSKTDGGT	2549	TGTSSDVGGYN YVS	2737	EVSKRPS
クローン型 505	2174	GFTFSSY	2362	SYDGSN	2550	TGTSSDVGGYN YVS	2738	DVSKRPS
クローン型 506	2175	GFTFDDY	2363	NWNGGS	2551	TGTSSDVGGYN YVS	2739	EVSNRPS
クローン型 507	2176	GDSVSSNSA	2364	YYRSKWY	2552	TGTSSDVGGYN YVS	2740	DVSKRPS
クローン型 508	2177	GFTFDDY	2365	SWNSGS	2553	TGTSSDVGGYN YVS	2741	DVSKRPS
クローン型 509	2178	GFTFSSY	2366	SSSSNT	2554	TGTSSDVGGYN YVS	2742	EVSKRPS
クローン型 511	2179	GYTFTSY	2367	NPSGGS	2555	SGDKLGDKYAC	2743	QDSKRPS
クローン型 512	2180	GFNFSSY	2368	SNTGNT	2556	SGDVLAKKYAR	2744	KDSERPS
クローン型 513	2181	GFTFSNA	2369	KRKTDGGT	2557	SGDKLGDKYAC	2745	QDSKRPS
クローン型 514	2182	GFTFSSY	2370	NSDGSS	2558	SGDKLGDKYAC	2746	QDSKRPS

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 5】

ノ型 id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
ノ型 515	2183	GFTFSSY	2371	SGSGGS	2559	SGDALPKKYAY	2747	EDSKRPS
ノ型 517	2184	GGSISSNN	2372	YHSGS	2560	SGDALPKKYAY	2748	EDSKRPS
ノ型 518	2185	GGSISSNN	2373	YHSGS	2561	TGTSSDVGGYN YVS	2749	DVSKRPS
ノ型 519	2186	GGSISSNN	2374	YHSGS	2562	QGDLSRSYYAS	2750	GKNNRPS
ノ型 520	2187	GFTFSSY	2375	SSSSSY	2563	QGDLSRSYYAS	2751	GKNNRPS
ノ型 522	2188	GFTFSSY	2376	KQDGE	2564	QGDLSRSYYAS	2752	GKNNRPS
ノ型 523	2189	GFSLNSSGV	2377	YWNDD	2565	GGNNIGSKSVH	2753	YDSRPS
ノ型 524	2190	GYIFMNY	2378	SAYNGN	2566	QGDLSRSYYAS	2754	GKNNRPS
ノ型 526	2191	GYTFTNY	2379	NTNTGK	2567	QGDLSRSYYAS	2755	GKNNRPS
ノ型 527	2192	GYTFTDN	2380	NPNSGG	2568	QGDLSRSYYAS	2756	GKNNRPS
ノ型 528	2193	GYTFTSY	2381	NPSSGS	2569	QGDLSRSYYAS	2757	GKNNRPS
ノ型 529	2194	GFTFSSY	2382	SSSSST	2570	SGDALPKKYAY	2758	EDSKRPS
ノ型 530	2195	GFTFSNY	2383	SGSGGR	2571	QGDSFRNYYAS	2759	GKNNRPS
ノ型 531	2196	GFTFSSY	2384	SYDGSN	2572	QGDLSRSYYAS	2760	GKNNRPS
ノ型 532	2197	GYRFSNY	2385	YPGDS	2573	QGDLSRSYYAS	2761	GKNNRPS
ノ型 534	2198	GYTFTSY	2386	NTNTGN	2574	ASSTGAVTSGY YPN	2762	STSNKHS
ノ型 537	2199	GFTFSSY	2387	WYDGSN	2575	TGTSSDVGVYN FVS	2763	DVTKRPS
ノ型 538	2200	GYTFTGY	2388	NPNSGG	2576	TGSSSNIGAGY DVH	2764	VNNNRPS
ノ型 539	2201	GDSVSSNSA	2389	YYRSKWY	2577	TGTSSDVGGYN YVS	2765	DVSKRPS
ノ型 540	2202	GYTFTSY	2390	SAYNGN	2578	TGSSSNIGAGY DVH	2766	GNSNRPS
ノ型 541	2203	GFSLTSGV	2391	YWNDD	2579	TLRSGIHVDTS RIY	2767	YKSDSDKHQ DS
ノ型 542	2204	GFSLTSGV	2392	YWNDD	2580	TLRSGINVGSY RIY	2768	YKSDSDKQQ GS
ノ型 543	2205	GYTFTSY	2393	NPNSGN	2581	TLRSGINVGTY RIY	2769	YKSDSDKQQ GS
ノ型 548	2206	GFSLTSGM	2394	DWDDD	2582	QGDLSRSYYAS	2770	GKNNRPS
ノ型 549	2207	GYTFTSY	2395	SGYKGN	2583	QGDLSRSYYAS	2771	GKNNRPS
ノ型 550	2208	GDFTTNC	2396	SAYNGN	2584	QGDLSRSYYAS	2772	GKNNRPS
ノ型 552	2209	GFTFDDY	2397	SKNSGS	2585	QGDLSRSYYAS	2773	GKNNRPS
ノ型 553	2210	GFTFSSY	2398	SSSSST	2586	QGDLSRSYYAS	2774	HKNNRPS
ノ型 554	2211	GFTFSSY	2399	SGSGGS	2587	QGDLSRSYYAS	2775	GKNNRPS
ノ型 555	2212	GFTFSSY	2400	WYDGSN	2588	SGDALPKKYAY	2776	EDSKRPS

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 6】

クローン型 id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 559	2213	GYTFTGY	2401	NPNSGG	2589	TGTSSDVGGYN YVS	2777	EVSKRPS
クローン型 560	2214	GFTFSSY	2402	SSSSST	2590	TGTSSDVGGYN YVS	2778	EVSKRPS
クローン型 561	2215	GFTFSDY	2403	SSSGST	2591	ASSTGAVTSGY YPN	2779	STSNKHS
クローン型 562	2216	GYTFNSY	2404	NTNTGN	2592	TGSNSNIGAGY DIH	2780	GNSNRPS
クローン型 568	2217	GGSISSRSY	2405	YYSGS	2593	SGDVLAKKFAR	2781	KDSERPS
クローン型 569	2218	GGSISSSF	2406	YHSGS	2594	SGDALPKKYAY	2782	EDSKRPS
クローン型 573	2219	GFTFSNA	2407	KSKSDGET	2595	GGNNFGSKSVH	2783	YSDRPS
クローン型 576	2220	GGSISSY	2408	YYSGS	2596	TGTSSDVGGYN YVS	2784	AVSKRPS
クローン型 577	2221	GFTFSSY	2409	SGSGGS	2597	TGTSSDVGGYN YVS	2785	DVSKRPS
クローン型 578	2222	GFTFGDF	2410	NWNGGS	2598	TGTSSDVGGYN YVS	2786	EVNKRPS
クローン型 579	2223	GDSVSSNSA	2411	YYRSKWY	2599	TGTSSDVGGYN YVS	2787	DVSKRPS
クローン型 581	2224	GFTFSSY	2412	SSSSST	2600	TGSSSNIGAGY DVH	2788	GNSNRPS
クローン型 582	2225	GDSVSSNSA	2413	YYMSKWY	2601	TGTSSDVGSYN RVS	2789	DVSNRPS
クローン型 583	2226	GYTFTTY	2414	SAYNGN	2602	TGSDSNIGAGY DVH	2790	DNIIRPS
クローン型 586	2227	GFTFDDY	2415	NWNGGS	2603	SGDKLGDKYAC	2791	QDSKRPS
クローン型 587	2228	GDSVSSNSA	2416	YYRSKWY	2604	SGDGLSKKYAY	2792	EDSKRPS
クローン型 588	2229	AFTFSNY	2417	SSSTSY	2605	QGDSLRSYYAS	2793	GKNNRPS
クローン型 589	2230	GFTFSSY	2418	SSSSSY	2606	QGDSLRSYYAS	2794	GKNNRPS
クローン型 596	2231	GFTFSNA	2419	KSKTDGGT	2607	SGDALPKKYAY	2795	EDSKRPS
クローン型 598	2232	GFTFSSH	2420	SGSESS	2608	QGDSLRSYYAS	2796	GKNNRPS
クローン型 599	2233	GFTFSSY	2421	WYDGSN	2609	QGDSLRSYYAS	2797	GKNNRPS
クローン型 600	2234	GGSISSSSY	2422	HYSGS	2610	QGDSLRSYYAS	2798	GKNNRPS
クローン型 601	2235	GYSFSSY	2423	SGYNGN	2611	TGTSSDVGGYN YVS	2799	EVSNRPS
クローン型 602	2236	GFTFSNA	2424	KSKTDGGT	2612	TGTSSDVGGYN YVS	2800	DVSKRPS
クローン型 607	2237	GFTFSTY	2425	SSGSST	2613	QGDSLRSYYAT	2801	GRNNRPS
クローン型 608	2238	GFTFSNA	2426	KSKTDGGT	2614	GGNNIGSKSVH	2802	YSDRPS
クローン型 610	2239	GGSIITRSY	2427	YYSGN	2615	QGDSLRSYYAS	2803	GKNNRPS
クローン型 611	2240	GDSVSSNSA	2428	YYRSKWY	2616	QGDSLRSYYAS	2804	GKNKRPS
クローン型 612	2241	GFTFDDY	2429	NWNGGS	2617	TGTSSDVGGYN YVS	2805	DVSKRPS
クローン型 613	2242	GYTFTGN	2430	NPTSGV	2618	TGSSSNIGARY DVH	2806	GNSNRPS

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 7】

クローン型 _id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 616	2243	GYTFTDY	2431	NPNSGG	2619	QGDSLRSYYAS	2807	GKNNRPS
クローン型 617	2244	GGSISSRSY	2432	FYSGS	2620	TGTSSDVGGYN YVS	2808	DVSKRPS
クローン型 622	2245	GFTFSGS	2433	RSKANSYA	2621	SGDKLGDKYAC	2809	QDSKRPS
クローン型 625	2246	GGSFSGY	2434	NHSGS	2622	SGDALPKKYAY	2810	EDNKRPS
クローン型 626	2247	GGSFSGY	2435	NRSGS	2623	QGDSLRLNYYAS	2811	GKNNRPS
クローン型 629	2248	GGSISSSSY	2436	YYSGS	2624	TGTSSDVGGYN YVS	2812	EVSKRPS
クローン型 630	2249	GGSISSSSY	2437	YYSGS	2625	QGDSLRTYYAS	2813	GKNKRPS
クローン型 634	2250	GFTFRSY	2438	NQDGSE	2626	GGDNIGIKNVH	2814	DDSDRPS
クローン型 638	2251	GGSINSSNF	2439	FYSGF	2627	SGDKLGDKYTC	2815	QDIKRPS
クローン型 641	2252	GGSISSSSY	2440	YYSGS	2628	QGDSLRSYYAS	2816	GKNNRPS
クローン型 644	2253	GGSFSGY	2441	NRGGS	2629	TGTSSDVGGYN YVS	2817	EVSKRPS
クローン型 646	2254	GGSISSSGY	2442	YYSGS	2630	TGTSSDVGGYN YVS	2818	EVSNRPS
クローン型 647	2255	GGSFSGY	2443	NHSGS	2631	GSSTGAVTSGH YPY	2819	DTSNKHS

【 0 6 5 6 】

10

20

30

40

50

【表 15 - 1】

表15: 抗CD131抗体のためのVH-CDR1配列、VH-CDR2配列、VL-CDR1配列およびVL-CDR2配列

クローン型 _id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 8	2820	GGSISSSSY	2949	YYS GS	3078	TGTSSDVGGYNY VS	3207	EVS NRPS
クローン型 11	2821	GFTFSNA	2950	KSKTDGGT	3079	SGDALPKKYAY	3208	EDSKRPS
クローン型 14	2822	GFTFDDY	2951	NWNGGS	3080	TGSSSNIGAGYD VH	3209	GNS NRPS
クローン型 15	2823	GFTFSSY	2952	SSSSST	3081	SGDVLAKKYAR	3210	KDSERPS
クローン型 16	2824	GFTFSSS	2953	YTTGD	3082	SGDALPKKYAY	3211	EDSKRPS
クローン型 17	2825	GFTFSSY	2954	SGSGGS	3083	TGSSSNIGAGYD VH	3212	GNS NRPS
クローン型 25	2826	GYTFTSY	2955	SAYNGN	3084	TGTSSDVGGYNY VS	3213	EVSKRPS
クローン型 27	2827	GFTFSSY	2956	SGSGGS	3085	TGTSSDVGGYNY VS	3214	DVSKRPS
クローン型 36	2828	GGSFSGY	2957	NHSGS	3086	QGDSLRSYYAS	3215	GKNNRPS
クローン型 37	2829	GFTFSSY	2958	WYDGSN	3087	GGNNIGSKSVH	3216	YDS DRPS
クローン型 44	2830	GYTFTSY	2959	SAYNGN	3088	SGSSSNIGSNTV N	3217	SNNQRPS
クローン型 45	2831	GGSFSGY	2960	NHSGS	3089	TGTSSDVGGYNY VS	3218	EVSKRPS
クローン型 47	2832	GFTVSSN	2961	YSGGS	3090	SGSSSNIGNNAV N	3219	YDDL LPS

10

20

30

40

50

【表 15 - 2】

クローン型 _id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 52	2833	GFTFSTY	2962	SGSSSY	3091	GGNNIGSKNVH	3220	RDSNRPS
クローン型 115	2834	GFTFSSY	2963	GTAGD	3092	SGDALPKKYAY	3221	EDSKRPS
クローン型 116	2835	GYTFTTY	2964	SAYNGN	3093	TGTSSDVGGYNY VS	3222	EVIKRPS
クローン型 118	2836	GFTFSVS	2965	RSKANSYA	3094	SGDKLGDKYAC	3223	QDSKRPS
クローン型 119	2837	GFTFSNA	2966	KSKTDGGT	3095	SADALPNQYAY	3224	KDSERPS
クローン型 122	2838	GFTFDDY	2967	SWNSGS	3096	SGDALPKKYAY	3225	EDSKRPS
クローン型 123	2839	GFTFSDA	2968	KSKTDGGT	3097	SGDALPKKYAY	3226	EDSKRPS
クローン型 124	2840	GFTFDDY	2969	NWNGGS	3098	SGDALPKKYAY	3227	EDSKRPS
クローン型 125	2841	GFTVSSN	2970	YSGGS	3099	SGDALPKKYAY	3228	EDSKRPS
クローン型 126	2842	GYTFTSF	2971	SAYNDN	3100	TGTSSDVGGYNY VS	3229	EVSDRPS
クローン型 127	2843	GFTFSGS	2972	RSKANSYA	3101	TGTSSDVGGYNY VS	3230	EVSNRPS
クローン型 128	2844	GFTVSSN	2973	YSGGS	3102	TGTSSDVGGYNY VS	3231	DVSKRPS
クローン型 130	2845	GFTFSSY	2974	SSSSSY	3103	SGDVLAKKYAR	3232	KDSERPS
クローン型 132	2846	GFTFSSY	2975	GTAGD	3104	SADALPKQYAY	3233	KDSERPS
クローン型 133	2847	GFTFSSY	2976	SSSSSY	3105	SGDALPKKYAY	3234	EDSKRPS
クローン型 134	2848	GFTFSSY	2977	KQDGSE	3106	SGDALPKKYAY	3235	EDSKRPS
クローン型 135	2849	GFTFSSY	2978	SGSGGS	3107	SGDALPKKYAY	3236	EDSKRPS
クローン型 136	2850	GFTFSSY	2979	SGSGGS	3108	SGDALPKKYAY	3237	EDSKRPS
クローン型 137	2851	GFTFSSY	2980	SGSGGS	3109	SGDALPKKYAY	3238	EDSKRPS
クローン型 138	2852	GFTFSSY	2981	WYDGSN	3110	GGNNIGSKNVH	3239	RDSNRPS
クローン型 140	2853	GFPFSNS	2982	SYDGNS	3111	QGDSLRSYYAS	3240	GKNNRPS
クローン型 141	2854	GYTFTGY	2983	NPNSGG	3112	ASSTGAVTSGYY PN	3241	STSNKHS
クローン型 143	2855	GFTFSNA	2984	KSKTDGGT	3113	SGSSSNIGSNTV N	3242	SNNQRPS
クローン型 145	2856	GYTFTSY	2985	NPNSGN	3114	SGDKLGDKYAC	3243	QDSKRPS
クローン型 146	2857	GFTFSSY	2986	SYDGSN	3115	SGDKLGDKYAC	3244	QDSKRPS
クローン型 147	2858	GYSFTSY	2987	YPGDSD	3116	SGDKLGDKYAC	3245	QDSKRPS
クローン型 148	2859	GFTFSSY	2988	SSSSSY	3117	SGDALPKKYAY	3246	EDSKRPS
クローン型 150	2860	GYTFTGY	2989	NPNSGG	3118	SGDALPKKYAY	3247	EDSKRPS
クローン型 151	2861	GFTFSSY	2990	GTAGD	3119	SGDALPKKYAY	3248	EDSKRPS
クローン型 152	2862	GFTFSNA	2991	KSKTDGGT	3120	SGDALPKKYAY	3249	EDSKRPS

10

20

30

40

50

【表 15 - 3】

クローン型 id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 153	2863	GFTFSSY	2992	SGSGGS	3121	SGDALPKKYAY	3250	EDSKRPS
クローン型 154	2864	GFTFSSY	2993	SGSGGS	3122	SGDALPKKYAY	3251	EDSKRPS
クローン型 156	2865	GFTFSSY	2994	SGSGGS	3123	SGDALPKKYAY	3252	EDSKRPS
クローン型 157	2866	GFTFSSY	2995	WYDGSN	3124	QGDSLRSYYAS	3253	GKNNRPS
クローン型 158	2867	GFTFDDY	2996	NWNGGS	3125	QGDSLRSYYAS	3254	GKNNRPS
クローン型 159	2868	GYSFTSY	2997	YPGDSD	3126	SGDALPKKYAY	3255	EDSKRPS
クローン型 160	2869	GYTFTGY	2998	NPNSGG	3127	TGTSSDVGGYNY VS	3256	DVSNRPS
クローン型 161	2870	GFTFDDH	2999	TWNSNI	3128	TGTSSDVGGYNY VS	3257	EVSNRPS
クローン型 162	2871	GFTFDDY	3000	SWNSGS	3129	TGTSSDVGGYNY VS	3258	EVSNRPS
クローン型 164	2872	GFTFSSY	3001	NSDGGN	3130	TLRSGIYVGTYR IY	3259	YKSDSDKQ QGS
クローン型 165	2873	GFTFSSY	3002	KQDGSE	3131	SGDKLGDKYAC	3260	QDSKRPS
クローン型 166	2874	GYTFTSY	3003	NPNSGN	3132	SGDKLGDKYAC	3261	QDSKRPS
クローン型 167	2875	GFTFSSY	3004	WYDGSN	3133	SGDVLAKKYAR	3262	KDSERPS
クローン型 168	2876	GFTFSGS	3005	RSKANSYA	3134	SGDVLAKKYAR	3263	KDSERPS
クローン型 169	2877	GFTFSSY	3006	SSSSSY	3135	SGDALPKKYAY	3264	EDSKRPS
クローン型 170	2878	GYTLTEL	3007	DPEDGE	3136	SGDALPKKYAY	3265	EDSKRPS
クローン型 171	2879	GYTLTEL	3008	DPEDGE	3137	QGDSLRSYYAS	3266	GKNNRPS
クローン型 172	2880	GFTFSSY	3009	SSSSST	3138	SGDALPKKYAY	3267	EDSKRPS
クローン型 173	2881	GFTFSNA	3010	KSKTDGGT	3139	SGDALPKKYAY	3268	EDSKRPS
クローン型 174	2882	GFTFSSY	3011	SSSSSY	3140	ASSTGAVTSGYY PN	3269	STSNKHS
クローン型 175	2883	GFTFSSY	3012	SGSGGS	3141	TGTSSDVGGYNY VS	3270	EVSKRPS
クローン型 176	2884	GGSISSSD	3013	NHSGT	3142	TGSSSNIGAGYD VH	3271	DNNNRPS
クローン型 178	2885	GGSFSGY	3014	NHSGS	3143	QGDSLRYNYAS	3272	GKNNRPS
クローン型 179	2886	GFTFSSY	3015	KQDGSE	3144	QGDSLRSYYAS	3273	GKNNRPS
クローン型 180	2887	GFSLSTSGV	3016	YWNDD	3145	QGDSLRSYYAS	3274	GKNNRPS
クローン型 181	2888	GYTFTSY	3017	SAYNGN	3146	SGDALPKKYAY	3275	EDSKRPS
クローン型 182	2889	GFTFSRY	3018	NTAGD	3147	QGDNLRYNSVS	3276	GKNNRPS
クローン型 183	2890	GFTFSSS	3019	YTTGD	3148	SGDALPKKYAY	3277	EDSKRPS
クローン型 184	2891	GFTFSSY	3020	SSSSST	3149	SGDALPKKYAY	3278	EDSKRPS
クローン型 185	2892	GFTFSSY	3021	SGSGGS	3150	SGDALPKKYAY	3279	EDSKRPS

10

20

30

40

50

【表 15 - 4】

クローン型 id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 186	2893	GFTFSSY	3022	SYDGSN	3151	QGDSLRSYYAS	3280	GKNNRPS
クローン型 187	2894	GFTFSDY	3023	SSSGST	3152	GGNNIGSKSVH	3281	YSDRPS
クローン型 188	2895	GFTFSEY	3024	NSDGSR	3153	QGDSLRSYYAN	3282	GKNNRPS
クローン型 189	2896	GFTFSSY	3025	NSDGS	3154	QGDSLRTYYAS	3283	GKNNRPS
クローン型 190	2897	GFTFDDY	3026	SWNSGS	3155	SGDALPKKYAY	3284	EDSKRPS
クローン型 191	2898	GFTFSDY	3027	SHSGTT	3156	ASSTGAVTSGYY PN	3285	STSNKHS
クローン型 192	2899	GFTFSSY	3028	NSGYS	3157	TGTSSDVGGYNY VS	3286	EVIIRPS
クローン型 193	2900	GFTFSSY	3029	GTAGD	3158	TGTSSDVGGYNY VS	3287	EVSNRPS
クローン型 194	2901	GFTFSSY	3030	SSSSST	3159	TGTSSDVGGYNY VS	3288	EVSNRPS
クローン型 195	2902	GYTLTEL	3031	DPEDGE	3160	SGDKLGDKYAC	3289	QDSKRPS
クローン型 196	2903	GFTFSSY	3032	SSSSSY	3161	SGDALPKKYAY	3290	EDSKRPS
クローン型 198	2904	GFTFSNY	3033	WSDGSN	3162	GGNNIGSKSVH	3291	YSDRPS
クローン型 199	2905	GFTFSNA	3034	KSKTDGGT	3163	SGDALPKKYAY	3292	EDSKRPS
クローン型 200	2906	GYSFTSY	3035	YPGDSD	3164	SGDALPKKYAY	3293	EDSKRPS
クローン型 201	2907	GFTFSSY	3036	KQDGSE	3165	ASSTGAVTSGYY PN	3294	STSNKHS
クローン型 202	2908	GFSLSTSGV	3037	YWNDD	3166	TGTSSDVGGYNY VS	3295	DVSKRPS
クローン型 203	2909	GYTFSSY	3038	SAYNGN	3167	SGSSSNIGNNAV N	3296	HDVLLSS
クローン型 204	2910	YMHVVRQ	3039	NYAQKF	3168	SGSSSNIGSNTV N	3297	SNNQRPS
クローン型 205	2911	GYTFDTH	3040	NPNSGG	3169	SGSISNIGNNAV S	3298	YDDLPS
クローン型 206	2912	GFTFDDY	3041	SWNSGS	3170	TGTSSDVGGYNY VS	3299	EVS KRPS
クローン型 207	2913	GGSITSSN	3042	YHSGN	3171	SGSSSNIGAGYD VH	3300	GNNRPS
クローン型 209	2914	GFTFSSY	3043	SSSSSY	3172	SGDVLAKKYAR	3301	KDSERPS
クローン型 210	2915	GYTFTSY	3044	NTNTGN	3173	SGDKLGDKYAC	3302	QDSKRPS
クローン型 211	2916	GFTFSSY	3045	SSSSSY	3174	QGDSLRSYYAS	3303	GKNNRPS
クローン型 212	2917	GYTLTEL	3046	DPEDGE	3175	GGNNIGSKSVH	3304	YSDRPS
クローン型 213	2918	GYTVTRH	3047	NTNTGT	3176	QGDSLRSYYAS	3305	GKNNRPS
クローン型 214	2919	GYAFRGQ	3048	RPNSGD	3177	QGDSLRSYYAS	3306	GKNNRPS
クローン型 215	2920	GFTFSDS	3049	RGKPNTYA	3178	TGTSSDVGGYNY VS	3307	DVSKRPS
クローン型 217	2921	GFSLSTSGV	3050	YWNDD	3179	SGDKLGDKYAC	3308	QDSKRPS
クローン型 218	2922	GYTFTSY	3051	SAYNGN	3180	SGDKLGDKYAC	3309	QDSKRPS

10

20

30

40

50

【表 15 - 5】

クローン型 id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR2 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 219	2923	GFTFDDY	3052	SWNSGS	3181	SGDKLGDKYAC	3310	QDSKRPS
クローン型 220	2924	GFTFDDY	3053	SRNSGS	3182	GENNIVNKNVH	3311	RDGNRPS
クローン型 223	2925	GFTFSNA	3054	KSKTDGGT	3183	SGDALPKKYAY	3312	EDSKRPS
クローン型 225	2926	GDSVSSNSA	3055	YYRSKWY	3184	SGDALPKKYAY	3313	EDSKRPS
クローン型 226	2927	GYTFTRN	3056	DTHTGN	3185	SGSSSNIERTAV N	3314	SNDQRPL
クローン型 228	2928	GYTFTTY	3057	SAYNGN	3186	TGNSSNIGADYD VQ	3315	ANIIRPS
クローン型 230	2929	GFTFSSY	3058	KQDGSE	3187	SGDALPKKYAY	3316	EDSKRPS
クローン型 232	2930	GYTFTSY	3059	SAYNGN	3188	SGDALPKKYAY	3317	EDSKRPS
クローン型 234	2931	GFTFSNA	3060	KSKTDGGT	3189	QGDSLRSYYAS	3318	GKNNRPS
クローン型 236	2932	GDSVSSNSA	3061	YYRSKWY	3190	SGDALPKKYAY	3319	EDSKRPS
クローン型 242	2933	GFTFSTY	3062	SSRSSY	3191	SGDALPKKYAY	3320	EDSKRPS
クローン型 245	2934	GYSFTGY	3063	NPNSGG	3192	QGDSLRSYYAS	3321	GKNNRPS
クローン型 247	2935	GGSISSSSY	3064	YYSGS	3193	SGDALPKKYAY	3322	EDSKRPS
クローン型 248	2936	GDSVSSNSA	3065	YYRSKWY	3194	GGNNIGSKSVH	3323	YSDRPS
クローン型 249	2937	GDSVSSNSA	3066	YYRSKWY	3195	SGDALPKKYAY	3324	EDSKRPS
クローン型 251	2938	GGSFSGH	3067	NHSGF	3196	TGTSSDVGVYNY VS	3325	EVSNRPS
クローン型 252	2939	GDSVSSNSA	3068	YYRSKWY	3197	TGTSSDVGGYNY VS	3326	EVSNRPS
クローン型 255	2940	GFIFSSY	3069	SGSSSF	3198	QGDSLRSYYAS	3327	GKNNRPS
クローン型 261	2941	GFDFRNA	3070	KSKTDGGS	3199	TGSSSNIGAGYA VH	3328	GNINRPS
クローン型 262	2942	RFTFSSA	3071	KTKTEGGT	3200	SCSGSSSNIGAG YA	3329	IYGNLNR
クローン型 263	2943	GGSISSSSY	3072	YYSGS	3201	TLRSGINVTYR IY	3330	YKSDSDKQ QGS
クローン型 264	2944	GGSISSSSY	3073	YYSGS	3202	SGDKLGDKYAC	3331	QDSKRPS
クローン型 266	2945	GGSFSGY	3074	NHSGS	3203	GGNNIGSKSVH	3332	YSDRPS
クローン型 269	2946	GGSISSSSY	3075	YYSGS	3204	SGDALPKKYAY	3333	EDSKRPS
クローン型 270	2947	GGSFSGY	3076	NHSGS	3205	SGDKLGDKYAC	3334	QDSKRPS
クローン型 272	2948	GYTFTSY	3077	NPKNKY	3206	TGSSSNIGAGYD VH	3335	GNSNRPS

【 0 6 5 7 】

10

20

30

40

50

【表 16 - 1】

表 16: EPOR/CD131 結合剤のための VH-CDR1 配列、VH-CDR2 配列、VL-CDR1 配列および VL-CDR2 配列

クローン型 id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 7	3336	GYTFTSY	3472	NPNSGN	3608	SGDKLGDKYAC	3744	QDSKRPS
クローン型 9	3337	GGTFSSY	3473	IPIFGT	3609	TGTSSDVGGYNY VS	3745	DVSKRPS
クローン型 14	3338	GGSISSSSY	3474	YYSGS	3610	TGTSSDVGGYNY VS	3746	DVSKRPS
クローン型 15	3339	GFTFSSY	3475	SSSSTY	3611	TGTSSDVGGYNY VS	3747	EVSNRPS
クローン型 17	3340	GFTFSSY	3476	GTAGD	3612	GGNNIGSKNVH	3748	RDSNRPS
クローン型 19	3341	GFTFSDY	3477	SSSGST	3613	TGTSSDVGGYNY VS	3749	EVSNRPS
クローン型 22	3342	GFTFSTD	3478	SGSSSY	3614	SGDALPKKYAY	3750	EDSKRPS
クローン型 29	3343	GFTVSSN	3479	YSGGS	3615	TGTSSDVGGYNY VS	3751	EVSKRPS
クローン型 32	3344	GGSISSSSY	3480	YYSGS	3616	TLSEHSTYTIE	3752	VKSDGSHSK GD
クローン型 38	3345	GYTFTSY	3481	SAYNGN	3617	GGNNIGSKSVH	3753	YSDRPS
クローン型 42	3346	GFTFSSY	3482	KQDGSE	3618	SGDKLGDKYAC	3754	QDSKRPS
クローン型 43	3347	GYTFTSY	3483	NPNSGN	3619	SGDKLGDKYAC	3755	QDSKRPS
クローン型 44	3348	GFTFSSY	3484	GTAGD	3620	GGNNIGSKNVH	3756	RDSNRPS
クローン型 45	3349	GFTFSSY	3485	SSSSSY	3621	SGDVLAKKYAR	3757	KDSERPS
クローン型 56	3350	GFTFSSY	3486	SSSSSY	3622	SGDALPKKYAY	3758	EDSKRPS
クローン型 57	3351	GYTFISY	3487	NTNTGN	3623	GSSTGAVTSGHY PY	3759	DTSNKHS
クローン型 65	3352	GFTVSSN	3488	YSGGS	3624	TGTSSDVGGYNY VS	3760	EVSNRPS
クローン型 68	3353	GFTFSSY	3489	SSSSSY	3625	TGTSSDVGGYNY VS	3761	EVSKRPS
クローン型 70	3354	GFTVSSN	3490	YSGGS	3626	TGSSSNIGAGYD VH	3762	GNSNRPS
クローン型 72	3355	GDSVSSNSA	3491	YYRSKWY	3627	TGTSSDVGGYNY VS	3763	DVSKRPS
クローン型 74	3356	GYSFSSY	3492	YPGDS	3628	EGDNIGSESVH	3764	FDSRPS
クローン型 215	3357	GFTFSSY	3493	NSDGSS	3629	TGTSSDVGGYNY VS	3765	EVSNRPS
クローン型 216	3358	GFTFSSY	3494	KQDGSE	3630	SGDALPKKYAY	3766	EDSKRPS
クローン型 219	3359	GGSISSY	3495	YYSGS	3631	SGDVLAKKYAR	3767	KDSERPS
クローン型 221	3360	GFTFINA	3496	KSKTDGGT	3632	SADALPNQYAY	3768	KDSERPS
クローン型 223	3361	GFTFSNA	3497	KSKTDGGT	3633	SADALSKQYAY	3769	KDSERPS
クローン型 224	3362	GFTFSNA	3498	KSKTDGGT	3634	SGDALPKKYAY	3770	EDSKRPS
クローン型 225	3363	GYTFTSY	3499	SAYNGN	3635	TGTSSDVGGYNY VS	3771	EVSNRPS
クローン型 226	3364	GFTFSTY	3500	SGGGGS	3636	TGTSSDVGGYNY VS	3772	EVSNRPS
クローン型 228	3365	GFTFSSY	3501	GTAGD	3637	SGDALPKKYAY	3773	EDSKRPS

10

20

30

40

50

【表 16 - 2】

クローン型 id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 229	3366	GFTFSRY	3502	NQDGSE	3638	TGTSSDVGGYDY VS	3774	GVSNRPS
クローン型 230	3367	GFTFSRC	3503	GAAGD	3639	TLRSGINVGTYR IY	3775	YKSDSDKQQ GS
クローン型 231	3368	GFTFINY	3504	WYDGSN	3640	SGDVLAKKYAR	3776	KDSERPS
クローン型 232	3369	GFTFSSY	3505	NSDGSS	3641	SGDVLAKKYAR	3777	KDSERPS
クローン型 233	3370	GFTFDDY	3506	SWNSGS	3642	SGDALPKKYAY	3778	EDSKRPS
クローン型 234	3371	GYTFTSY	3507	SAYNGN	3643	SGDALPKKYAY	3779	EDSKRPS
クローン型 235	3372	GYTFTSY	3508	NPSGGS	3644	QGDSLRSYYAS	3780	GKNNRPS
クローン型 236	3373	GFTFSSY	3509	GTAGD	3645	QGDSLRSYYAS	3781	GKNNRPS
クローン型 237	3374	GFTFSSY	3510	SGSGGS	3646	SGDALPKKYAY	3782	EDSKRPS
クローン型 238	3375	GFTFSSY	3511	WYDGSN	3647	SGDALPKKYAY	3783	EDSKRPS
クローン型 239	3376	GFSFSSH	3512	SGISNY	3648	TGTNNDVGYYNY VS	3784	DVIKRPS
クローン型 240	3377	GFTFSSY	3513	SGSGGN	3649	TGTSSDVGGYNY VS	3785	EVSKRPS
クローン型 241	3378	GYTFTSY	3514	NPSGGT	3650	TGTSSDVGNYYNY VS	3786	EVIYRPS
クローン型 242	3379	GFTFSSY	3515	KQDGSE	3651	TGSSSNIGAGYD VH	3787	GNSNRPS
クローン型 243	3380	GYTFTSY	3516	SAYNGN	3652	TGTSSDVGGYNY VS	3788	DVSKRPS
クローン型 244	3381	GYTFTNY	3517	SAYNGN	3653	TGTSSDVGGYNY VS	3789	DVSKRPS
クローン型 246	3382	GFTFSSY	3518	SSSSST	3654	QGDSLRSYYAS	3790	GKNNRPS
クローン型 247	3383	GFTFSSY	3519	GTAGD	3655	SGEALPKKYAY	3791	KDSERPS
クローン型 249	3384	GYTFTSY	3520	IPNSGN	3656	TGTSSDVGGYNY VS	3792	EVSHRPS
クローン型 250	3385	GYTFTSY	3521	NPSGGS	3657	TGTSSDVGGYNY VS	3793	EVSNRPS
クローン型 251	3386	GFTFSNA	3522	KSKTDGGT	3658	TGTSSDVGGYNY VS	3794	DVTTRPS
クローン型 252	3387	GFTFSNY	3523	WYDGNN	3659	TGTSSDVGGYNY VS	3795	EVSNRPS
クローン型 253	3388	GFTFSSY	3524	WYDGSN	3660	TGTSSDVGGYNY VS	3796	EVSNRPS
クローン型 254	3389	GFTFDDY	3525	NWNGGS	3661	TGTSSDVGGYNY VS	3797	EVSKRPS
クローン型 255	3390	GFTFSSY	3526	SSSSSY	3662	TGTSSDVGGYNY VS	3798	EVSKRPS
クローン型 256	3391	GFTFSSY	3527	SGSGGS	3663	TGTSSDVGGYNY VS	3799	EVSNRPS
クローン型 259	3392	GFTFSSY	3528	GTAGD	3664	SGDKLGDKYAC	3800	QDSKRPS
クローン型 260	3393	GFPFDDF	3529	NWNGGT	3665	SGDVLAKKYAR	3801	KDSERPS
クローン型 262	3394	GFSISIN	3530	SSSSTY	3666	SGDALPKKYAY	3802	EDSKRPS
クローン型 264	3395	GFTFSSY	3531	NSDGSS	3667	QGDSLRSYYAS	3803	GKNNRPS

10

20

30

40

50

【表 16-3】

クローン型 _id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 265	3396	GFTFSTY	3532	SSSSTY	3668	TGTSSDVGGYNY VS	3804	EVSNRPS
クローン型 266	3397	GFTFSSY	3533	SGSGGS	3669	TGSSSNIGAGYD VH	3805	GNSNRPS
クローン型 270	3398	GYTFTTY	3534	SGYSGY	3670	SRDKLGDKYAC	3806	QDSKRPS
クローン型 271	3399	GFTFSSY	3535	SRSSGT	3671	SGDKLGDRYAC	3807	QGSKRPS
クローン型 272	3400	GFTFNRY	3536	SSSSDT	3672	QGDSLRSYYAS	3808	GKNNRPS
クローン型 273	3401	GGSISSSN	3537	YHSGS	3673	SGDKLENKYTC	3809	QDNKRPS
クローン型 274	3402	GFTFSIY	3538	NLDGSE	3674	QGDNIIRNYAS	3810	GKNNRPS
クローン型 275	3403	GFTFSGY	3539	KHDGSE	3675	QGDSLRRYYAS	3811	GKDNRPS
クローン型 276	3404	GYTFTTY	3540	SAFNGN	3676	QGDSLRSYYAS	3812	GKNNRPS
クローン型 277	3405	GFTFSSY	3541	GTAGD	3677	SGDALPKKYAY	3813	EDSKRPS
クローン型 278	3406	GFTFSNA	3542	KSKTDGGT	3678	SGDALPKKYAY	3814	EDSKRPS
クローン型 279	3407	GFTFSSY	3543	SGGGGS	3679	SGDALPKKYAY	3815	EDSKRPS
クローン型 280	3408	GFTFSSY	3544	WYDGSN	3680	SGDALPKKYAY	3816	EDIKRPS
クローン型 281	3409	GFTFSSY	3545	SSSSSY	3681	TGTSSDVGGYNY VS	3817	DVSKRPS
クローン型 282	3410	GFTFSSY	3546	SSSSSY	3682	TGTSSDVGGYNY VS	3818	DVSKRPS
クローン型 283	3411	GYTFTGY	3547	NPNSGG	3683	TGTSSDVGGYNY VS	3819	EVSKRPS
クローン型 284	3412	GFTFSNA	3548	KSKTDGGT	3684	TGTSSDVGGYNY VS	3820	EVSNRPS
クローン型 286	3413	GYTFTGY	3549	NPNSGG	3685	SGDKLGDKYAC	3821	QDSKRPS
クローン型 287	3414	GYTFTSY	3550	NPNSGN	3686	SGDKLGDKYAC	3822	QDSKRPS
クローン型 288	3415	GFTFSNA	3551	KSKTDGGT	3687	SGDVLAKKYAR	3823	KDSERPS
クローン型 289	3416	GFTFSGY	3552	KQDGSD	3688	SGDALPQKYAF	3824	EDSERPS
クローン型 290	3417	GYTFTSY	3553	NPNSGN	3689	SGDALPKKYAY	3825	EDSKRPS
クローン型 291	3418	GFTFSSY	3554	WYDGSN	3690	SGDALPKKYAY	3826	EDSKRPS
クローン型 292	3419	GGISIDY	3555	SSRGR	3691	QGDSLRSYYAS	3827	GKNNRPS
クローン型 293	3420	GFTFSSD	3556	GSSSSY	3692	QGDSLRYNYAS	3828	GKNNRPS
クローン型 294	3421	GFTFSSY	3557	SSSSSY	3693	QGDSLRSYYAS	3829	GKNNRPS
クローン型 295	3422	GFTFSSY	3558	SSSSSY	3694	SGDALPKKYAY	3830	EDSKRPS
クローン型 296	3423	GYTFTSY	3559	SAYNGN	3695	QGDSLRSYYAS	3831	GKNNRPS
クローン型 297	3424	GYTFTDH	3560	NPNSGG	3696	QGDSLRSYYAS	3832	GKNNRPS
クローン型 298	3425	GYTFTGY	3561	NPNSGG	3697	QGDSLRSYYAS	3833	GKNNRPS

10

20

30

40

50

【表 16 - 4】

クローン型 _id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 300	3426	GFTFSSY	3562	NSDGSN	3698	QGDSLRSYYAS	3834	GQNNRPS
クローン型 301	3427	GDNVSSNSA	3563	YYRSKWY	3699	QGDSLRSYYAS	3835	GKNNRPS
クローン型 302	3428	GYTFTSY	3564	SAYNGN	3700	SGSSSNIGYNAV N	3836	HDDL LPS
クローン型 303	3429	GYTFGTGY	3565	NPNSGG	3701	TGTSSDVGGYNY VS	3837	DVSKRPS
クローン型 304	3430	GFTFSRY	3566	ISSTSY	3702	TGSSSNIGARYD VH	3838	DNSDRPS
クローン型 305	3431	GFTFDEY	3567	SWNSGS	3703	TGSSSNIGAGYD VH	3839	GNSNRPS
クローン型 306	3432	GFTFSSY	3568	WYDGSN	3704	TGSSSNIGAGYD VH	3840	GNSNRPS
クローン型 307	3433	GFSISTSGV	3569	FWNDD	3705	TLRSGINVGTSR IY	3841	YKSDSDKHQ DS
クローン型 308	3434	GFTFDDY	3570	NWNGGS	3706	TLRSGINVGTYR IY	3842	YKSDSDKQ GS
クローン型 309	3435	GYTFTSY	3571	NPNSGN	3707	SGAKLGDKYAC	3843	QDRKRPS
クローン型 310	3436	GFTFSSY	3572	SSSSSY	3708	SGDALPKKYAY	3844	EDSKRPS
クローン型 316	3437	GFTFSSY	3573	KQDGSE	3709	QGDSLRSYYAS	3845	GKNNRPS
クローン型 318	3438	GDSVSSNSA	3574	YYRSKWY	3710	SGDKLGDKYAC	3846	QDSKRPS
クローン型 319	3439	GFTFSTY	3575	SSSSTY	3711	QGDSLRSYYAS	3847	GKNNRPS
クローン型 320	3440	GFSLSTSGM	3576	DWDDD	3712	SGDALPKKYAY	3848	EDSKRPS
クローン型 322	3441	EFIFRSY	3577	SISSRT	3713	SGDALPKKYAY	3849	EDSKRPS
クローン型 323	3442	GFTFSDY	3578	SSSGST	3714	SGDALPKKYAY	3850	EDSKRPS
クローン型 326	3443	GFTFSSY	3579	SSSSST	3715	TGSSSNIGAGYD VH	3851	GNSNRPS
クローン型 327	3444	GYTFTSY	3580	NPNSGN	3716	TLRSGINVGTYR IY	3852	YKSDSDKQ GS
クローン型 328	3445	GGSISSGGY	3581	YYSGS	3717	SGDKLGDKYAC	3853	QDSKRPS
クローン型 333	3446	GFTFSSY	3582	KQDGSE	3718	QGDSLRRYYAS	3854	GKNNRPS
クローン型 339	3447	GFTFSSY	3583	SSSSST	3719	SGDALPKKYAY	3855	EDSKRPS
クローン型 340	3448	GFTFSSY	3584	SGSGGS	3720	SGDALPKKYAY	3856	EDSKRPS
クローン型 341	3449	GFTFSSY	3585	WYDGSN	3721	GGNNIGGKSVH	3857	YNRDRPS
クローン型 342	3450	GFTFRNA	3586	KTKTDGGA	3722	SGSNSNIGFNTV N	3858	SNNQRPS
クローン型 343	3451	GYTFTSY	3587	SAYNGN	3723	TGTSSDVGGYNY VS	3859	EVSKRPS
クローン型 345	3452	GDSVSSNSA	3588	YYRSKWY	3724	TGTSSDVGGYNY VS	3860	EVSKRPS
クローン型 349	3453	GFTFSSY	3589	SSSSSY	3725	SGDKLGDKYAC	3861	QDNKRPS
クローン型 350	3454	GFTFSSY	3590	SSSTST	3726	SGDKLGDKYAC	3862	QDIKRPS
クローン型 351	3455	GFTFSNA	3591	KSKTDGGT	3727	SGDKLGDKYAC	3863	QDSMRPS

10

20

30

40

50

【表 16 - 5】

クローン型 _id	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	HCDR1 AA	配列番号	LCDR1 AA	配列番号	LCDR2 AA
クローン型 352	3456	GDSVSSNSA	3592	YYRSKWY	3728	SGDKLGDKYAC	3864	QDSKRPS
クローン型 356	3457	GFTFSSY	3593	KQDGSE	3729	SGDALPKKYAY	3865	EDSKRPS
クローン型 358	3458	GGSIITRSY	3594	YYSGN	3730	SGDALPKKYAY	3866	EDSKRPS
クローン型 359	3459	GGSISTRYS	3595	YYSGS	3731	SGSSSNIGINTV N	3867	FNNQRPS
クローン型 360	3460	GGSFSGH	3596	NHSGF	3732	ASSTGAVTSGYY PN	3868	STSNKHS
クローン型 361	3461	GGFLRGY	3597	NHSGS	3733	TGTSSDVGGYNY VS	3869	DVSKRPS
クローン型 363	3462	GYIFSNY	3598	NPYNVN	3734	SGNLLAKKYPR	3870	TDCERPS
クローン型 364	3463	GFTFSSY	3599	SSSSSY	3735	QGDSLRSYYAS	3871	GKNNRPS
クローン型 365	3464	GFTFTSY	3600	TPSGGT	3736	SGDALPKKYAY	3872	EDSKRPS
クローン型 366	3465	GGSISTRYS	3601	FYSGS	3737	TGTSSDVGGYNY VS	3873	EVSKRPS
クローン型 367	3466	GGSFVSY	3602	NHSGS	3738	SGSSSNIGSKTV N	3874	SSNQRPS
クローン型 368	3467	GGSISSIIY	3603	YYSGS	3739	GENNIGSRNVH	3875	RDSDRPS
クローン型 369	3468	GGSFSGY	3604	NHSGN	3740	QGDSLRSYYAS	3876	GKNNRPS
クローン型 370	3469	GGSFSGY	3605	NHSGS	3741	SGDALPKKYAY	3877	EDSKRPS
クローン型 379	3470	GYTFITY	3606	SAYNGN	3742	TGTSSDVGGYNY VS	3878	DVSKRPS
クローン型 380	3471	GYTFITY	3607	SSYNGN	3743	TGTSSDVGGYNH VS	3879	DVSKRPS

【0658】

特定の実施形態を、説明および記載したが、さまざまな改変をそれらに対して行ってもよく、それが本明細書で企図されることが理解される。本開示が、本明細書に提供される特定の例によって限定されないことも理解される。本明細書における本開示の実施形態および例の記載および説明は、限定の意味で解釈されることを意図するものではない。本開示のすべての態様が、各種の条件および変数に依存し得る、本明細書に示される特定の表現、構成または相対割合に限定されないことがさらに理解される。本開示の実施形態および例の形態および詳細におけるさまざまな改変および変形は、当業者に明らかであろう。したがって、本開示が、ありとあらゆるそのような改変、変形および等価物も包含することが企図される。

【図面】

【図 1】

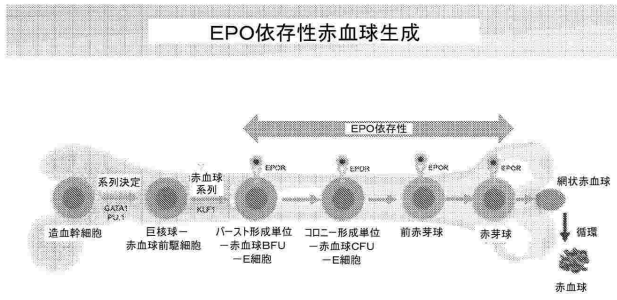


FIG. 1

【図 2】

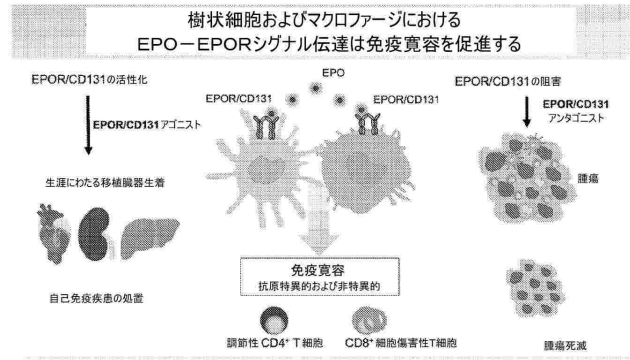


FIG. 2

【図 3】

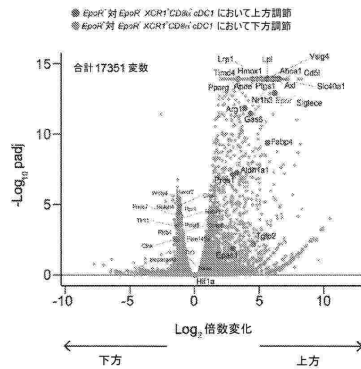


FIG. 3A

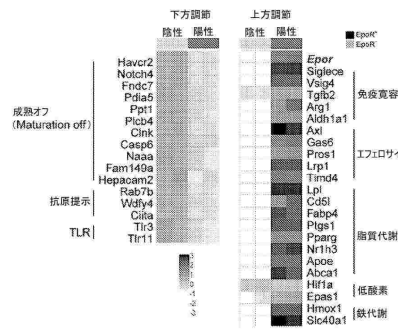


FIG. 3B

【図 4】

DCにおけるEPOR発現

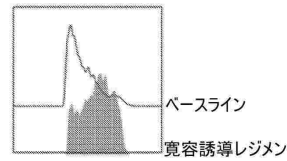


FIG. 4A

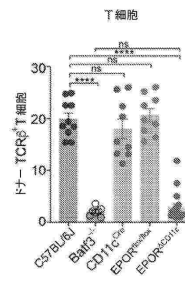


FIG. 4B

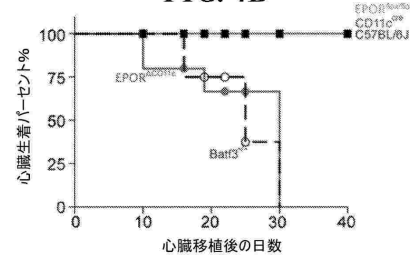


FIG. 4C

10

20

30

40

50

【図 5】

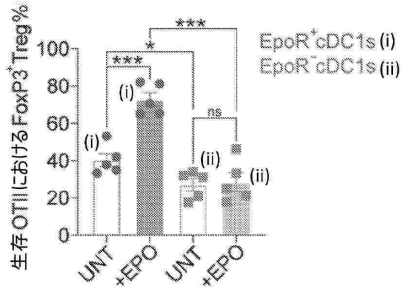


FIG. 5A

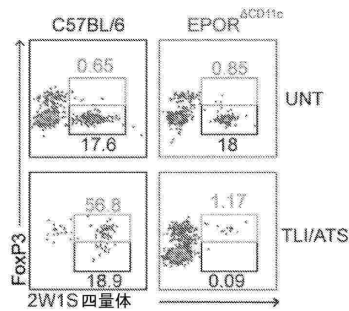


FIG. 5B

【図 6】

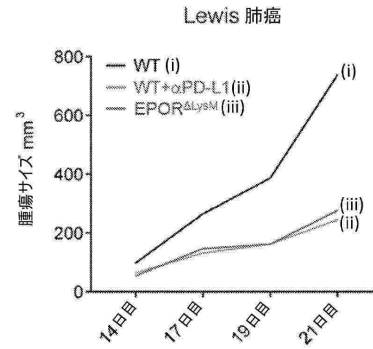


FIG. 6A

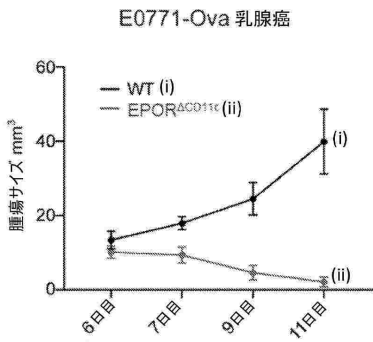


FIG. 6B

【図 7】

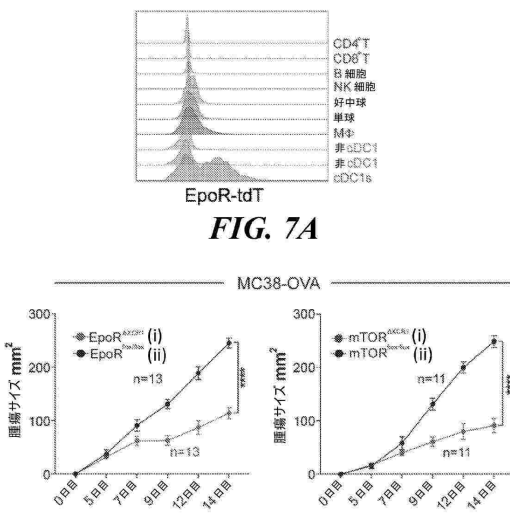


FIG. 7B

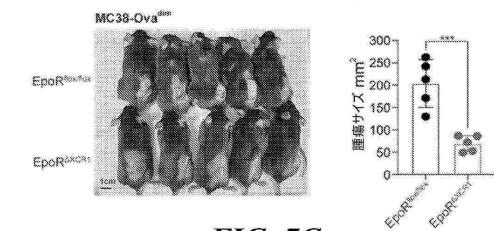


FIG. 7C

【図 8】

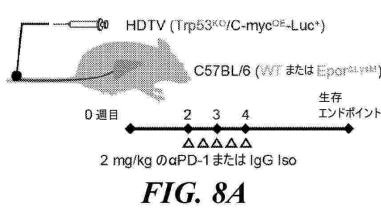


FIG. 8A

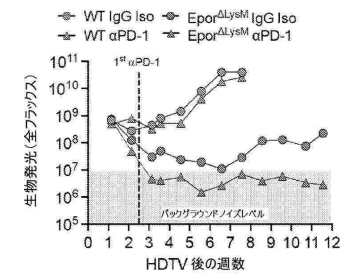


FIG. 8B

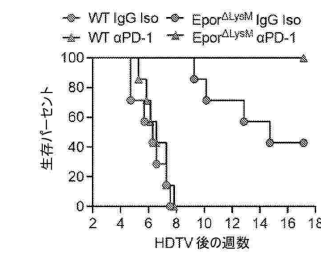


FIG. 8C

10

20

30

40

50

【図 9】

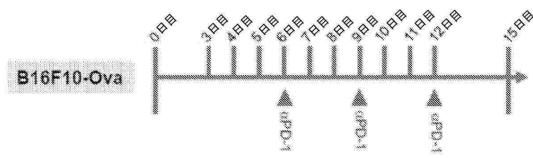


FIG. 9A

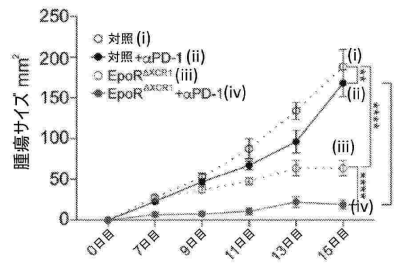


FIG. 9B

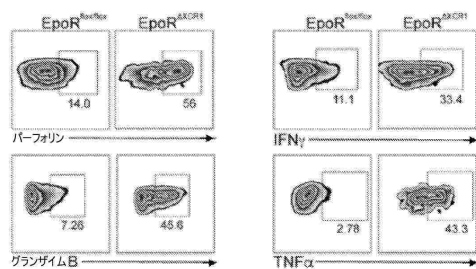


FIG. 9C

【図 11】

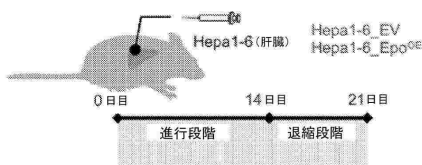


FIG. 11A

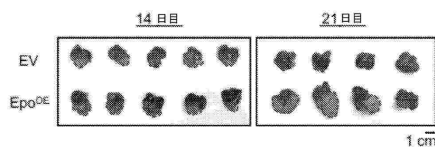


FIG. 11B

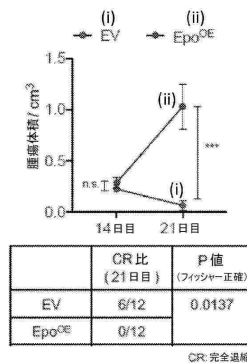


FIG. 11C

【図 10】

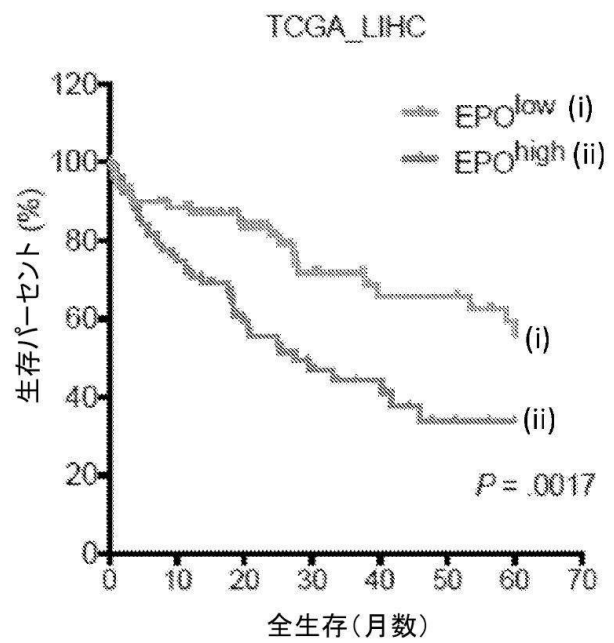


FIG. 10

【図 12】

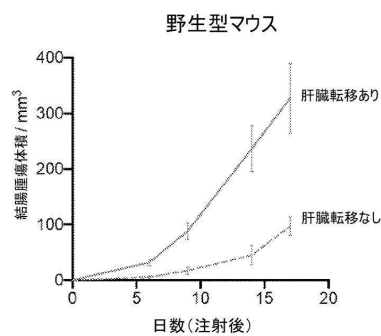


FIG. 12A

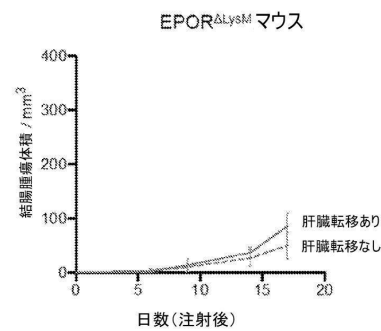


FIG. 12B

10

20

30

40

50

【図 13】

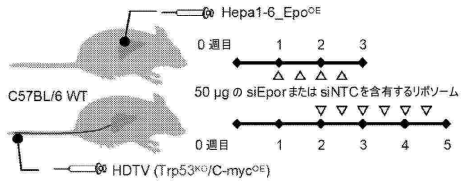


FIG. 13A

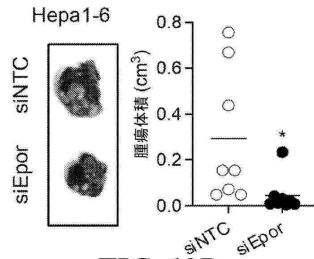


FIG. 13B

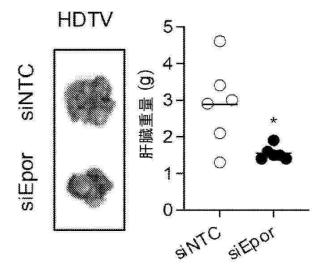


FIG. 13C

【図 14】

DSPC:DPPC:コレステロール:DSPE-PEG-NH₂ (1:1:0.5:0.4)

Z 平均 (nm)	245 ± 13
多分散指数	0.18 ± 0.05
封入効率 (%)	81.7 ± 3.54
siRNA:NP 1:40 w/w	

FIG. 14A

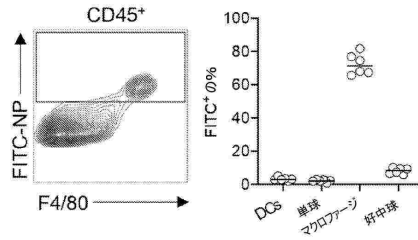


FIG. 14B

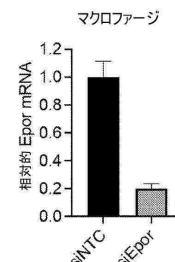


FIG. 14C

【図 15 A】

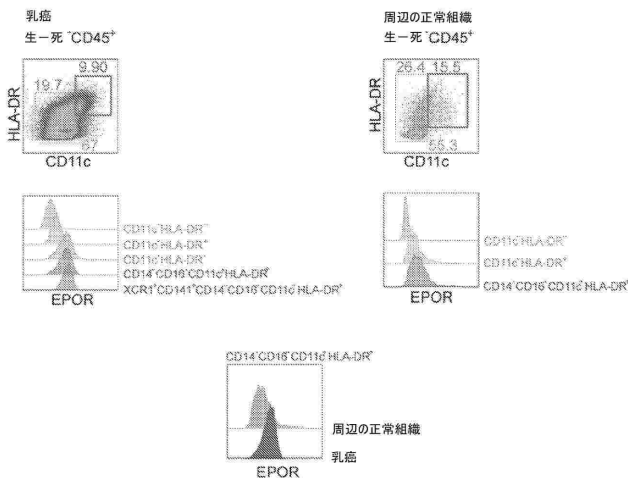


FIG. 15A

【図 15 B】

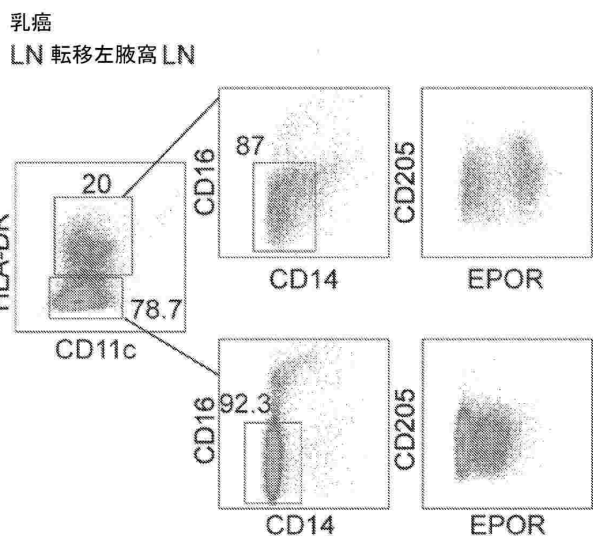


FIG. 15B

10

20

30

40

50

【図 16】

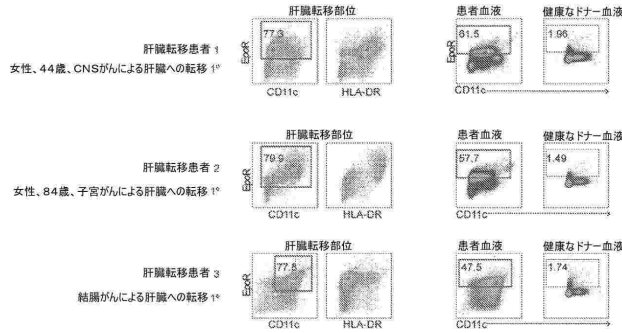


FIG. 16A

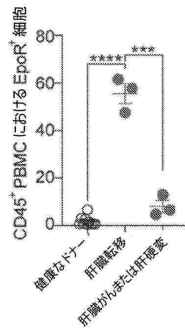


FIG. 16B

【図 17】

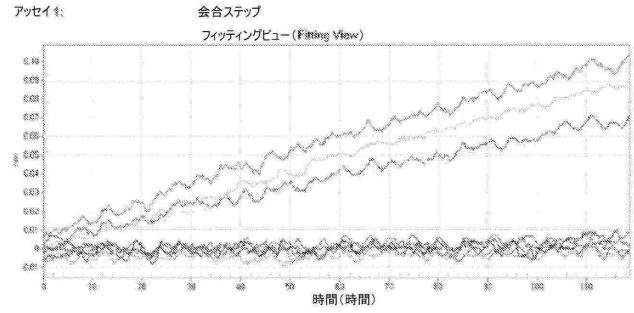


FIG. 17

【図 18】

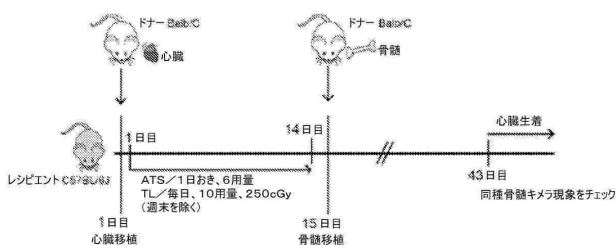


FIG. 18A

【図 19】

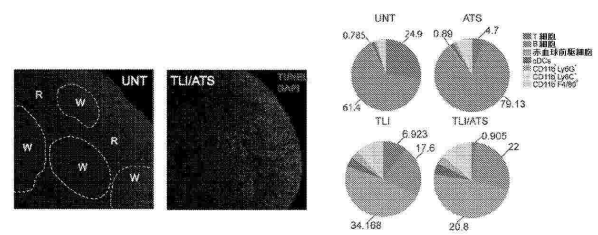


FIG. 19A

FIG. 19B

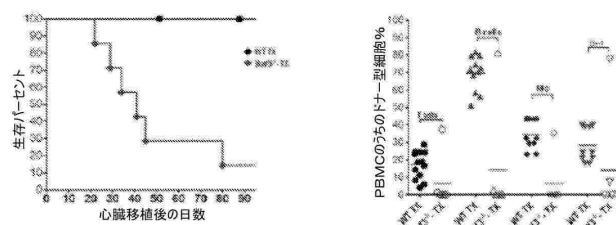


FIG. 18B

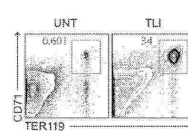


FIG. 19C

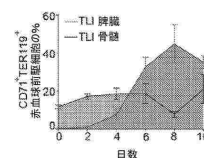


FIG. 19D

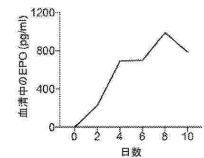


FIG. 19E

10

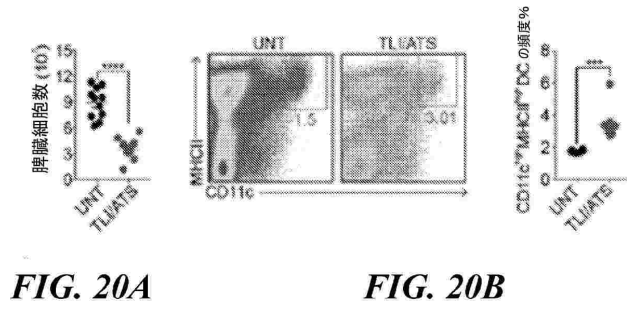
20

30

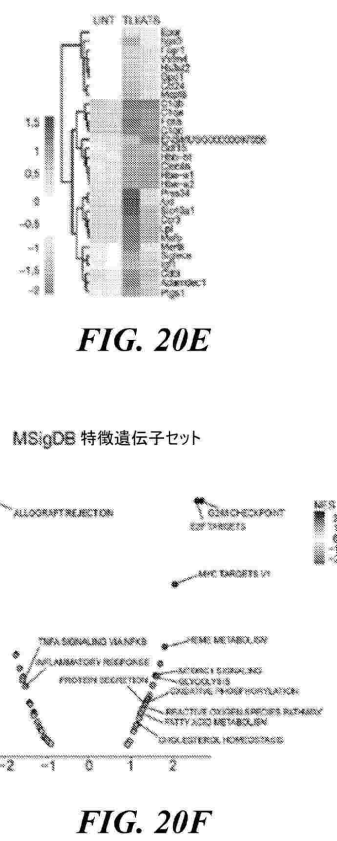
40

50

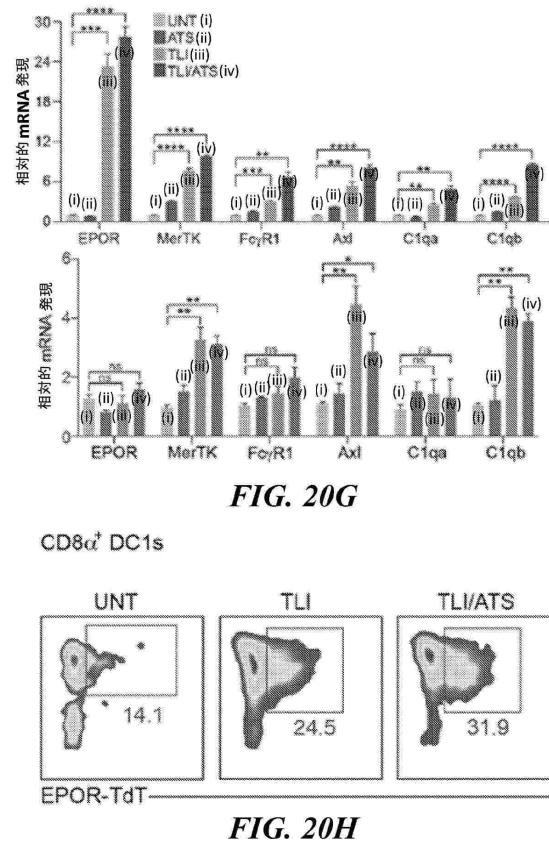
【図 20A - D】



【図 20E - F】



【図 20G - H】



【図 21】

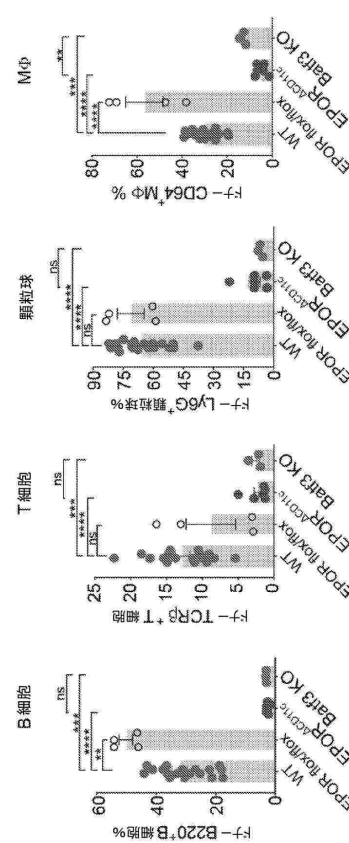


FIG. 21

10

20

30

40

50

【図 2 2】

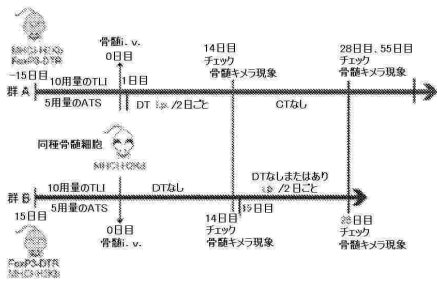


FIG. 22A

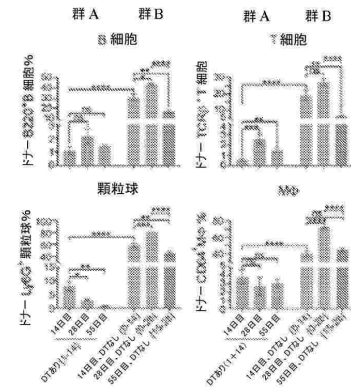


FIG. 22B

【図 2 4】

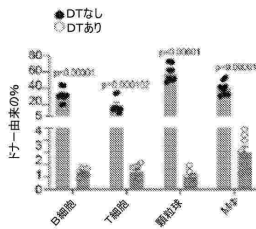


FIG. 24A

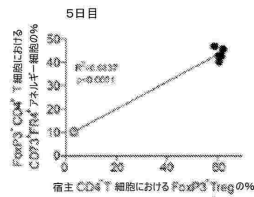


FIG. 24D

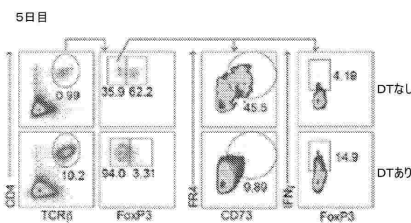


FIG. 24B

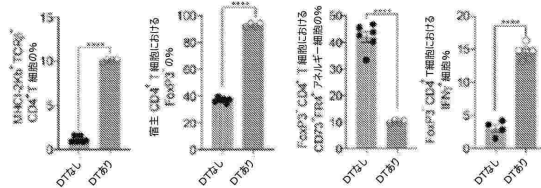


FIG. 24C

【図 2 3】

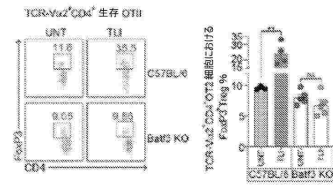


FIG. 23A

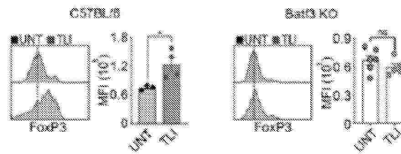


FIG. 23B

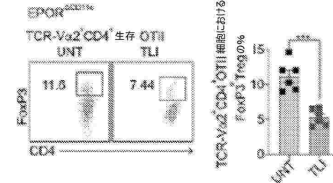


FIG. 23C

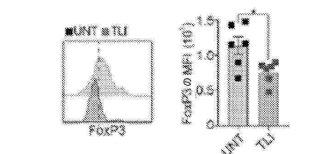


FIG. 23D

【図 2 5】

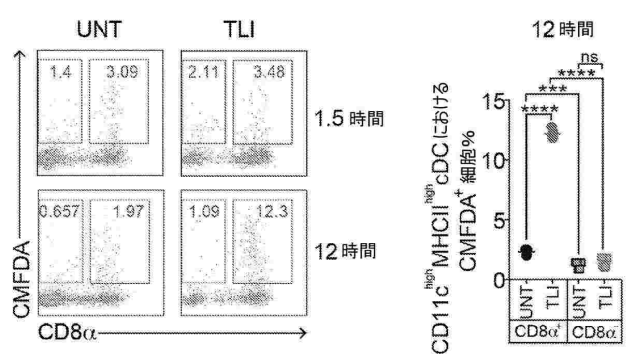


FIG. 25A

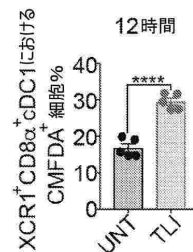


FIG. 25B

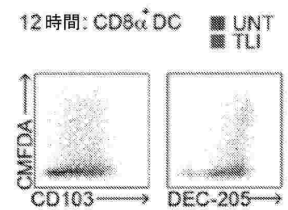


FIG. 25C

10

20

30

40

50

【図 26】

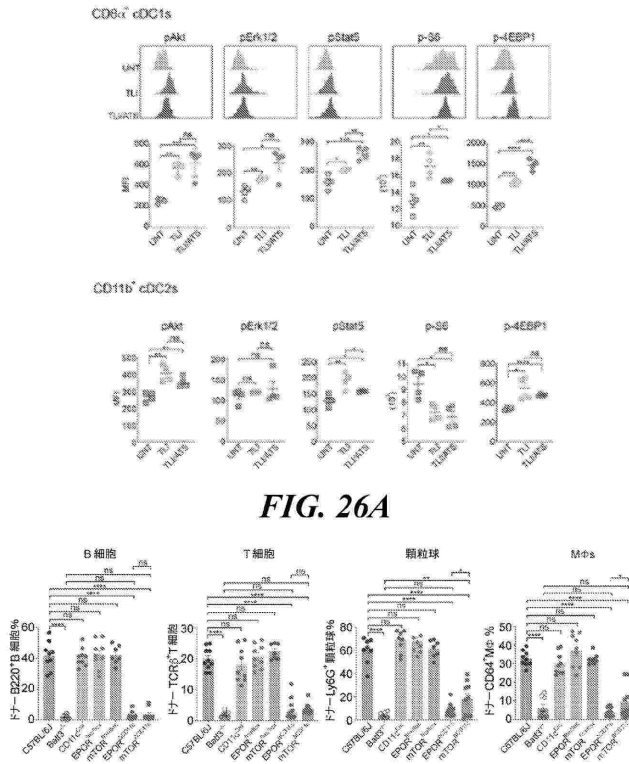


FIG. 26A

FIG. 26B

【図 27】

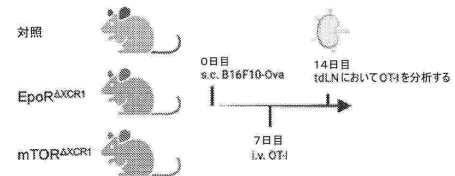


FIG. 27A

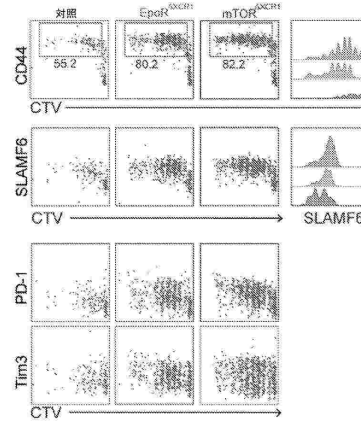


FIG. 27B

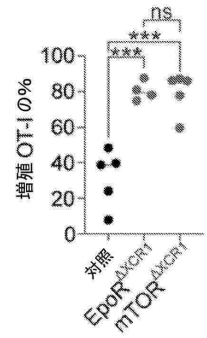


FIG. 27C

【図 28 A】

クローン	細胞染色 (%)	EPO-CD131-Fcの結合量		EPO-CD131-Fcの結合量		CD131-Fcの結合量	
		K _d	k _{on}	K _d	k _{on}	K _d	k _{on}
M1	53.2	1.12E-10	3.21E+05	1.12E-10	3.21E+05	1.12E-10	3.21E+05
M2	63.9	1.30E-10	5.78E+05	1.30E-10	5.78E+05	1.30E-10	5.78E+05
M3	9.5	9.9	11.6	13.4%	18.1%	13.4%	18.1%
M9	30.5	36.9	36.9	10.4%	10.4%	10.4%	10.4%
M19	13.2	9.2	15.8	9.5%	9.5%	9.5%	9.5%
M24	12.9	13.0	15.1	31.3%	31.3%	31.3%	31.3%
M26	18.0	15.3	22.1	7.1%	7.1%	7.1%	7.1%
M37	29.9	35.9	37.7	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%
M38	26.1	26.4	30.8	18.7%	18.7%	18.7%	18.7%
M41	14.2	12.8	14.1	-11.4%	-11.4%	-11.4%	-11.4%
M43	28.6	27.7	28.7	7.4%	7.4%	7.4%	7.4%
M52	12.2	14.3	15.2	16.0%	16.0%	16.0%	16.0%
M54	10.8	15.2	16.8	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
M71	9.8	9.2	15.3	4.8%	4.8%	4.8%	4.8%
M72	17.5	23.5	14.3	24.8%	24.8%	24.8%	24.8%
M82	37.5	32.1	32.1	1.77E+05	1.77E+05	1.77E+05	1.77E+05
M87	11.3	10.2	11.3	11.5%	11.5%	11.5%	11.5%

FIG. 28A

【図 28 B】

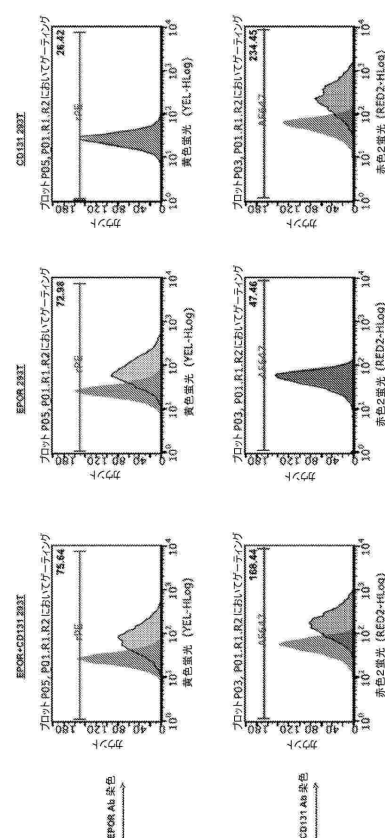


FIG. 28B

10

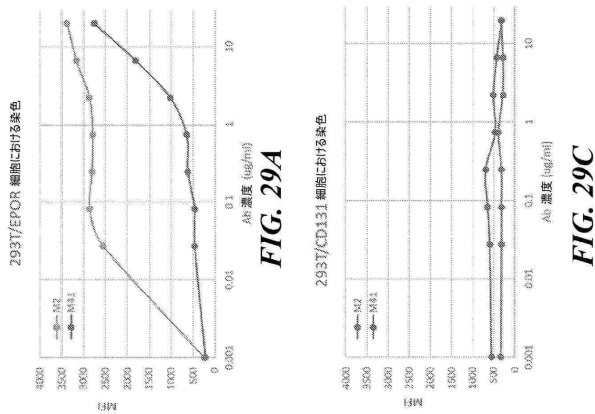
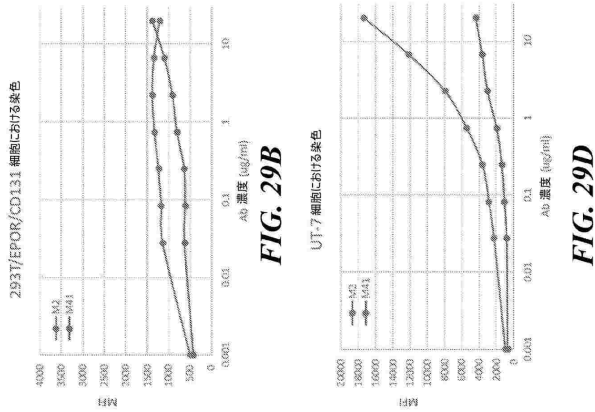
20

30

40

50

【図 29】



【図 31】

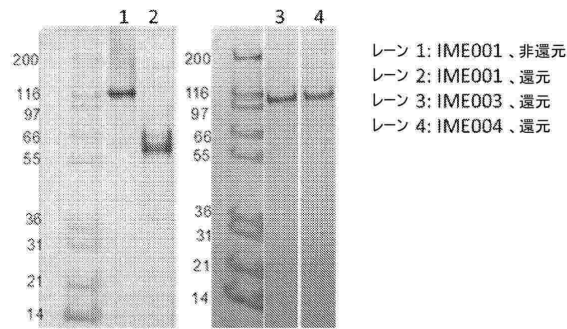


FIG. 31A

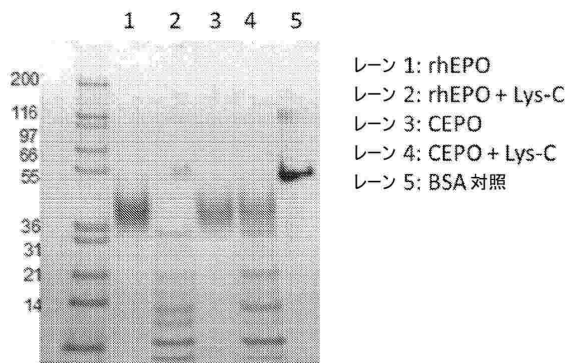


FIG. 31B

【図 30】

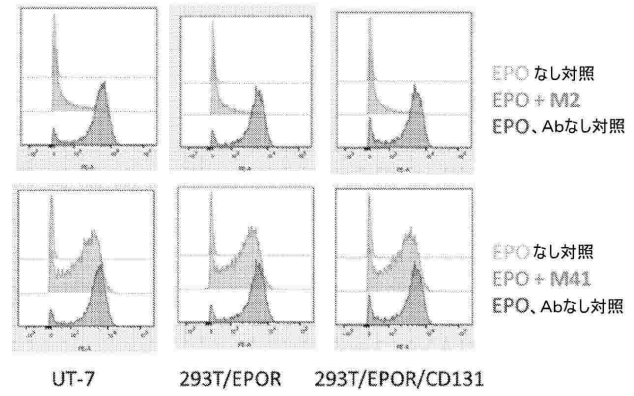


FIG. 30

【図 32 A - C】

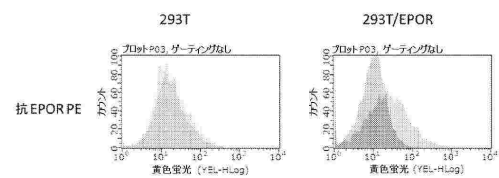


FIG. 32A

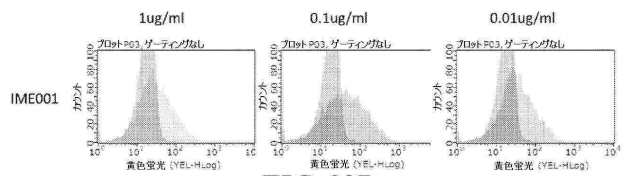


FIG. 32B

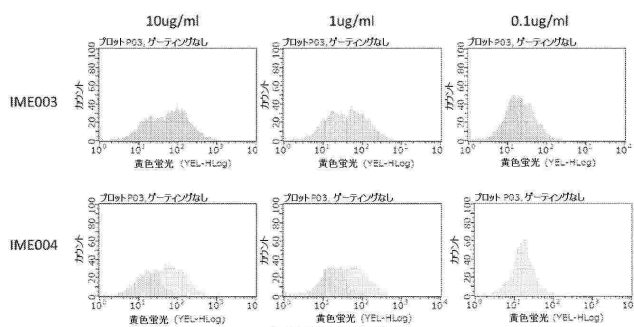


FIG. 32C

10

20

30

40

50

【図 3 2 D】

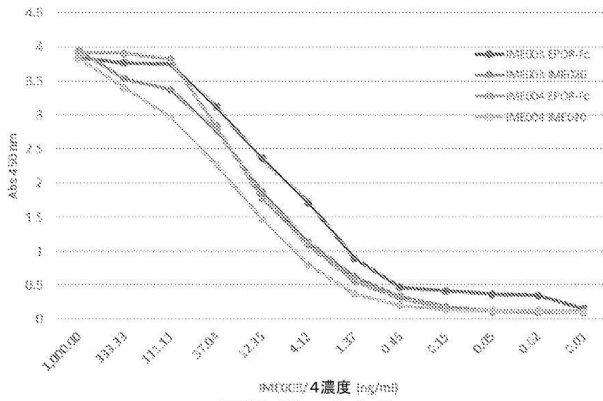


FIG. 32D

【図 3 3】

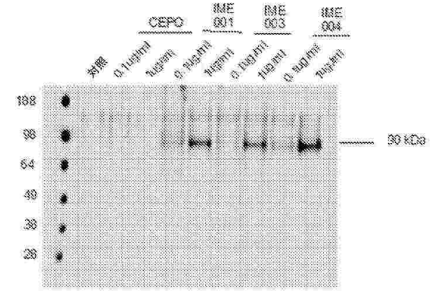


FIG. 33A

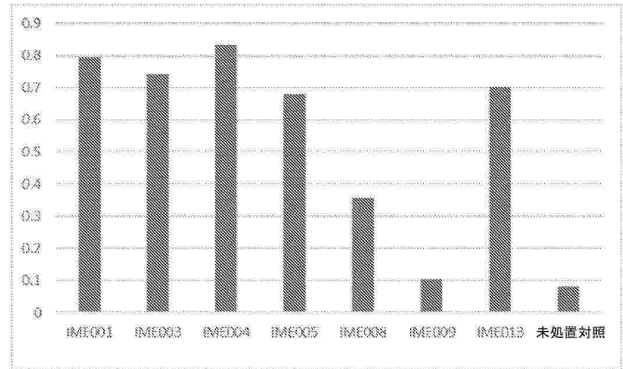


FIG. 33B

【図 3 4】

1 atggggggtgc acgaatgtcc tgccctgact tgacctctcc tgtccctgct gtgcctccct ctggagctcc
M G V H E C P A W L W L L L S L L S L P L G L
71 cagtcctggg cgccccacca cgctctatct gtgacagccg agtcctggag aggtacctct tggaggccaa
P V L G A P P R L I C D S R V L E R Y L L E A
141 ggagcccgag aatatcacga cggctgtgct tgaacactgc agcttgaatg agaataatcac tgtccagac
K E A E N I T T G C A E H C S L H E N I T V P D
211 accaaagtta atttctatgc ctggaagagg atggagctgc ggcagcagcc cgtagaagtc tggcaggcc
T K V N F Y A W K R M E V G Q Q A V E V W Q G
281 tggccctgct gtcggaagct gtccctcggg gccaggccct gttggccaac tcttccagc cgtggagcc
L A L L S E A V L R G Q A L L V N S S Q P W E
351 cctgcagctg catgtgata aagccgtcag tggccttcgc agcctcacca ctctgcttcg ggctctggga
P L Q L H V D K A V S G L R S L T T L L R A L G
421 gccagaagg aagccatctc cctccagat gggcctcag ctgctccact ccgaacaatc actgtgaca
A Q K E A I S P P D A A S A A P L R T I T A D
491 ctttccgcaa actcttccga gtctactcca atttctccg gggaaagctg aagctgtaca caggggagcc
T F R K L F R V Y S N F L R G K L K L Y T G E
561 ctgcaggaca ggggacaga
A C R T G D R

FIG. 34

【図 3 5 A - C】

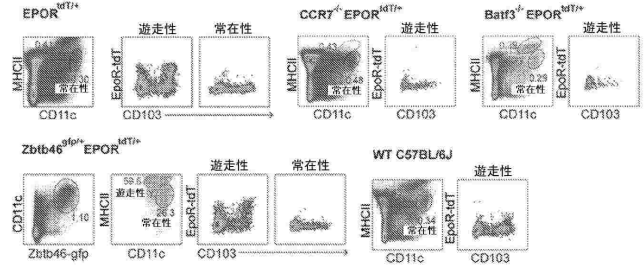


FIG. 35A

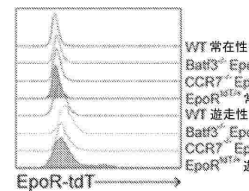


FIG. 35B

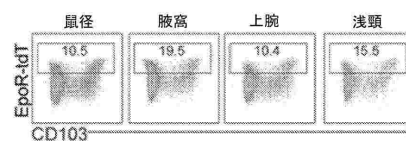


FIG. 35C

10

20

30

40

50

【図 35D - E】

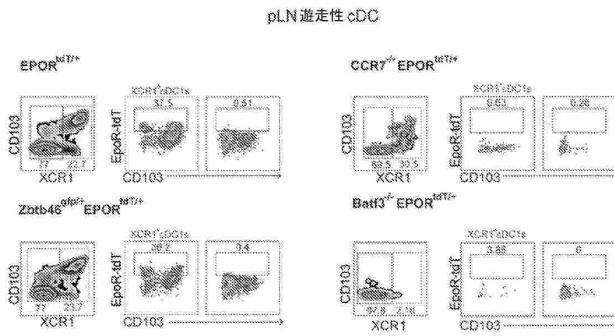


FIG. 35D

【図 36】

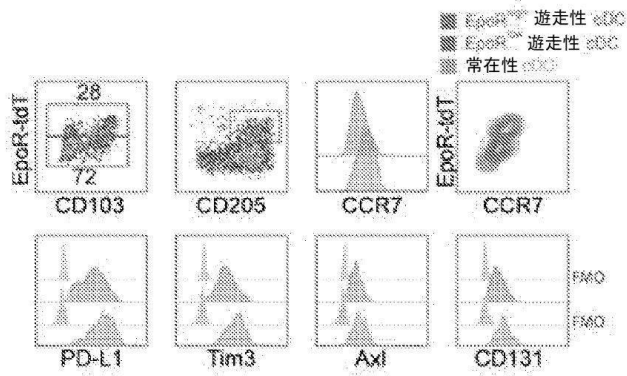


FIG. 36

EpoR-tdT-cre: Rosa26-lox-Stop-lox-EYFP

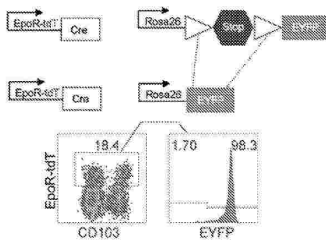


FIG. 35E

【図 37】

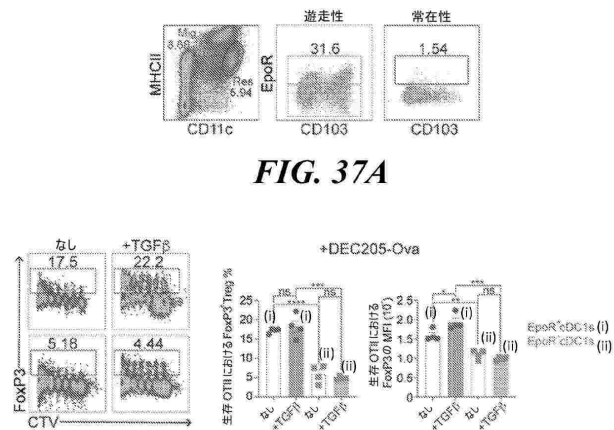


FIG. 37B

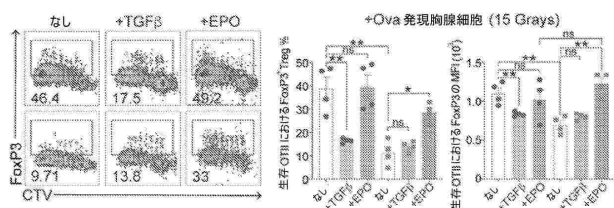


FIG. 37C

【図 38】

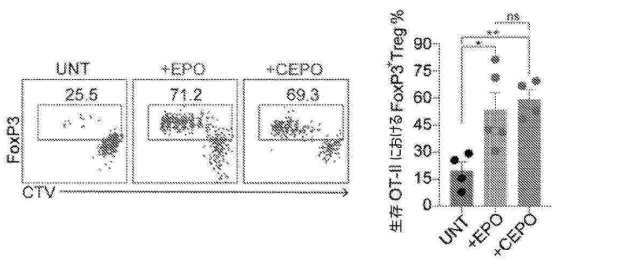


FIG. 38A

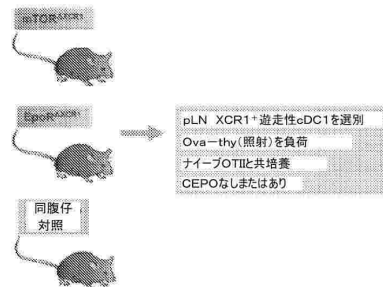


FIG. 38B

10

20

30

40

50

【図 39】

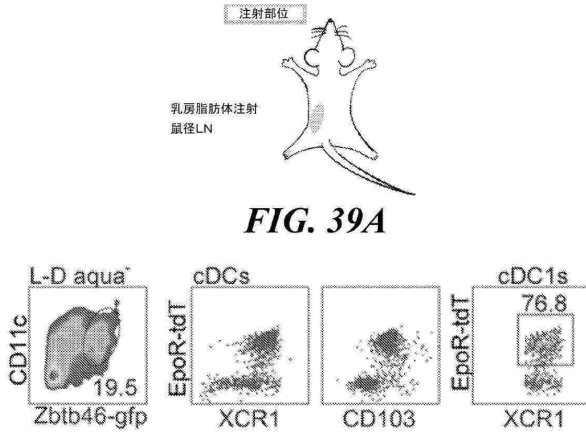


FIG. 39A

FIG. 39B

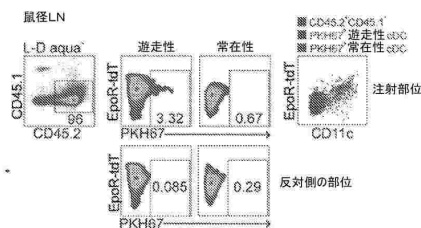


FIG. 39C

【図 40】

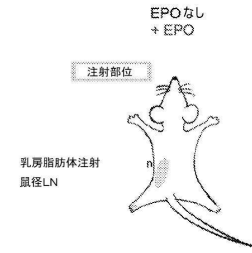


FIG. 40A

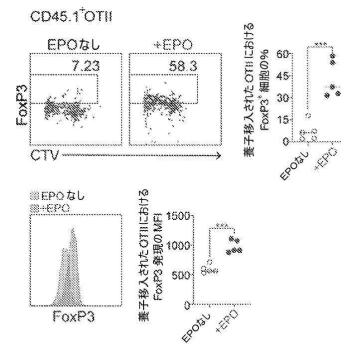


FIG. 40B

【図 41】

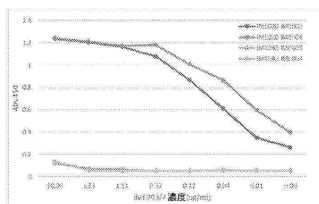


FIG. 41A

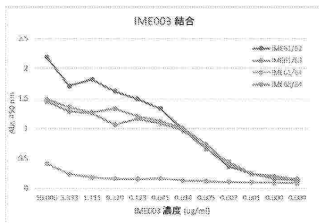


FIG. 41B

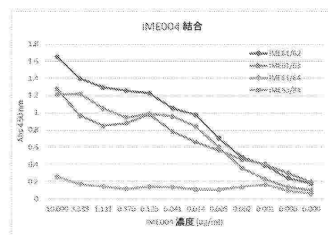


FIG. 41C

【図 42 A】

シグナルペプチドは赤色である。

```

1  atggaccacc tggggcgtc <ctctggccc caggctggct cctttgtct <ctgtcgtt ggggcgect
   M D H I L G A S L N P Q V G S L C L L L A G A A
71  gggatcgcgc cctaatctt ccagatccaa aatttgatc caggctgcg ctgttgctg caagaggccc
   W A P P P N L P D P K P E S E A A L L A A R G
141  tgaggaaactc cctgtttta ctgaacgctt agaagatctc gtttgtctt gggaaagagc tgtttgtcc
   P E S L L C F T E R L R D L V C P W E E A A S A
211  ggcgttggac cggtaetta ttcatcttct tctcaattag aagacgaacc ctggaattg tgcagacttc
   G V F L P S N V S F S N Q L R D P W K L C R L
281  atcaagsgcc taetgcccga ggcgcgctcc ggttttggt ctcaccccc actgagata catctcttt
   H Q A P T A R G A V R P W K S E P T A D T S S
351  tgtaccattg gaacigaggg taaccgcgc atcaggagga ccccgctacc atagagtaat tcatataaac
   F V P L F E R V T R A S G A P R Y H R V T H E N
421  gaggttgccc ttttagatgc tctgttagga ctgtgcgcc gccctgcgga tgaatcggg catgtgttc
   G V V L L D A P V G L V A R L A D E S G H V V
491  ttagggtggt gccccacca gaaccccaa tgcaccatga tattcgatat gaatttgatg taagcgcggg
   L R N L P P P E Y P M T S H I R V E V D V S A
561  gaatggagcc gattctgtgc aaagagtaga aatattgaa gggcgaactg aatgcgctc ttccaatctc
   G N G A G S V Q R M F I L G R T E C V L S N L
631  aggggttaga ctagatatac ttttctgtg agggccagga tggcagaacc atcatttggt ggaatttggt
   R G R T R Y T F A V R A R M A E P S F G F W
701  ccgcattgac agaaccagtt tctctctga caccatcga tttagatctt
   S A N S R P V S L L T P S D L D P

```

FIG. 42A

10

20

30

40

50

【図 4 2 B】

シグナルペプチドは赤色である。

```
1 atgggtgctggg cccagggggct gctctccagc gccctgtgctg cctctgtgct ggagcgcgcc ctggcaggggg  
M V L A Q G L L S M A L L A L C H E R S L A Q  
71 cagaagaaac catcccgctg cagaccctgc gctgctacaa cgactacacc agccacatca cctgcagggtg  
A E E T I P L Q T L R E Y R D Y T S H I T C R  
141 ggacagaccg caggatggcc agcggtcgtg caacgtgacc ctcatcgcc gggtgaatga ggacctcttg  
R A D T Q D A Q R L V N V T L L R R Y N E D L L  
211 gagccagtgt cctgtgacct cagtgaatgc atgcccctggc cagcttgccc ccatcccgcc tgcgtgacca  
R P V S C D L S D D M P W S A C P N P R C V P  
281 ggaagatgtg catccccgcg cagagttttg tgcctactga cgtgactac ttctcattcc aaccagacag  
R R C W P L Q S F V V T D V H Y F S F Q P D  
351 gctctggggc acccggtcca cgtcactct gaccagacat gtcagacct ctgagccag ggactctcag  
R P L G T R L E W T L T Q R V Q P P E P R D I Q  
421 atcagcaccg accagagcca ctctctgctg acctggagtg tggccttgg ggtgcccgag agccactggt  
L S T D Q D H E L L T W S V A L G S R Q S H R  
491 tgtccccagg ggaatcgagg tttagatggc tctacaagcg gcttcagagc tcttggaggg accgagccat  
L S P G D L D P E V V Y R R L Q D S M E P A A  
561 cctcctctcc aacactctcc aggcacacct gggtccagag cactctatgc ccagcgacac ctactgtgcc  
L L L S N T S Q A T L G P E H L M P S S T Y V A  
631 cgagtacgga cccgctggc cccaggttct cgtctctcag gactctcag caagtggagc ccagaggttt  
S W R T G L A P G S R L E G R P F E W S P E V  
701 gctaggacct ccagcgagg gatggggccc agccccagaa cctgggggtg ttcttttgcg gggtccgct  
C W D S Q P G D E A Q P Q R L E C F F D G A A  
771 gctcagctgc tcttgggggg ttggaagaag ggtggccagc tgggtctct ttggctctatt ctacaagcca  
V L S C S A L E W R R E W A S S V S F G L E Y F P  
841 agccccagatg caggggaggg agagtgtctc ccagtgtga ggagggggct cggagacctc caccagagcc  
S P D A G E E E C S P V L R E G L G S L H T R  
911 accactgcca gattccccgt cccgagcccc cgaccagagg caatatatc gtctctgttc agccaaagag  
H N C Q L P V P D P A T H G Q Y L W S V Q P R  
981 ggccagagaa cacataaaga gctcagtgaa catcagatg gccctcccat cctccaaagt gaccagagat  
R A E R H E E S V N I Q H A P P S L N V T E D  
1051 ggagacagct acagcttgcg ctgggaacca atgaaaatgc gataggaaca catagaccac acatttgaga  
G D S Y S L R W E T M K H E Y E H S Q H I P E  
1121 tccagtacag gaagagacag gccarctgga aggacagcaa gaccagacc ctccagaacg cccacagcat  
T Q Y R K D T A T W K D S K T E T L Q H A H S  
1191 ggccctgcca gccctggagc cctccacag gtaactgggc agggtagggg tcaagacctc cgcacctgc  
H A L P A L L P S T R Y W A R V R Y R E S R F G  
1261 tacaacggga cctggagcga gtggagtggg ggcgtctct ggagaccga gtccgtgctg cctatgtgg  
Y N G I W D E M G E A B S W D T E S V L P R W
```

FIG. 42B

【図 4 2 D】

シグナルペプチドは赤色である。

```
1 atggaccacc tgggggctgc cctctggccc caggctgggt cctttgtctt cctgctgctt gggtccgcct  
M D H L G A S L W P Q V G S L C L L L A G A A  
71 gggtcttccc ccttaattct ccagatccaa aatttgatc caaggctgcg ctgttggctg caagaggccc  
W A P P P R L P D P K F E S R A A L L A A R G  
141 tggaggaactc ctctgtttta ctgaacgctt agaagatctc gtttctttt gggaagaggc tgcttctgcc  
P E E L L C F T E R L E D L V C F W E E A A S A  
211 ggctgtggac ccggaatta ttcattttct tatcaattag aagacgaacc ctggaattg tgcagacttc  
G V G P G H Y S F S Y Q L C D E P W E L C R L  
281 atcaagccc tactgcccga ggcgcgtcc ggttttgggt ctactctccc actgaggata catctctgc  
H Q A P T A A G A V R F H C S L P Y A D T S S  
351 agtacattg gaactgagg taaccgcgc atcaggggca ccccgctacc atagatgaat tcatataaac  
A V P L E L R V Y A A S G A P R Y H R V I N I N  
421 gaggttgttc tgttagatgc tctgttaga cttgtcgccc gcctggcga tgaatccggg catgtggttc  
E V V L L D A P V G L V A R L A D E S G H V V  
491 ttagtgtggt gccccacca gaaaccccaa tgaccagtca tattgatata gaagttagat taagcgggg  
L R W L P P P E T P H T S H I R V E V D W S A  
561 gaatggggcc ggttctgtgc aaagagtaga aatactgaa gggcgactg aatgcgtcct ttcaatctc  
G N G A G S V Q R V E L L E G R T E C V L S N L  
631 agggtaggga ctagatatac ttttctgtg agggccaggga tggcagaacc atcatttggt agatttttgt  
R G R T R Y T F A V R A R H A E P S F G G F W  
701 ccgcattggtc agaaccagtt ttctctctga caccatccga tttagatcct  
S A W S E P V S L L T P S D L D P
```

FIG. 42D

【図 4 2 C】

シグナルペプチドは赤色である。

```
1 atggccttggg tgaatgcttct cctcggactc cttgcttatg gatcaggagt cgactctgag gccccagcccc  
H A W M H L L L G L L A Y G S G V D S E A Q P  
71 agaaccttggg gtgcttcttt gacggggccg ccgtgctcag ctgctccttg gaggtaggga aggagggtggc  
Q H L E C F F D G A A V L S C S W E V R K E V  
141 cagctgggtc tcttttggcc tattctacaa gcccagccca gatcgagggg aggaagagtg ctccccagtg  
A S S V S F G L F Y K P S P D A G E E E C S P V  
211 ctgagggggg ggctcggcag cctccacacc aggcaccact gccagattcc cgtgcccgac cccggagccc  
L R E G L G S L H T R H H C Q I P V P D F A T  
281 accggccaata catgctctct gttcagccaa ggagggcaga gaaacacata aagagctcag tgaacatcca  
H G Q Y I V S V Q P R R A E K H I R S S V N I  
351 gatggccctt ccatctctca acgtgaccaa ggaagagagc agctacagcc tgcgtggga aacaatgaaa  
Q M A P P S L N V T K D G D S Y S L R W E T M R  
421 atgctgatatg aacacataga ccacacattt gagatccagt acaggaaga cagggccagc tggagggaca  
H R Y E H I D H T F E I Q Y R K D T A T W K D  
491 gcaagccga gacctccag aacgcccaa cgaatggcct gccagcctg gagcctcca ccaggtactg  
S K T E T L Q N A H S M A L P A L E P S T R Y  
561 ggccaggggt agggtagga cctcccgac cggctacaac ggagcttggg ccgagtgag tggagcgcc  
W A R V R V R T S R T G Y N G I W S E W S E A R  
631 tcttgggaca ccgagtcggt gctgcctatg tgg  
S W D T E S V L P M W
```

FIG. 42C

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 23/63996

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC - INV. C07K 16/24, G01N 33/68, A61K 35/17 (2023.01) ADD. A61P 35/00, C07K 16/28 (2023.01) CPC - INV. C07K 16/24, G01N 33/68, A61K 35/17 ADD. A61P 35/00, C07K 2317/51, C07K 2317/515, C07K 2317/565 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	LEE et al. "Beta Common Receptor Mediates Erythropoietin-Conferred Protection on OxLDL-Induced Lipid Accumulation and Inflammation in Macrophages" Mediators of Inflammation Vol. 2015, Article ID 439757, pp. 1-13; abstract, pg 3, col 2, para 2, pg 3, col 2, para 3	1-2 3-16
Y	CANTARELLI et al. "Erythropoietin, a multifaceted protein with innate and adaptive immune modulatory activity" Am J Transplant 2019, Vol 19, pp. 2407-2414; abstract, pg 2410, col 1, para 2, pg 2410, col 2, para 4, pg 2411, col 1, para 3, pg 2411, col 2, para 2	3-7
Y	WO 2022/025204 A1 (EPO-MED INC.) 03 February 2022 (03.02.2022) abstract, para [0139]	8-16
Y	WEI et al. "Distinct Cellular Mechanisms Underlie Anti-CTLA-4 and Anti-PD-1 Checkpoint Blockade" CELL, 2017, Vol. 170, pp. 1120-1133; abstract, pg 1125, col 2, para 2	8-9
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 25 September 2023		Date of mailing of the international search report OCT 20 2023
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300		Authorized officer Karl Rodriguez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/63996

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☐ forming part of the international application as filed.

b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),

☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/63996

Box No. II	Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons: 1. ☐ Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: 2. ☐ Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically: 3. ☒ Claims Nos.: 17-47, 53, 58-80, 103-152, 159-188, 196-223, 227-234, 238-247, 251-255, 258-262, 268-282 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	
Box No. III	Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows: - see extra sheet for Box No. III Observations where unity of invention is lacking - 1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims. 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees. 3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: 4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-16 Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.	

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/63996

Continuation of:

Box No. III. Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Groups I: claims 1-16, drawn to a composition comprising an antibody that prevents the formation of a hetero-EPO receptor.

Group II: claims 48-49, drawn to a method for treating cancer.

Group III: claims 50-52, 54-57, drawn to a composition comprising an antibody that promotes the formation of a hetero-EPO receptor.

Groups IV: claims 91-102, 224-226, 235-237, drawn to a composition for administering to a subject having cancer or chronic infection condition, and a composition comprising an engineered EPO protein that inhibits hetero-EPO receptor activity.

Groups V: claims 153-158, 248-250, 256-257, drawn to a composition comprising an engineered EPO protein that promotes a hetero-EPO receptor activity.

Groups VI: claims 189-195, drawn to a composition comprising an engineered EPO protein that promotes a homo-EPO receptor activity.

Group VII, claims 263-267, drawn to a composition comprising an RNA interference (RNAi) molecule.

The inventions listed as Groups I through VII do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

Groups I and III-VII include the special technical feature of a composition which differs from the special technical feature of a method, as disclosed by Group II.

Groups I and III include the special technical feature of an antibody which differs from the special technical feature of an engineered EPO protein, as disclosed by Groups IV-VI.

Group I includes the special technical feature of an antibody that prevents the formation of a hetero-EPO receptor, not required by Group III.

Group III includes the special technical feature of an antibody that promotes the formation of a hetero-EPO receptor, not required by Group I.

Group IV includes the special technical feature of an engineered EPO protein that inhibits a hetero-EPO receptor activity, not required by Groups V and VI.

Group V includes the special technical feature of an engineered EPO protein that promotes a hetero-EPO receptor activity, not required by Groups IV and VI.

Group VI includes the special technical feature of an engineered EPO protein that promotes a homo-EPO receptor activity, not required by Groups IV and V.

Group VII includes the special technical feature of a RNAi molecule, not required by Groups I and III-VI.

Common Technical Features

The inventions of Groups I and III share the technical feature of an antibody that selectively binds to a target comprising an EPO protein, an EPO receptor subunit, a CD131 subunit, or a combination thereof that modulate the formation of hetero-EPO receptor.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art in view of the article "Beta Common Receptor Mediates Erythropoietin-Conferred Protection on OxLDL-Induced Lipid Accumulation and Inflammation in Macrophages" by Lee et al. (hereinafter "Lee") (Mediators of Inflammation, Vol. 2015, Article ID 439769, pp. 1-13).

—continued on next sheet—

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/63996

Continuation of:

Box No. III. Observations where unity of invention is lacking

Lee teaches an antibody that selectively binds to a target comprising an EPO protein, an EPO receptor subunit, a CD131 subunit, or a combination thereof (abstract). In the current study, we investigated the role of beta-CR in EPO-mediated protection in macrophages against oxidized low-density lipoprotein- (oxLDL-) induced deregulation of lipid metabolism and inflammation.....Results of confocal microscopy and immunoprecipitation analyses revealed that beta-CR was colocalized and interacted with EPO receptor (EPOR) in macrophages. Inhibition of beta-CR activation by neutralizing antibody or small interfering RNA (siRNA) abolished the EPO conferred protection in oxLDL-induced lipid accumulation.) that modulates the formation of an EPO protein-hetero-EPO receptor complex, wherein said hetero-EPO receptor comprises said EPO receptor subunit and said CD131 subunit (pg 3, col 2, para 1). We therefore examined whether EPO could alter the status of beta-CR/EPOR dimerization in macrophages. We found that treatment with EPO had no effect on the dimerization of beta-CR and EPOR (Figure 3); pg 3, col 2, para 2. Loss of function of beta-CR by neutralizing Ab or knockdown gene expression demonstrated that EPO failed to prevent the foam cell formation in BMDMs as compared to the IgG- or control siRNA-treated BMDMs (Figures 4 and 5).).

The inventions of Groups I-VII share the technical feature of modulating EPO receptor activity.

The inventions of Groups I-V share the technical feature of modulating hetero-EPO receptor activity.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art in view of Lee (pg 3, col 2, para 1). We therefore examined whether EPO could alter the status of beta-CR/EPOR dimerization in macrophages. We found that treatment with EPO had no effect on the dimerization of beta-CR and EPOR (Figure 3); pg 3, col 2, para 2. Loss of function of beta-CR by neutralizing Ab or knockdown gene expression demonstrated that EPO failed to prevent the foam cell formation in BMDMs as compared to the IgG- or control siRNA-treated BMDMs (Figures 4 and 5).).

The inventions of Groups II, III and VII share the technical feature of treating cancer with a composition that inhibits EPO receptor activity.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art in view of WO 2022/025204 A1 to EPO-MED INC. (hereinafter "EMI").

EMI teaches a composition for administering to a subject having cancer or chronic infection condition, wherein said composition or derivative thereof inhibits erythropoietin (EPO) receptor activity in a myeloid cell in said subject (Claim 22 (translation)). A composition for treating or preventing a disease, disorder or symptom characterized by the presence of cells expressing the EPO heteroreceptor, comprising a selective antagonist of the EPO heteroreceptor.; Claim 26 (translation). The diseases include glioblastoma, melanoma, esophageal small cell cancer, gastric cancer, colon adenocarcinoma, lung adenocarcinoma, lung squamous epithelial cancer, large lung cell cancer, small cell lung cancer, breast cancer, The composition according to any one of claims 22 to 25, which is liver cancer, pancreatic cancer, cervical epithelial cancer, prostate adenocarcinoma, or leukemia.; para [0005], (translation, pg 6, para 2). The present disclosure relates to compounds such as peptides.....having the function of selectively antagonizing EPO heteroreceptors in the presence of erythropoietin (Epo).....And have one or more of the properties of low killing ability against normal myeloid cells.).

The inventions of Groups IV-VI share the technical feature of an engineered EPO protein.

However, these shared technical features do not represent a contribution over prior art in view of US 2012/0094906 A1 to Guyon et al. (hereinafter "Guyon").

Guyon teaches an engineered EPO protein (abstract, Modified erythropoietin (EPO) polypeptides and other modified therapeutic polypeptides are provided. The EPO polypeptides and other therapeutic polypeptides are modified to exhibit physical properties and activities that differ from the unmodified EPO polypeptides and other unmodified therapeutic polypeptides, respectively.; Claim 1. A modified erythropoietin (EPO) polypeptide, comprising: one or more amino acid modifications at masked is-Hit residues masked by different glycosylation sites selected from among amino acid modifications R14H, R14Q, L16I.....).

As said technical features were known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Groups I through VII therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Item 4 (continued):

Claims 17-47, 53, 58-80, 103-152, 159-188, 196-223, 227-234, 236-247, 251-255, 258-262, 268-282 are improper multiple dependent claims because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(e).

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

4 H 0 4 5

C 1 2 N 1/19 (2006.01)
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 0 7 K 14/505 (2006.01)
 C 1 2 N 15/113 (2010.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)
 A 6 1 P 37/06 (2006.01)
 A 6 1 P 29/00 (2006.01)
 A 6 1 P 25/00 (2006.01)
 A 6 1 P 31/00 (2006.01)
 A 6 1 P 37/02 (2006.01)
 A 6 1 K 45/00 (2006.01)
 A 6 1 K 9/51 (2006.01)
 A 6 1 K 47/44 (2017.01)
 A 6 1 K 31/713 (2006.01)
 A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 1/21
 C 1 2 N 5/10
 C 0 7 K 14/505
 C 1 2 N 15/113 1 2 0 Z
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 43/00 1 1 1
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 K 39/395 E
 A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 K 39/395 T
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 P 37/06
 A 6 1 P 29/00 1 0 1
 A 6 1 P 25/00
 A 6 1 P 31/00
 A 6 1 K 39/395 U
 A 6 1 P 37/02
 A 6 1 P 43/00 1 2 1
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 K 9/51
 A 6 1 K 47/44
 A 6 1 K 31/713
 A 6 1 K 31/7105

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

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁理士 山本 健策

(72)発明者 ユー, ボ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 7, アザートン, レーン プレイス 6 0

(72)発明者 エングルマン, エドガー ジー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 7, アザートン, レーン プレイス 6 0

(72)発明者 ジャン, シャンユエ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 7, アザートン, レーン プレイス 6 0

(72)発明者 チウ, デイビッド クン-チュン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 7, アザートン, レーン プレイス 6 0

F ターム (参考) 4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA02 CA25 CA44

4C076 AA65 CC27 EE51 FF31

4C084 AA13 AA19 MA02 MA56 MA59 MA60 MA63 MA65 MA66 NA05

F ターム (参考)

NA14 ZA021 ZA022 ZB051 ZB052 ZB071 ZB072 ZB081 ZB082 ZB151
ZB152 ZB261 ZB262 ZB311 ZB312 ZC412 ZC751

4C085 AA13 AA14 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB41 BB42 BB43
CC22 CC23 DD62 EE01 GG01 GG02 GG03 GG04 GG05 GG06 GG10

4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA04 NA05 ZB26 ZC75

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 DA13 DA30 DA76 EA20
FA72 FA74