(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2010-538608
(P2010-538608A)
(43)公表日　平成22年12月16日(2010.12.16)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B024
C07K 16/24	(2006.01)	C07K	16/24		4B064
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4B065
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4C085
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 101 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2010-524055 (P2010-524055)
(86)(22)出願日　平成20年9月9日 (2008.9.9)
(85)翻訳文提出日　平成22年5月7日 (2010.5.7)
(86)国際出願番号　PCT/US2008/010510
(87)国際公開番号　WO2009/035577
(87)国際公開日　平成21年3月19日 (2009.3.19)
(31)優先権主張番号　60/971,178
(32)優先日　平成19年9月10日 (2007.9.10)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/091,676
(32)優先日　平成20年8月25日 (2008.8.25)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　500203709
アムジェン　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９１３２０，　サウザンド　オークス，　ワン　アムジェン　センター　ドライブ
(74)代理人　100140109
弁理士　小野　新次郎
(74)代理人　100089705
弁理士　社本　一夫
(74)代理人　100075270
弁理士　小林　泰
(74)代理人　100080137
弁理士　千葉　昭男
(74)代理人　100096013
弁理士　富田　博行

最終頁に続く

(54)【発明の名称】胸腺間質性リンパ球性新生因子に結合することができる抗原結合タンパク質

(57)【要約】
本開示は、抗体を含む、ヒト胸腺間質性リンパ球性新生因子（ＴＳＬＰ）に結合する抗原結合タンパク質に関する組成物および方法を提供する。特定の実施形態において、本開示は、完全ヒト抗ＴＳＬＰ抗体、ヒト化抗ＴＳＬＰ抗体およびキメラ抗ＴＳＬＰ抗体、ならびにこのような抗体の誘導体を提供する。本開示は、このような抗体および抗体断片および誘導体をコードする核酸、ならびにこのような抗体を製造および使用する方法（ＴＳＬＰ関連炎症性障害および線維症障害を処置および予防する方法を含む）をさらに提供する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
以下：
ａ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲ３配列からなる群より選択されるＣＤＲ３配列から全部で２アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる軽鎖ＣＤＲ３配列；
ｉｉ．ＱＱＡＸ$_{8}$ＳＦＰＬＴ（配列番号２５１）；
からなる群より選択される軽鎖ＣＤＲ３配列、ならびに
ｂ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７の重鎖ＣＤＲ３配列からなる群から選択されるＣＤＲ３配列から全部で３アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる重鎖ＣＤＲ３配列と；
ｉｉ．ＧＧＧＩＸ$_{12}$ＶＡＤＹＹＸ$_{13}$ＹＧＭＤＶ（配列番号２５５）と；
ｉｉｉ．ＤＸ$_{21}$ＧＸ$_{22}$ＳＧＷＰＬＦＸ$_{23}$Ｙ（配列番号２５９）と；
からなる群より選択される重鎖ＣＤＲ３配列、
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離された抗原結合タンパク質であって、ここで、
Ｘ$_{8}$は、Ｎ残基またはＤ残基であり；
Ｘ$_{12}$は、Ｐ残基またはＡ残基であり；
Ｘ$_{13}$は、Ｙ残基またはＦ残基であり；
Ｘ$_{21}$は、Ｇ残基またはＲ残基であり；
Ｘ$_{22}$は、Ｓ残基またはＴ残基であり；
Ｘ$_{23}$は、Ａ残基またはＤ残基であり、かつ
該抗原結合タンパク質は特異的にＴＳＬＰに結合する、
抗原結合タンパク質。
【請求項２】
さらに、以下：
ａ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲ１配列から３アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる軽鎖ＣＤＲ１配列と；
ｉｉ．ＲＳＳＱＳＬＸ$_{1}$ＹＳＤＧＸ$_{2}$ＴＹＬＮ（配列番号２４６）と；
ｉｉｉ．ＲＡＳＱＸ$_{4}$Ｘ$_{5}$ＳＳＷＬＡ（配列番号２４９）と；
からなる群より選択される軽鎖ＣＤＲ１配列、
ｂ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７のＣＤＲ２配列から２アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる軽鎖ＣＤＲ２配列と；
ｉｉ．ＫＶＳＸ$_{3}$ＷＤＳ（配列番号２４７）と；
ｉｉｉ．Ｘ$_{6}$Ｘ$_{7}$ＳＳＬＱＳ（配列番号２５０）と；
ｉｖ．ＱＤＸ$_{9}$ＫＲＰＳ（配列番号２５２）と；
からなる群より選択される軽鎖ＣＤＲ２配列、
ｃ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７のＣＤＲ１配列から２アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる重鎖ＣＤＲ１配列と；
ｉｉ．Ｘ$_{10}$ＹＧＭＨ（配列番号２５３）と；
ｉｉｉ．Ｘ$_{15}$Ｘ$_{16}$ＹＭＸ$_{17}$（配列番号２５７）と；
からなる群より選択される重鎖ＣＤＲ１配列、ならびに
ｄ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７のＣＤＲ２配列から３アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる重鎖ＣＤＲ２配列と；
ｉｉ．ＶＩＷＸ$_{11}$ＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２５４）と；
ｉｉｉ．ＶＩＳＹＤＧＳＸ$_{14}$ＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２５６）と；

ｉｖ．ＷＩＮＰＮＳＧＧＴＮＸ$_{18}$Ｘ$_{19}$Ｘ$_{20}$ＫＦＱＧ（配列番号２５８）と；
からなる群より選択される重鎖ＣＤＲ２配列、
からなる群より選択されるアミノ酸配列をさらに含む、請求項１に記載の単離された抗原結合タンパク質であって、ここで、
Ｘ$_{1}$は、Ｖ残基またはＩ残基であり；
Ｘ$_{2}$は、Ｎ残基またはＤ残基であり；
Ｘ$_{3}$は、Ｙ残基またはＮ残基であり；
Ｘ$_{4}$は、Ｇ残基またはＳ残基であり；
Ｘ$_{5}$は、Ｌ残基またはＩ残基であり；
Ｘ$_{6}$は、Ｎ残基またはＴ残基であり；
Ｘ$_{7}$は、Ｔ残基またはＡ残基であり；
Ｘ$_{9}$は、Ｋ残基またはＮ残基であり；
Ｘ$_{10}$は、Ｓ残基またはＮ残基であり；
Ｘ$_{11}$は、Ｙ残基またはＦ残基であり；
Ｘ$_{14}$は、Ｙ残基またはＮ残基であり；
Ｘ$_{15}$は、Ｄ残基またはＧ残基であり；
Ｘ$_{16}$は、Ｙ残基またはＤ残基であり；
Ｘ$_{17}$は、Ｙ残基またはＨ残基であり；
Ｘ$_{18}$は、Ｙ残基またはＨ残基であり；
Ｘ$_{19}$は、Ｖ残基またはＡ残基であり；
Ｘ$_{20}$は、Ｑ残基またはＲ残基であり、かつ
該抗原結合タンパク質は特異的にＴＳＬＰに結合する、
抗原結合タンパク質。
【請求項３】
以下：
ａ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される軽鎖ＣＤＲ１配列；
ｉｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される軽鎖ＣＤＲ２配列；
ｉｉｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される軽鎖ＣＤＲ３配列、
を含む軽鎖可変ドメイン、または
ｂ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される重鎖ＣＤＲ１配列；
ｉｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される重鎖ＣＤＲ２配列；および
ｉｉｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される重鎖ＣＤＲ３配列、
を含む重鎖可変ドメイン、または
ｃ．（ａ）の軽鎖可変ドメインおよび（ｂ）の重鎖可変ドメイン、
のいずれかを含む、請求項１に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項４】
以下：
ａ．以下：
ｉ．Ｌ１～Ｌ２７から選択される軽鎖可変ドメイン配列に少なくとも８０％同一な配列を有するアミノ酸；
ｉｉ．Ｌ１～Ｌ２７の軽鎖可変ドメイン配列をコードするポリヌクレオチド配列に少なくとも８０％同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；
ｉｉｉ．Ｌ１～Ｌ２７の軽鎖可変ドメイン配列からなるポリヌクレオチドの相補鎖に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；
からなる群より選択される軽鎖可変ドメイン配列、
ｂ．以下：
ｉ．Ｈ１～Ｈ２７の重鎖可変ドメイン配列に少なくとも８０％同一であるアミノ酸の

配列；
ｉｉ．Ｈ１～Ｈ２７の重鎖可変ドメイン配列をコードするポリヌクレオチド配列に少なくとも８０％同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；
ｉｉｉ．Ｈ１～Ｈ２７の重鎖可変ドメイン配列からなるポリヌクレオチドの相補鎖に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列、
からなる群より選択される重鎖可変ドメイン配列、または
ｃ．（ａ）の軽鎖可変ドメインおよび（ｂ）の重鎖可変ドメイン、
のいずれかを含む、請求項１に記載の単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は特異的にＴＳＬＰに結合する、抗原結合タンパク質。

【請求項５】
以下：
ａ．Ｌ１～Ｌ２７からなる群より選択される軽鎖可変ドメイン配列
ｂ．Ｈ１～Ｈ２７からなる群より選択される重鎖可変ドメイン配列、または
ｃ．（ａ）の軽鎖可変ドメインおよび（ｂ）の重鎖可変ドメイン
のいずれかを含む、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、特異的にＴＳＬＰに結合する、抗原結合タンパク質。

【請求項６】
Ｌ１Ｈ１、Ｌ２Ｈ２、Ｌ３Ｈ３、Ｌ４Ｈ４、Ｌ５Ｈ５、Ｌ６Ｈ６、Ｌ７Ｈ７、Ｌ８Ｈ８、Ｌ９Ｈ９、Ｌ１０Ｈ１０、Ｌ１１Ｈ１１、Ｌ１２Ｈ１２、Ｌ１３．１Ｈ１３、Ｌ１３．２Ｈ１３、Ｌ１４．１Ｈ１４、Ｌ１４．２Ｈ１４、Ｌ１５．１Ｈ１５、Ｌ１５．２Ｈ１５、Ｌ１６．１Ｈ１６、Ｌ１６．２Ｈ１６、Ｌ１７Ｈ１７、Ｌ１８．１Ｈ１８、Ｌ１８．２Ｈ１８、Ｌ１９．１Ｈ１９、Ｌ１９．２Ｈ１９、Ｌ２０．１Ｈ２０、Ｌ２０．２Ｈ２０、Ｌ２１Ｈ２１、Ｌ２２Ｈ２２、Ｌ２３Ｈ２３、Ｌ２４Ｈ２４、Ｌ２５Ｈ２５、Ｌ２６Ｈ２６およびＬ２７Ｈ２７からなる群より選択される軽鎖可変ドメイン配列および重鎖可変ドメイン配列を含む、請求項５に記載の単離された抗原結合タンパク質。

【請求項７】
前記結合タンパク質が、Ａ２、Ａ３、Ａ４およびＡ５からなる抗体の群より選択される参照抗体と実質的に同一のＫｄでＴＳＬＰに結合する、請求項１または５に記載の単離された抗原結合タンパク質。

【請求項８】
前記結合タンパク質が、初代細胞ＯＰＧアッセイにしたがって、Ａ２、Ａ３、Ａ４およびＡ５からなる抗体の群より選択される参照抗体と同一なＩＣ５０で、ＴＳＬＰ活性を阻害する、請求項１または５に記載の単離された抗原結合タンパク質。

【請求項９】
前記抗原結合タンパク質が、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合抗体断片、単鎖抗体、単量体抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、Ｆａｂ断片、Ｆ（ｆａ’）ｘ断片、ドメイン抗体、ＩｇＤ抗体、ＩｇＥ抗体、およびＩｇＭ抗体、およびＩｇＧ１抗体、およびＩｇＧ２抗体、およびＩｇＧ３抗体、およびＩｇＧ４抗体、およびＨ鎖内ジスルフィド結合を形成する傾向を軽減するヒンジ領域内の少なくとも１つの変異を有するＩｇＧ４抗体からなる群より選択される、請求項１に記載の単離された抗原結合タンパク質。

【請求項１０】
前記抗原結合タンパク質がヒト抗体である、請求項１に記載の単離された抗原結合タンパク質。

【請求項１１】
請求項９または１０に記載の抗体を含む、薬学的組成物。

【請求項１２】
請求項５に記載の抗原結合因子の軽鎖可変ドメイン、重鎖可変ドメインまたはその両方をコードするポリヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。

【請求項１３】
前記配列がＬ１～Ｌ２７、Ｈ１～Ｈ２７またはその両方から選択される、請求項１２に記載の単離された核酸。
【請求項１４】
請求項１２に記載の核酸を含む、組換え発現ベクター。
【請求項１５】
請求項１４に記載のベクターを含む、宿主細胞。
【請求項１６】
請求項１０に記載の抗体を産生することができるハイブリドーマ。
【請求項１７】
請求項１１に記載の抗体を生成する方法であって、該方法は、請求項１５に記載の宿主細胞を、該細胞が該抗体を発現することを可能にする条件下で、インキュベートする工程を包含する、方法。
【請求項１８】
ＴＳＬＰ関連炎症状態の処置を必要とする被験体において、ＴＳＬＰ関連炎症状態を処置する方法であって、該方法は、治療有効量の請求項１１に記載の組成物を、該被験体に投与する工程を包含する、方法。
【請求項１９】
前記炎症状態が、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻副鼻腔炎、アレルギー性結膜炎およびアトピー性皮膚炎からなる群より選択される、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
ＴＳＬＰ関連線維症障害の処置を必要とする被験体において、ＴＳＬＰ関連線維症障害を処置する方法であって、該方法は、治療有効量の請求項１１に記載の組成物を、該被験体に投与する工程を包含する、方法。
【請求項２１】
前記線維症障害が、強皮症、間質性肺疾患、特発性肺線維症、慢性Ｂ型肝炎もしくは慢性Ｃ型肝炎から生じる線維症、放射線誘発性線維症および創傷治癒から生じる線維症からなる群より選択される、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
Ａ１～Ａ２７からなる群より選択される抗体と、ＴＳＬＰへの結合について交差競合する、単離された抗原結合タンパク質。
【請求項２３】
前記抗原結合タンパク質が、抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、請求項２２に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項２４】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも高い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ｋ６７Ｅ、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１ＥおよびＫ１０３Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項２５】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性よりも高い結合親和性を有する、請求項２４に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項２６】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも高い結合親和性を有する、請求項２５に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項２７】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも低い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ｋ２１Ｅ、Ｔ２５Ｒ、Ｓ２８Ｒ、

Ｓ６４ＲおよびＫ７３Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項２８】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項２７に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項２９】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項２８に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項３０】
前記抗原結合タンパク質が、野生型の親和性よりも高い親和性で、変異したＴＳＬＰの第２の群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの第２の群は、Ｋ６７Ｅ、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１ＥおよびＫ１０３Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、請求項２７に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項３１】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも高い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１ＥおよびＫ１０３Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項３２】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性よりも高い結合親和性を有する、請求項３１に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項３３】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも高い結合親和性を有する、請求項３２に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項３４】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも低い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ｋ１０Ｅ、Ａ１４Ｒ、Ｋ２１Ｅ、Ｄ２２Ｒ、Ｋ７３Ｅ、Ｋ７５ＥおよびＡ７６Ｒからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項３５】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項３４に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項３６】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項３５に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項３７】
前記抗原結合タンパク質が、野生型の親和性よりも高い親和性で、変異したＴＳＬＰの第２の群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの第２の群は、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１ＥおよびＫ１０３Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、請求項３４に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項３８】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも低い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ｋ１２Ｅ、Ｄ２２Ｒ、Ｓ４０Ｒ、Ｒ１２２Ｅ、Ｎ１２４Ｅ、Ｒ１２５ＥおよびＫ１２９Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項３９】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性

よりも低い結合親和性を有する、請求項３８に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項４０】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項３９に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項４１】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも低い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ｓ４０Ｒ、Ｓ４２Ｒ、Ｈ４６Ｒ、Ｒ１２２ＥおよびＫ１２９Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項４２】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項４１に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項４３】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項４２に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項４４】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも低い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ｄ２Ｒ、Ｔ４Ｒ、Ｄ７Ｒ、Ｓ４２Ｒ、Ｈ４６Ｒ、Ｔ４９Ｒ、Ｅ５０Ｒ、Ｑ１１２Ｒ、Ｒ１２２Ｅ、Ｒ１２５ＥおよびＫ１２９Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項４５】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項４４に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項４６】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項４５に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項４７】
野生型の親和性よりも高い親和性で、変異Ｋ１０１Ｅを含む変異したＴＳＬＰに結合する、請求項４４に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項４８】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも低い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ｎ５Ｒ、Ｓ１７Ｒ、Ｔ１８Ｒ、Ｋ２１Ｅ、Ｄ２２Ｒ、Ｔ２５Ｒ、Ｔ３３Ｒ、Ｈ４６Ｒ、Ａ６３Ｒ、Ｓ６４Ｒ、Ａ６６Ｒ、Ｅ６８Ｒ、Ｋ７３Ｅ、Ｋ７５Ｅ、Ａ７６Ｒ、Ａ９２Ｒ、Ｔ９３Ｒ、Ｑ９４ＲおよびＡ９５Ｒからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項４９】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項４８に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項５０】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項４９に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項５１】
前記抗原結合タンパク質が、野生型の親和性よりも高い親和性で、変異したＴＳＬＰの第２の群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの第２の群は、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１ＥおよびＫ１０３Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、請求項４８に記載の単離された抗原結合タンパク質。

【請求項５２】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも低い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ｋ２１Ｅ、Ｋ２１Ｒ、Ｄ２２Ｒ、Ｔ２５Ｒ、Ｔ３３Ｒ、Ｓ６４Ｒ、Ｋ７３Ｅ、Ｋ７５Ｅ、Ｅ１１１ＲおよびＳ１１４Ｒからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項５３】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項５２に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項５４】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項５３に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項５５】
前記抗原結合タンパク質が、野生型の親和性よりも高い親和性で、変異したＴＳＬＰの第２の群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの第２の群は、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１ＥおよびＫ１０３Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、請求項５２に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項５６】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも低い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ｅ９Ｒ、Ｋ１０Ｅ、Ｋ１２Ｅ、Ａ１３Ｒ、Ｓ１７Ｒ、Ｓ２０Ｒ、Ｋ２１Ｅ、Ｋ２１Ｒ、Ｋ７３Ｅ、Ｋ７５Ｅ、Ｎ１２４ＥおよびＲ１２５Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項５７】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項５６に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項５８】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項５７に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項５９】
前記抗原結合タンパク質が、野生型の親和性よりも高い親和性で、変異したＴＳＬＰの第２の群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの第２の群は、Ｋ６７Ｅ、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１ＥおよびＫ１０３Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、請求項５６に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項６０】
野生型の親和性で野生型ＴＳＬＰを結合する、単離された抗原結合タンパク質であって、該抗原結合タンパク質は、野生型の親和性よりも低い親和性で、変異したＴＳＬＰの群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの群は、Ａ１４Ｒ、Ｋ２１Ｅ、Ｄ２２Ｒ、Ａ６３Ｒ、Ｓ６４Ｒ、Ｋ６７Ｅ、Ｋ７３Ｅ、Ａ７６Ｒ、Ａ９２ＲおよびＡ９５Ｒからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、抗原結合タンパク質。
【請求項６１】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの任意の２つ以上のメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項６０に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項６２】
前記変異したＴＳＬＰの群のうちの全てのメンバーに対して、野生型の親和性よりも低い結合親和性を有する、請求項６１に記載の単離された抗原結合タンパク質。
【請求項６３】
前記抗原結合タンパク質が、野生型の親和性よりも高い親和性で、変異したＴＳＬＰの第２の群のうちのいずれかに結合し、該変異したＴＳＬＰの第２の群は、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８

Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１ＥおよびＫ１０３Ｅからなる群より選択される変異を含む、変異したＴＳＬＰを含む、請求項６０に記載の単離された抗原結合タンパク質。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願への相互参照

この出願は、米国特許法§１１９の下、２００８年８月２５日に出願された米国仮特許出願第６１／０９１，６７６号、および、２００７年９月１０日に出願された米国仮特許出願第６０／９７１，１７８号（これらは、参考として本明細書に援用される）の利益を主張する。

【０００２】

発明の分野

本発明の分野は、ヒト胸腺間質性リンパ球性新生因子（ｔｈｙｍｉｃ　ｓｔｒｏｍａｌ　ｌｙｍｐｈｏｐｏｉｅｔｉｎ）に結合することができる抗体を含む抗原結合タンパク質の組成物、および関連する方法に関する。

【背景技術】

【０００３】

発明の背景

喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎および食物アレルギーなどのアレルギー性疾患の有病率は、近年、特に先進国において増大しているようであり、罹患人口の割合が増加している（非特許文献１）。胸腺間質性リンパ球性新生因子（ＴＳＬＰ）は、炎症促進性刺激（ｐｒｏ－ｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ　ｓｔｉｍｕｌｉ）に応答して産生される、上皮細胞由来サイトカインである。ＴＳＬＰは、主に、樹状細胞およびマスト細胞に対するその活性を介して、アレルギー性炎症反応を促進することが発見されている（非特許文献２、非特許文献３）。ヒトＴＳＬＰの発現は、疾患の重症度と相関して喘息の気道において増大されることが報告されている（非特許文献４）。加えて、ＴＳＬＰタンパク質レベルは、喘息患者およびアレルギー性障害に罹患した他の患者の濃縮された気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）流体において検出可能である。また、増大したレベルのＴＳＬＰタンパク質およびｍＲＮＡは、アトピー性皮膚炎（ＡＤ）の患者の病変皮膚において見出される。したがって、ＴＳＬＰアンタゴニストは、炎症性障害を処置するのに有用である。

【０００４】

さらに、ＴＳＬＰはまた、米国特許出願第１１／３４４，３７９号で報告されるように、線維症を促進することが見出されている。線維症疾患は、組織修復過程の間、線維症段階（ｆｉｂｒｏｓｉｓ　ｐｈａｓｅ）が阻止されずに（ｕｎｃｈｅｃｋｅｄ）継続する場合に生じ、これは、広範な組織リモデリングおよび永続的な瘢痕組織の形成をもたらす（非特許文献５）。米国における死亡のうちの最大４５％が、多くの組織および臓器系を冒し得る線維増殖性疾患に原因があり得ると推定されている（非特許文献５）。

【０００５】

現在、抗炎症処置は、線維症障害を処置するために使用される。なぜなら、線維症は、特発性肺線維症、進行性腎臓疾患および肝硬変のような多くの持続性の炎症疾患に一般的であるからである。しかしながら、線維症の制御に関与する機構は、炎症の機構とは全く異なっているようであり、抗炎症療法は、線維症を低減または予防するのに常に有効とは限らない（非特許文献５）。したがって、線維症を低減および予防する処置を開発するための必要性が残っている。

【０００６】

したがって、ＴＳＬＰに対するアンタゴニストは、これらの炎症性障害および線維症障害を処置するのに有用であることが期待される。本開示は、このような処置および処置方法を提供する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００７】
【非特許文献１】Ｋａｙ，　Ｎ　Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．（２００１）３４４：３０－３７
【非特許文献２】Ｓｏｕｍｅｌｉｓら、Ｎａｔ　Ｉｍｍｕｎ（２００２）３（７）：６７３－６８０
【非特許文献３】Ａｌｌａｋｈｖｅｒｄｉら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．（２００７）２０４（２）：２５３～２５８
【非特許文献４】Ｙｉｎｇら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２００５）１７４：８１８３～８１９０
【非特許文献５】Ｗｙｎｎ、Ｎａｔｕｒｅ　Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（２００４）４、５８３
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００８】
発明の要旨
一局面において、本開示は、単離された抗原結合タンパク質を提供し、この単離された抗原結合タンパク質は、
ａ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲ３配列からなる群より選択されるＣＤＲ３配列から全部で２アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる軽鎖ＣＤＲ３配列；
ｉｉ．ＱＱＡＸ$_{8}$ＳＦＰＬＴ（配列番号２５１）；
から選択される軽鎖ＣＤＲ３配列、ならびに
ｂ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７の重鎖ＣＤＲ３配列からなる群から選択されるＣＤＲ３配列から全部で３アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる重鎖ＣＤＲ３配列；
ｉｉ．ＧＧＧＩＸ$_{12}$ＶＡＤＹＹＸ$_{13}$ＹＧＭＤＶ（配列番号２５５）；
ｉｉｉ．ＤＸ$_{21}$ＧＸ$_{22}$ＳＧＷＰＬＦＸ$_{23}$Ｙ（配列番号２５９）
から選択される重鎖ＣＤＲ３配列を含み、ここでＸ$_{8}$は、Ｎ残基またはＤ残基であり；Ｘ$_{12}$は、Ｐ残基またはＡ残基であり；Ｘ$_{13}$は、Ｙ残基またはＦ残基であり；Ｘ$_{21}$は、Ｇ残基またはＲ残基であり；Ｘ$_{22}$は、Ｓ残基またはＴ残基であり；Ｘ$_{23}$は、Ａ残基またはＤ残基であり、そして上記抗原結合タンパク質は特異的にＴＳＬＰに結合する。
【０００９】
別の局面において、本開示の単離された抗原結合タンパク質はさらに、以下：
ａ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲ１配列から３アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる軽鎖ＣＤＲ１配列；
ｉｉ．ＲＳＳＱＳＬＸ$_{1}$ＹＳＤＧＸ$_{2}$ＴＹＬＮ（配列番号２４６）；
ｉｉｉ．ＲＡＳＱＸ$_{4}$Ｘ$_{5}$ＳＳＷＬＡ（配列番号２４９）；
から選択される軽鎖ＣＤＲ１配列
ｂ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７のＣＤＲ２配列から２アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる軽鎖ＣＤＲ２配列；
ｉｉ．ＫＶＳＸ$_{3}$（配列番号２４７の残基１～４）；
ｉｉｉ．Ｘ$_{6}$Ｘ$_{7}$ＳＳＬＱＳ（配列番号２５０）；あるいは
ｉｖ．ＱＤＸ$_{9}$ＫＲＰＳ（配列番号２５２）
から選択される軽鎖ＣＤＲ２配列；ならびに
ｃ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７のＣＤＲ１配列から２アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる重鎖ＣＤＲ１配列と；
ｉｉ．Ｘ$_{10}$ＹＧＭＨ（配列番号２５３）と；

ｉｉｉ．$X_{15}X_{16}YMX_{17}$（配列番号２５７）と；
から選択される重鎖ＣＤＲ１配列、ならびに
ｄ．以下：
ｉ．Ａ１～Ａ２７のＣＤＲ２配列から３アミノ酸以下の付加、置換および／または欠失だけ異なる重鎖ＣＤＲ２配列と；
ｉｉ．ＶＩＷX_{11}ＤＧＳＮＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２５４）と；
ｉｉｉ．ＶＩＳＹＤＧＳX_{14}ＫＹＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号２５６）と；
ｉｖ．ＷＩＮＰＮＳＧＧＴＮ$X_{18}X_{19}X_{20}$ＫＦＱＧ（配列番号２５８）と；
から選択される重鎖ＣＤＲ２配列のうちの少なくとも１つを含み、ここで、X_1は、Ｖ残基またはＩ残基であり；X_2は、Ｎ残基またはＤ残基であり；X_3は、Ｙ残基またはＮ残基であり；X_4は、Ｇ残基またはＳ残基であり；X_5は、Ｌ残基またはＩ残基であり；X_6は、Ｎ残基またはＴ残基であり；X_7は、Ｔ残基またはＡ残基であり；X_9は、Ｋ残基またはＮ残基であり；X_{10}は、Ｓ残基またはＮ残基であり；X_{11}は、Ｙ残基またはＦ残基であり；X_{14}は、Ｙ残基またはＮ残基であり；X_{15}は、Ｄ残基またはＧ残基であり；X_{16}は、Ｙ残基またはＤ残基であり；X_{17}は、Ｙ残基またはＨ残基であり；X_{18}は、Ｙ残基またはＨ残基であり；X_{19}は、Ｖ残基またはＡ残基であり；X_{20}は、Ｑ残基またはＲ残基であり、そして上記抗原結合タンパク質は特異的にＴＳＬＰに結合する。

【００１０】
本開示の別の局面において、請求項１に記載の単離された抗原結合タンパク質は：
ａ．以下：ｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される軽鎖ＣＤＲ１配列；ｉｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される軽鎖ＣＤＲ２配列；ｉｉｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される軽鎖ＣＤＲ３配列を含む、軽鎖可変ドメイン；または
ｂ．以下：ｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される重鎖ＣＤＲ１配列；ｉｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される重鎖ＣＤＲ２配列、およびｉｉｉ．Ａ１～Ａ２７から選択される重鎖ＣＤＲ３配列を含む、重鎖可変ドメイン；または
ｃ．（ａ）の軽鎖可変ドメインおよび（ｂ）の重鎖可変ドメイン
のいずれかを含む。

【００１１】
さらなる局面において、上記の単離された抗原結合タンパク質は、以下：
ａ．以下：
ｉ．Ｌ１～Ｌ２７から選択される軽鎖可変ドメイン配列に少なくとも８０％同一な配列を有するアミノ酸；
ｉｉ．Ｌ１～Ｌ２７の軽鎖可変ドメイン配列をコードするポリヌクレオチド配列に少なくとも８０％同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；
ｉｉｉ．Ｌ１～Ｌ２７の軽鎖可変ドメイン配列からなるポリヌクレオチドの相補鎖（ｃｏｍｐｌｅｍｅｎｔ）に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする、ポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；
から選択される軽鎖可変ドメイン配列
ｂ．以下：から選択される重鎖可変ドメイン配列
ｉ．Ｈ１～Ｈ２７の重鎖可変ドメイン配列に少なくとも８０％同一であるアミノ酸の配列；
ｉｉ．Ｈ１～Ｈ２７の重鎖可変ドメイン配列をコードするポリヌクレオチド配列に少なくとも８０％同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；
ｉｉｉ．Ｈ１～Ｈ２７の重鎖可変ドメイン配列からなるポリヌクレオチドの相補鎖に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列；あるいは
ｃ．（ａ）の軽鎖可変ドメインおよび（ｂ）の重鎖可変ドメイン、
のいずれかを含み、上記抗原結合タンパク質は特異的にＴＳＬＰに結合する。

【００１２】

さらなる局面において、本開示の単離された抗原結合タンパク質は、ａ．Ｌ１～Ｌ２７から選択される軽鎖可変ドメイン配列；ｂ．Ｈ１～Ｈ２７から選択される重鎖可変ドメイン配列；またはｃ．（ａ）の軽鎖可変ドメインおよび（ｂ）の重鎖可変ドメイン、のいずれかを含み、上記抗原結合タンパク質は、特異的にＴＳＬＰに結合する。

【００１３】

さらなる局面において、上記単離された結合タンパク質は、Ｌ１Ｈ１、Ｌ２Ｈ２、Ｌ３Ｈ３、Ｌ４Ｈ４、Ｌ５Ｈ５、Ｌ６Ｈ６、Ｌ７Ｈ７、Ｌ８Ｈ８、Ｌ９Ｈ９、Ｌ１０Ｈ１０、Ｌ１１Ｈ１１、Ｌ１２Ｈ１２、Ｌ１３．１Ｈ１３、Ｌ１３．２Ｈ１３、Ｌ１４．１Ｈ１４、Ｌ１４．２Ｈ１４、Ｌ１５．１Ｈ１５、Ｌ１５．２Ｈ１５、Ｌ１６．１Ｈ１６、Ｌ１６．２Ｈ１６、Ｌ１７Ｈ１７、Ｌ１８．１Ｈ１８、Ｌ１８．２Ｈ１８、Ｌ１９．１Ｈ１９、Ｌ１９．２Ｈ１９、Ｌ２０．１Ｈ２０、Ｌ２０．２Ｈ２０、Ｌ２１Ｈ２１、Ｌ２２Ｈ２２、Ｌ２３Ｈ２３、Ｌ２４Ｈ２４、Ｌ２５Ｈ２５、Ｌ２６Ｈ２６およびＬ２７Ｈ２７から選択される、軽鎖可変ドメイン配列および重鎖可変ドメイン配列を含む。

【００１４】

さらなる局面において、上記の単離された抗原結合タンパク質は、Ａ２、Ａ３、Ａ４およびＡ５から選択される参照抗体と実質的に同一なＫｄでＴＳＬＰに結合する結合タンパク質を含む。別の局面において、上記の単離された抗原結合タンパク質は、初代細胞ＯＰＧアッセイにしたがって、Ａ２、Ａ３、Ａ４またはＡ５から選択される参照抗体と同一なＩＣ５０で、ＴＳＬＰ活性を阻害する結合タンパク質を含む。

【００１５】

なおさらなる局面において、上記の単離された抗原結合タンパク質は、参照抗体とＴＳＬＰの結合に関して交差競合（ｃｒｏｓｓ－ｃｏｍｐｅｔｅ）する。別の局面において、上記の単離された抗原結合タンパク質は、参照抗体（例えば、Ａ２、Ａ４、Ａ５、Ａ６、Ａ７、Ａ１０、Ａ２１、Ａ２３またはＡ２６）と同じエピトープと結合する。

【００１６】

一局面において、上記の単離された抗原結合タンパク質は、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合抗体断片、単鎖抗体（ｓｉｎｇｌｅ－ｃｈａｉｎ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）、ダイアボディ（ｄｉａｂｏｄｙ）、トリアボディ（ｔｒｉａｂｏｄｙ）、テトラボディ、Ｆａｂ断片、Ｆ（ｆａ’）ｘ断片、ドメイン抗体、ＩｇＤ抗体、ＩｇＥ抗体、およびＩｇＭ抗体、およびＩｇＧ１抗体、およびＩｇＧ２抗体、およびＩｇＧ３抗体、およびＩｇＧ４抗体、およびＨ鎖内ジスルフィド結合を形成する傾向を軽減するヒンジ領域内の少なくとも１つの変異を有するＩｇＧ４抗体から選択される。一局面において、上記の単離された抗原結合タンパク質はヒト抗体である。

【００１７】

本開示の抗原結合因子の、軽鎖可変ドメイン、重鎖可変ドメインまたはその両方をコードするポリヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子もまた提供される。一実施形態において、上記ポリヌクレオチドは、軽鎖可変配列Ｌ１～Ｌ２７および／または重鎖可変配列Ｈ１～Ｈ２７、あるいはその両方を含む。

【００１８】

本開示のポリヌクレオチドを含むベクターも提供される。一実施形態において、このベクターは発現ベクターである。このベクターを含む宿主細胞もまた提供される。本発明の抗原結合タンパク質を産生することができるハイブリドーマもまた提供される。この宿主細胞がこの抗原結合タンパク質を発現することを可能にする条件下で、この宿主細胞を培養する工程を包含する、この抗原結合タンパク質を作製する方法もまた提供される。

【００１９】

本発明の抗原結合タンパク質を含む薬学的組成物もまた提供される。一実施形態において、この薬学的組成物はヒト抗体を含む。ＴＳＬＰ関連炎症状態の処置を必要とする被験体においてＴＳＬＰ関連炎症状態を処置する方法もまた提供され、この方法は、治療有効量の上記組成物を上記被験体に投与する工程を包含する。一実施形態において、この炎症

状態は、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻副鼻腔炎、アレルギー性結膜炎またはアトピー性皮膚炎である。ＴＳＬＰ関連線維症障害の処置を必要とする被験体においてＴＳＬＰ関連線維症障害を処置する方法もまた提供され、この方法は、治療有効量の上記組成物を上記被験体に投与する工程を包含する。一実施形態において、この線維症障害は、強皮症、間質性肺疾患、特発性肺線維症、慢性Ｂ型肝炎もしくは慢性Ｃ型肝炎から生じる線維症、放射線誘発性線維症、および創傷治癒から生じる線維症である。

【図面の簡単な説明】

【００２０】

【図１Ａ】Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに、各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図１Ｂ】Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに、各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図１Ｃ】Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに、各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図１Ｄ】Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに、各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図１Ｅ】Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに、各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図１Ｆ】Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに、各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図２Ａ】Ａ１～Ａ２７の重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図２Ｂ】Ａ１～Ａ２７の重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図２Ｃ】Ａ１～Ａ２７の重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図２Ｄ】Ａ１～Ａ２７の重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図２Ｅ】Ａ１～Ａ２７の重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【図２Ｆ】Ａ１～Ａ２７の重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３領域のアミノ酸配列を提供する。さらに各ＣＤＲをコードする例示的なヌクレオチド配列を提供する。

【発明を実施するための形態】

【００２１】

発明の詳細な説明

本発明は、サイトカインであるヒト胸腺間質性リンパ球性新生因子（ＴＳＬＰ）に特異的に結合する抗原結合因子（抗原結合タンパク質を含む）に関し、これらとしては、拮抗性ＴＳＬＰ抗体、抗体断片および抗体誘導体のような、ＴＳＬＰの結合およびシグナル伝達を阻害する抗原結合タンパク質が挙げられる。これらの抗原結合因子は、ＴＳＬＰがそのレセプターに結合することを阻害またはブロックするのに有用であり、そして炎症疾患、線維症疾患および他の関連状態を処置するのに有用である。

【００２２】

本発明はさらに、ＴＳＬＰに結合する抗原結合タンパク質に関する組成物、キットおよび方法を提供する。抗ＴＳＬＰ抗体、抗体断片、または抗体誘導体の全てまたはその一部をコードする核酸のような、ＴＳＬＰに結合するポリペプチドの全てまたはその一部をコードするポリヌクレオチドの配列を含む、核酸分子ならびにその誘導体および断片もまた提供される。本発明はさらに、そのような核酸を含むベクターおよびプラスミド、ならびにそのような核酸および／またはベクターおよびプラスミドを含む細胞または細胞株を提供する。提供される方法は、例えば、ヒトＴＳＬＰに結合する抗原結合タンパク質（例えば、抗ＴＳＬＰ抗体）を作製、同定または単離する方法、抗原結合タンパク質がＴＳＬＰ

に結合するか否かを決定する方法、ＴＳＬＰに結合する抗原結合タンパク質を含む組成物（例えば、薬学的組成物）を作製する方法、ならびに被験体にＴＳＬＰに結合する抗原結合タンパク質を投与するための方法（例えば、ＴＳＬＰによって媒介される状態を処置するための方法）、およびインビトロもしくはインビボでＴＳＬＰシグナル伝達に関連する生物学的活性を調節するための方法を含む。

【００２３】

ＴＳＬＰ

胸腺間質性リンパ球性新生因子（ＴＳＬＰ）とは、４つのα－ヘリックス束（α－ｈｅｌｉｃａｌ　ｂｕｎｄｌｅ）のＩ型サイトカインをいい、これは、ＩＬ－２ファミリーのメンバーであるが、ＩＬ－７に最も密接に関連する。サイトカインは、特定の刺激に応答して分泌される低分子量の調節性タンパク質であり、これは、標的細胞の膜上のレセプターに作用する。サイトカインは、種々の細胞応答を調節する。サイトカインは、概して、Ｃｙｔｏｋｉｎｅｓ、Ａ．Ｍｉｒｅ－ＳｌｕｉｓおよびＲ．Ｔｈｏｒｎｅ編、Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，（１９９８）のような参考文献に記載される。

【００２４】

ＴＳＬＰは、元々、マウス胸腺間質細胞株からクローニングされ（Ｓｉｍｓら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ　１９２（５），６７１－６８０（２０００））、初期のＢ細胞およびＴ細胞の発達を支持することが見出されている。後に、ヒトＴＳＬＰがクローニングされ、マウスのホモログに対してアミノ酸配列で４３％の同一性を有することが見出された（Ｑｕｅｎｔｍｅｉｅｒら、Ｌｅｕｋｅｍｉａ　１５、１２８６－１２９２（２００１）および米国特許第６，５５５，５２０号（これは、参考として本明細書に援用される））。ヒトＴＳＬＰのポリヌクレオチド配列およびアミノ酸配列は、それぞれ配列番号１および２で提示される。ＴＳＬＰは、ＴＳＬＰレセプター（ＴＳＬＰＲ）（これは、米国特許出願第０９／８９５，９４５号（公開番号：２００２／００６８３２３）に記載される）（配列番号３および４）と呼ばれるヘマトポイエチンレセプターファミリーからのレセプター鎖に対して低い親和性で結合することが見出されている。それぞれ、ヒトＴＳＬＰＲをコードするポリヌクレオチド配列は、この出願の配列番号３として提示され、そのアミノ酸配列は、この出願の配列番号４として提示される。ＴＳＬＰＲの可溶性ドメインは、配列番号４のおおよそアミノ酸２５～２３１である。ＴＳＬＰは、ＴＳＬＰＲのヘテロ二量体複合体およびインターロイキン７レセプターαＩＬ－７Ｒαに対して高い親和性で結合する（Ｐａｒｋら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ　１９２：５（２０００）、米国特許出願第０９／８９５，９４５号、公開番号Ｕ．Ｓ．２００２／００６８３２３）。ＩＬ－７レセプターαの配列は、米国特許第５，２６４，４１６号（これは、参考として本明細書に援用される）の図２に示される。ＩＬ－７レセプターαの可溶性ドメインの配列は、米国特許第５，２６４，４１６号の図２のアミノ酸１～２１９である。

【００２５】

本明細書で使用される場合、用語「ＴＳＬＰポリペプチド」とは、免疫原として有用なＴＳＬＰの種々の形態をいう。これらとしては、ＰＣＴ特許出願公報ＷＯ０３／０３２８９８に記載されるように、フューリン（ｆｕｒｉｎ）切断部位がアミノ酸配列の改変を通して除去された、改変された形態で発現されるＴＳＬＰが挙げられる。改変されたＴＳＬＰは活性を保持するが、全長の配列は、ＣＨＯ細胞のような哺乳動物細胞でより容易に発現される。ＴＳＬＰポリペプチドの例としては、配列番号２、配列番号３７３および配列番号３７５が挙げられる。

【００２６】

さらに、カニクイザル（ｃｙｎｏｍｏｌｇｕｓ）ＴＳＬＰが同定され、それは、以下の実施例１で示され、例えば配列番号３８０に示される。

【００２７】

ＴＳＬＰは、定量的ｍＲＮＡ分析によって測定されるように、皮膚上皮細胞、気管支上皮細胞、気管上皮細胞、および気道上皮細胞、ケラチノサイト、間質およびマスト細胞、平滑筋細胞ならびに肺および皮膚線維芽細胞を含む、ヒト上皮細胞で産生される（Ｓｏｕ

ｍｅｌｉｓら、Ｎａｔｕｒｅ Ｉｍｍｕｎｏｌ．３（７）６７３－６８０（２００２））。マウスＴＳＬＰおよびヒトＴＳＬＰの両方は、アレルギー性炎症を促進することに関与している。

【００２８】

【表１】

表１

タンパク質の名称	種	別名	データベース(または特許出願)	アクセッション番号
TSLP	ヒト	胸腺間質性リンパ球性新生因子タンパク質	GenBank/ 米国特許第6555520号の配列番号2	AAK67940/
改変されたTSLP	ヒト	胸腺間質性リンパ球性新生因子	WO03/032898の配列番号10、12、14、16、17、18	
TSLP	マウス	胸腺間質由来リンパ球性新生因子(Thymic stroma derived lymphopoietin;Thymic stromal derived lymphopoietin)	GenBank	AAF81677
TSLPR	ヒト	サイトカインレセプター様2(CRL2);IL-XR;胸腺間質性リンパ球性新生因子タンパク質レセプター	US2002/0068323の配列番号5	
TSLPR	Mus	サイトカインレセプター様因子2;I型サイトカインレセプターδ1;サイトカインレセプター様分子2(CRLM-2);胸腺間質性リンパ球性新生因子タンパク質レセプター	GenBank, SWISSPROT	Q8CII9
IL-7R	ヒト	インターロイキン-7レセプター	GenBank/ 米国特許第5264416号	NM_002185

ＴＳＬＰ活性

ＴＳＬＰ活性は、ＰＣＴ特許出願公報ＷＯ０３／０３２８９８に記載されるように、ヒトＴＳＬＰＲを発現するＢＡＦ細胞（ＢＡＦ／ＨＴＲ）の増殖を含む。ＢＡＦ／ＨＴＲバイオアッセイは、ヒトＴＳＬＰレセプターでトランスフェクトされたマウスプロＢリンパ球（ｐｒｏ Ｂ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅ）細胞株を利用する。ＢＡＦ／ＨＴＲ細胞は、成長に関してｈｕＴＳＬＰに依存し、そして試験サンプルに添加された活性なｈｕＴＳＬＰに応答して増殖する。インキュベーション期間後、細胞増殖は、アラマーブルー色素Ｉまたはトリチウムチミジンを添加することによって測定される。増殖はまた、ＣＹＱＵＡＮＴ細胞増殖アッセイキット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）のような市販のキットを使用して測定され得る。

【００２９】

ｈｕＴＳＬＰ活性についてのさらなるアッセイは、例えば、米国特許第６，５５５，５２０号に記載されるような、ＴＳＬＰによるヒト骨髄からのＴ細胞の成長の誘導を測定するアッセイを含む。別のＴＳＬＰ活性は、Ｌｅｖｉｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６２：６７７－６８３（１９９９）およびＰＣＴ特許出願ＷＯ０３／０３２８９８に関して記載されるように、ＳＴＡＴ５を活性化する活性である。

【００３０】

さらなるアッセイは、米国出願公開番号２００６／００３９９１０（連続番号１１／２０５，９０９）に記載されるように、初代ヒト単球細胞および樹状細胞からのＴＳＬＰに誘導されたＣＣＬ１７／ＴＡＲＣの産生を含む。

【００３１】

ＴＳＬＰ活性を測定するのに有用な細胞ベースのアッセイは、以下の実施例に記載される。これらは、上記のＢＡＦ細胞増殖アッセイ、および初代ヒト樹状細胞からのＴＳＬＰに誘導されたオステオプロテゲリン（ＯＰＧ）の産生を測定する、以下に記載の初代細胞アッセイ、および以下にまた記載の、カニクイザル末梢血単核細胞アッセイを含む。

【００３２】

ＴＳＬＰ活性はさらにインビボ活性を含む。これらは、マウスモデルにおいて測定され得る（例えば、Ｚｈｏｕら、Ｎａｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ ６（１０）１０４７－１０５３（２００５）およびＹｏｏら、Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ．２０２（４）５４１－５４９（２００５）に記載されるようなもの）。例えば、抗マウスＴＳＬＰ抗体は、Ｏｖａ－喘息モデルにおいてＢＡＬＦの細胞充実性ならびにＩＬ－５およびＩｌ－１３のＢＡＬＦレベルを低減させることが示されている（Ｚｈｏｕら）。

【００３３】

定義

ポリヌクレオチド配列およびポリペプチド配列は、標準的な一文字または三文字略字を使用して示される。他に指定されない限り、ポリペプチド配列は、左側にそのアミノ末端を有し、右側にそのカルボキシ末端を有し、そして一本鎖核酸配列、および二本鎖核酸配列の上部の鎖（ｔｏｐ ｓｔｒａｎｄ）は、左側にその５’末端を有し、右側にその３’末端を有する。また、特定のポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列は、それが参照配列からどのように異なっているのか説明することによって記載され得る。

【００３４】

特定の軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメイン（Ｌ１（「軽鎖可変ドメイン１」）、Ｈ１（「重鎖可変ドメイン１」）など）のポリヌクレオチド配列およびポリペプチド配列。軽鎖および重鎖を含む抗体は、軽鎖可変ドメインの名称および重鎖可変ドメインの名称を合わせることによって示される。例えば、「Ｌ４Ｈ７」は、Ｌ４の軽鎖可変ドメインおよびＨ７の重鎖可変ドメインを含む抗体を示す。

【００３５】

本明細書で他に定義されない限り、本発明と関連して使用される科学用語および技術用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有する。さらに、状況によって他に必要とされない限り、単数の用語は複数を含み、複数の用語は、単数を含む。一般的に、本明細書に記載される細胞および組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学、ならびにタンパク質化学および核酸化学およびハイブリダイゼーションに関連した学術用語およびそれらの技術は、周知であり、当該技術分野において一般的に使用されるものである。本発明の方法および技術は、他に指定されない限り、概して、当該技術分野で周知であり、そして本明細書を通して引用および考察される種々の一般的かつより具体的な参考文献に記載される従来の方法にしたがって実行される。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第２版、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、Ｎ．Ｙ．（１９８９）、ならびにＡｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ（１９９２）、ならびにＨａｒｌｏｗおよびＬａｎｅ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、Ｎ．Ｙ．（１９９０）（これらは参考として本明細書に援用される）を参照のこと。酵素反応および精製技術は、製造者の仕様書にしたがって、当該技術分野で一般的に完遂されるかまたは本明細書に記載されるように実行される。本明細書に記載される分析化学、合成有機化学、ならびに医薬品化学および製薬化学に関

連して使用される専門用語ならびにそれらの実験室手順および技術は、周知であり、当該技術分野において一般的に使用されるものである。化学合成、化学分析、薬学的調製物、処方物、および送達および患者の処置に対して標準的な技術が使用され得る。

【００３６】

以下の用語は、他に指定されない限り、以下の意味を有すると理解される。用語「単離された分子」（この分子が、例えば、ポリペプチド、ポリヌクレオチドまたは抗体である場合）は、その起源または誘導物の供給源に基づき、（１）その天然の状態ではそれに付随する天然では付随している成分を伴わないか、（２）同一の種に由来する他の分子を実質的に含まないか、（３）異なる種由来の細胞によって発現されるか、または（４）天然には存在しない分子である。したがって、化学的に合成されるか、またはそれが天然で生じる細胞とは異なる細胞系で発現される分子は、その天然では付随している成分から「単離」されている。分子はまた、当該技術分野で周知の精製技術を使用して、単離によって天然では付随している成分を実質的に含まないようにされ得る。分子の純度または均質性は、当該技術分野で周知の多くの方法によってアッセイされ得る。例えば、ポリペプチドサンプルの純度は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動および当該技術分野で周知の技術を使用してポリペプチドを可視化するゲルの染色を使用してアッセイされ得る。特定の目的のために、より高い分離能（ｒｅｓｏｌｕｔｉｏｎ）が、ＨＰＬＣまたは精製に関して当該技術分野で周知である他の手段を使用することによって提供され得る。

【００３７】

用語「ＴＳＬＰインヒビター」および「ＴＳＬＰアンタゴニスト」は、相互に交換可能に使用される。各々は、ＴＳＬＰシグナル伝達を検出可能に阻害する分子である。ＴＳＬＰインヒビターによって生じるこの阻害は、アッセイを使用してそれが検出可能である限りは、完全である必要はない。例えば、以下の実施例４に記載される細胞ベースのアッセイは、ＴＳＬＰシグナル伝達の阻害を測定するのに有用なアッセイを実証する。

【００３８】

用語「ペプチド」、「ポリペプチド」および「タンパク質」とはそれぞれ、ペプチド結合によって互いに連結した２つ以上のアミノ酸残基を含む分子をいう。これらの用語は、例えば、天然および人工タンパク質、タンパク質断片およびタンパク質配列のポリペプチドアナログ（例えば、ムテイン、改変体および融合タンパク質）、ならびに翻訳後、またはその他の方法で共有結合的もしくは非共有結合的に改変されたタンパク質を包含する。ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質は、単量体または多量体であり得る。

【００３９】

本明細書で使用される場合、用語「ポリペプチド断片」とは、対応する全長タンパク質と比較してアミノ末端および／またはカルボキシ末端の欠失を有するポリペプチドをいう。例えば、断片は、長さが少なくとも５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、２０、５０、７０、８０、９０、１００、１５０または２００アミノ酸であり得る。例えば、断片はまた、長さが多くても１，０００、７５０、５００、２５０、２００、１７５、１５０、１２５、１００、９０、８０、７０、６０、５０、４０、３０、２０、１５、１４、１３、１２、１１または１０アミノ酸であり得る。断片はさらに、そのいずれかの末端または両方の末端に、１つ以上の追加のアミノ酸（例えば、天然に存在する異なるタンパク質（例えば、Ｆｃまたはロイシンジッパードメイン）に由来するアミノ酸の配列または人工のアミノ酸配列（例えば、人工のリンカー配列））を含み得る。

【００４０】

本発明のポリペプチドは、例えば、（１）タンパク質分解に対する感受性を低減する、（２）酸化に対する感受性を低減する、（３）タンパク質複合体を形成する結合親和性を変更する、（４）結合親和性を変更する、および（４）他の物理化学的特性または機能特性を付与または改変する任意の方法および任意の理由で改変されたポリペプチドを含む。アナログは、ポリペプチドのムテインを含む。例えば、単一または複数のアミノ酸置換（例えば、保存的アミノ酸置換）は、天然に存在する配列（例えば、分子間接触を形成するドメインの外側のポリペプチドの一部）でなされ得る。「保存的アミノ酸置換」は、親配

列の構造的特徴を実質的に変化させない（例えば、置換アミノ酸は、親配列に存在するヘリックスを破壊する傾向もなく、親配列を特徴付けるかまたはその機能性に必要とされる他の型の二次構造を破壊する傾向もないはずである）ものである。当該技術分野で認識されるポリペプチドの二次構造および三次構造の例は、Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ（Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ編、Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４））；Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ（Ｃ．ＢｒａｎｄｅｎおよびＪ．Ｔｏｏｚｅ編、Ｇａｒｌａｎｄ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｎ．Ｙ．（１９９１））；およびＴｈｏｒｎｔｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ ３５４：１０５（１９９１）（これらは、それぞれ参考として本明細書に援用される）に記載される。

【００４１】

ポリペプチドの「改変体」は、アミノ酸配列であって、１つ以上のアミノ酸残基を、別のポリペプチド配列と比較して、そのアミノ酸配列に挿入するか、それから欠失させるか、および／または置換させた、アミノ酸配列を含む。本発明の改変体は融合タンパク質を含む。本明細書に記載される抗体の改変体はまた、プロセシングに由来するものを含む。このような改変体は、例えば、非効率的なシグナル配列の切断の結果として、軽鎖または重鎖のＮ末端に、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０以上の追加のアミノ酸を有するものを含む。このような改変体は、軽鎖または重鎖のＮ末端またはＣ末端から１つ以上のアミノ酸を欠失したものも含む。

【００４２】

ポリペプチドの「誘導体」は、例えば、別の化学的な部分（例えば、ポリエチレングリコール、アルブミン（例えば、ヒト血清アルブミン）など）への結合体化、リン酸化およびグリコシル化を介して化学的に改変されたポリペプチド（例えば、抗体）である。他に指定されない限り、用語「抗体」は、２つの全長重鎖および２つの全長軽鎖を含む抗体に加えて、その誘導体、改変体、断片およびムテインを含む。これらの例は、以下に記載される。

【００４３】

本開示にしたがう「抗原結合タンパク質」は、抗原に結合することができるタンパク質、および必要に応じて、抗原結合部分が、抗原への抗原結合タンパク質の結合を促進するコンフォメーションを採用することを可能にする足場（ｓｃａｆｆｏｌｄ）またはフレームワーク部分である。一実施形態において、本発明の抗原結合タンパク質は、少なくとも１つのＣＤＲを含む。抗原結合タンパク質の例は、抗体、抗体断片（例えば、抗体の抗原結合部分）、抗体誘導体および抗体アナログを含む。この抗原結合タンパク質は、例えば、グラフト化されたＣＤＲまたはＣＤＲ誘導体を有する代替的なタンパク質足場または人工の足場を含み得る。このような足場としては、例えば、抗原結合タンパク質の三次元構造を安定化する、導入された変異を含む抗体由来の足場、ならびに例えば、生体適合性ポリマーを含む完全な合成足場が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Ｋｏｒｎｄｏｒｆｅｒら、２００３、Ｐｒｏｔｅｉｎｓ：Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ，Ｆｕｎｃｔｉｏｎ，ａｎｄ Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ、第５３巻、１号：１２１～１２９；Ｒｏｑｕｅら、２００４、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｐｒｏｇ．２０：６３９～６５４を参照のこと。さらに、ペプチド抗体模倣物（ｐｅｐｔｉｄｅ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｍｉｍｅｔｉｃ）（「ＰＡＭ」）ならびに足場としてフィブロネクチン成分を利用する足場に基づく抗体模倣物が使用され得る。

【００４４】

抗原結合タンパク質は、例えば、天然に存在する免疫グロブリンの構造を有し得る。「免疫グロブリン」は、四量体分子である。天然に存在する免疫グロブリンにおいて、各四量体は、ポリペプチド鎖の２つの同一な対から構成され、各対は、１つの「軽い」鎖（約２５ｋＤａ）および１つの「重い」鎖（約５０～７０ｋＤａ）を有する。各鎖のアミノ末端部分は、抗原認識の主役をなす、約１００～１１０以上のアミノ酸の可変領域を含む。

各鎖のカルボキシ末端部分は、エフェクター作用の主役をなす定常領域を規定する。ヒト軽鎖は、κ軽鎖およびλ軽鎖と分類される。重鎖は、μ、δ、γ、α、またはεと分類され、それぞれ抗体のアイソタイプをＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＧ、ＩｇＡおよびＩｇＥとして規定する。軽鎖および重鎖内で、可変領域および定常領域は、約１２個以上のアミノ酸の「Ｊ」領域によって連結され、重鎖はまた、約１０個超のアミノ酸の「Ｄ」領域を含む。一般的に、Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　Ｃｈ．７（Ｐａｕｌ，Ｗ．編、第２版、Ｒａｖｅｎ　Ｐｒｅｓｓ、Ｎ．Ｙ．（１９８９））（これは、全ての目的のために、その全体が参考として本明細書に援用される）を参照のこと。各軽鎖／重鎖の対の可変領域は、抗体結合部位を形成し、その結果、インタクトな免疫グロブリンが２つの結合部位を有する。

【００４５】

天然に存在する免疫グロブリン鎖は、３つの超可変領域（相補性決定領域またはＣＤＲとも呼ばれる）によって連結された、比較的保存されたフレームワーク領域（ＦＲ）の同様な一般的構造を示す。Ｎ末端からＣ末端まで、軽鎖および重鎖の両方は、ドメインＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３およびＦＲ４を含む。各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、Ｋａｂａｔら、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、ＵＳ　Ｄｅｐｔ．ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＰＨＳ、ＮＩＨ、ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　ｎｏ．９１～３２４２、１９９１の定義にしたがう。インタクトな抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、または全長の重鎖および軽鎖を有する完全ヒト抗体を含む。

【００４６】

「抗体」とは、他に特定されない限り、特異的な結合に関してインタクトな抗体と競合する、インタクトな免疫グロブリンまたはその抗原結合部分をいう。抗原結合部分は、組換えＤＮＡ技術またはインタクトな抗体の酵素的切断もしくは化学的切断によって生成され得る。抗原結合部分としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｄ、Ｆｖ、およびドメイン抗体（ｄＡｂ）、および相補性決定領域（ＣＤＲ）断片、単鎖抗体（ｓｃＦｖ）、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ならびに、ポリペプチドに対する特異的な抗原結合を付与するのに十分である免疫グロブリンの少なくとも一部を含むポリペプチドが挙げられる。

【００４７】

Ｆａｂ断片は、V_L、V_H、C_LおよびC_H1ドメインを有する一価の断片であり；Ｆ（ａｂ’）$_2$断片は、ヒンジ領域においてジスルフィド架橋によって連結された２つのＦａｂ断片を有する二価の断片であり；Ｆｄ断片は、V_HドメインおよびC_H1ドメインを有し；Ｆｖ断片は、抗体の単一のアーム（ａｒｍ）のV_LドメインおよびV_Hドメインを有し；そして、ｄＡｂ断片は、V_Hドメイン、V_Lドメイン、またはV_HもしくはV_Lドメインの抗原結合断片を有する（米国特許第６，８４６，６３４号、同第６，６９６，２４５号、米国特許出願公開第０５／０２０２５１２号、同第０４／０２０２９９５号、同第０４／００３８２９１号、同第０４／０００９５０７号、同第０３／００３９９５８号、Ｗａｒｄら、Ｎａｔｕｒｅ　３４１：５４４－５４６、１９８９）。

【００４８】

単鎖抗体（ｓｃＦｖ）は、V_LおよびV_H領域が、リンカー（例えば、アミノ酸残基の合成配列）によって連結され、連続的なタンパク質鎖（ここで、このリンカーは、このタンパク質鎖がそれ自体に折り重なることを可能にするのに十分長い）を形成し、一価の抗原結合部位を形成する抗体である（例えば、Ｂｉｒｄら、１９８８、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４２：４２３－２６、およびＨｕｓｔｏｎら、１９８８、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８５：５８７９～８３を参照のこと）。ダイアボディは、２つのポリペプチド鎖を含む二価の抗体であり、ここで、各ポリペプチド鎖は、リンカーによって連結されたV_HドメインおよびV_Lドメインを含み、このリンカーは、同一の鎖上の２つのドメイン間で対形成させるには短すぎ、したがって、各ドメインが、別のポリペプチド

鎖上の相補的なドメインと対形成することを可能にする（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒら、１９９３、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：６４４４－４８、およびＰｏｌｊａｋら、１９９４、Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ２：１１２１－２３を参照のこと）。ダイアボディの２つのポリペプチド鎖が同一である場合、それらの対形成から生じるダイアボディは、２つの同一な抗原結合部位を有する。異なる配列を有するポリペプチド鎖が使用され得、２つの異なる抗原結合部位を有するダイアボディを作製し得る。同様に、トリアボディ（ｔｒｉｂｏｄｙ）およびテトラボディは、それぞれ、３つおよび４つのポリペプチド鎖を含み、それぞれ、同一でも異なっていてもよい３つおよび４つの抗原結合部位を形成する抗体である。

【００４９】

所定の抗体の相補性決定領域（ＣＤＲ）およびフレームワーク領域（ＦＲ）は、Ｋａｂａｔら、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、ＵＳ Ｄｅｐｔ．ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＰＨＳ、ＮＩＨ、ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ ｎｏ．９１～３２４２、１９９１によって記載される体系的方法を使用して同定され得る。１つ以上のＣＤＲは、共有結合的または非共有結合的のいずれかで分子に組み込まれ得、その分子を抗原結合タンパク質にする。抗原結合タンパク質は、より長いポリペプチド鎖の一部としてＣＤＲを組み込み得るか、別のポリペプチド鎖にＣＤＲを共有結合的に連結し得るか、または非共有結合的にＣＤＲを組み込み得る。これらのＣＤＲは、この抗原結合タンパク質が目的の特定の抗原に特異的に結合することを可能にする。

【００５０】

抗原結合タンパク質は、１つ以上の結合部位を有し得る。１つより多い結合部位が存在する場合、結合部位は、互いに同一であっても異なっていてもよい。例えば、天然に存在するヒト免疫グロブリンは、代表的に２つの同一な結合部位を有し、一方、「二重特異性」または「二機能性」抗体は、２つの異なる結合部位を有する。

【００５１】

用語「ヒト抗体」は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する１つ以上の可変領域および定常領域を有する、全ての抗体を含む。一実施形態において、全ての可変ドメインおよび定常ドメインは、ヒト免疫グロブリン配列より得られる（完全ヒト抗体）。これらの抗体は、種々の方法（その例（ヒト重鎖および／または軽鎖をコードする遺伝子から得られる抗体を発現するように遺伝的に改変されているマウスの、目的の抗原を使用しての免疫化を介するものを含む）は、以下に記載される）で調製され得る。

【００５２】

ヒト化抗体は、１つ以上のアミノ酸の置換、欠失および／または付加によって、非ヒト種から得られる抗体の配列とは異なる配列を有し、その結果、このヒト化抗体は、ヒト被験体に投与された場合に、非ヒト種の抗体と比較して免疫応答を惹起する可能性が少ないか、そして／またはより重篤ではない免疫応答を惹起する。一実施形態において、非ヒト種の抗体の重鎖および／または軽鎖のフレームワークドメインおよび定常ドメイン内の特定のアミノ酸は、ヒト化抗体を生成するように変異される。別の実施形態において、ヒト抗体由来の定常ドメインを、非ヒト種の可変ドメインに融合する。別の実施形態において、非ヒト抗体の１つ以上のＣＤＲ配列内の１つ以上のアミノ酸残基は、ヒト被験体に投与された場合に、非ヒト抗体の可能性のある免疫原性を低減するように変更され、ここで、変更されたアミノ酸残基は、抗体の、その抗原に対する免疫特異的な結合に重要ではないか、アミノ酸配列へなされた変化は、保存的変化であるかのいずれかであり、その結果、ヒト化抗体の抗原への結合は、非ヒト抗体の抗原への結合よりも有意には劣っていない。ヒト化抗体を作製する方法の例は、米国特許第６，０５４，２９７号、同第５，８８６，１５２号および同第５，８７７，２９３号に見出され得る。

【００５３】

用語「キメラ抗体」とは、１つの抗体に由来する１つ以上の領域、および１つ以上の他の抗体に由来する１つ以上の領域を含む抗体をいう。一実施形態において、ＣＤＲのうち

の１つ以上が、ヒト抗ＴＳＬＰ抗体から得られる。別の実施形態において、ＣＤＲのうちの全てが、ヒト抗ＴＳＬＰ抗体から得られる。別の実施形態において、１つより多いヒト抗ＴＳＬＰ抗体に由来するＣＤＲが、キメラ抗体内で混合および調和される。例えば、キメラ抗体は、第一のヒト抗ＴＳＬＰ抗体の軽鎖由来のＣＤＲ１、第二のヒト抗ＴＳＬＰ抗体の軽鎖由来のＣＤＲ２およびＣＤＲ３、ならびに第三の抗ＴＳＬＰ抗体の重鎖由来のＣＤＲを含み得る。さらに、フレームワーク領域は、同じ抗ＴＳＬＰ抗体のうちの１つ、１つ以上の異なる抗体（例えば、ヒト抗体）、またはヒト化抗体から得られ得る。キメラ抗体の一例において、重鎖および／または軽鎖の一部は、特定の種に由来するか、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体と同一であるか、その抗体に相同であるか、あるいはその抗体から得られるが、一方、鎖の残りは、別の種に由来するか、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体と同一であるか、その抗体に相同であるか、あるいはその抗体から得られる。所望の生物学的活性（すなわち、ヒトＴＳＬＰレセプターに特異的に結合する能力）を示す、このような抗体の断片もまた含まれる。

【００５４】

抗体の断片またはアナログは、本明細書の教示にしたがい、そして当該技術分野で周知の技術を使用して、当業者によって容易に調製され得る。断片またはアナログの好ましいアミノ末端およびカルボキシ末端は、機能性ドメインの境界の近傍に存在する。構造ドメインおよび機能性ドメインは、ヌクレオチドおよび／またはアミノ酸の配列データと公開または専有の配列データベースとの比較によって同定され得る。コンピュータ化された比較方法が、既知の構造および／または機能を有する他のタンパク質に存在する、配列モチーフまたは予測されたタンパク質コンフォメーションドメインを同定するために使用され得る。既知の三次元構造に折りたたむタンパク質配列を同定するための方法は公知である。例えば、Ｂｏｗｉｅら、１９９１、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２５３：１６４を参照のこと。

【００５５】

「ＣＤＲグラフト化抗体」は、特定の種もしくはアイソタイプの抗体に由来する１つ以上のＣＤＲ、および同じもしくは異なる種もしくはアイソタイプの別の抗体のフレームワークを含む抗体である。

【００５６】

「多特異性抗体」は、１つ以上の抗原上の１つより多いエピトープを認識する抗体である。抗体のこの型のサブクラスは、同一または異なる抗原上の２つの異なるエピトープを認識する「二重特異性抗体」である。

【００５７】

抗体を含む抗原結合タンパク質は、それが、10^{-7}Ｍ以下のＫｄ（または、以下に定義される、対応するＫｂ）値によって決定されるように高い結合親和性でＴＳＬＰのような抗原に結合する場合、その抗原に「特異的に結合する」。

【００５８】

「抗原結合ドメイン」、「抗原結合領域」または「抗原結合部位」は、抗原と相互作用し、そしてその抗原に対する抗原結合タンパク質の特異性および親和性に寄与するアミノ酸残基（または他の部分）を含む抗原結合タンパク質の一部である。抗原に特異的に結合する抗体に関して、これは、そのＣＤＲドメインのうちの少なくとも１つの少なくとも一部を含む。

【００５９】

２つのポリヌクレオチド配列または２つのポリペプチド配列の「パーセント同一性」は、ＧＡＰコンピュータプログラム（ＧＣＧ　Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ　Ｐａｃｋａｇｅ、ｖｅｒｓｉｏｎ　１０．３（Ａｃｃｅｌｒｙｓ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）の一部）を、そのデフォルトパラメータを使用してそれらの配列を比較することによって決定される。

【００６０】

用語「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」および「核酸」は、通して相互に交換可能に使用され、これらは、ＤＮＡ分子（例えば、ｃＤＮＡまたはゲノムＤＮＡ）、ＲＮＡ分子（例えば、ｍＲＮＡ）、ヌクレオチドアナログ（例えば、ペプチド核酸および

天然に存在しないヌクレオチドアナログ）を使用して生成されたＤＮＡもしくはＲＮＡのアナログ、およびそれらのハイブリッドを含む。この核酸分子は、一本鎖または二本鎖であり得る。一実施形態において、本発明の核酸分子は、本発明の抗体、またはその断片、誘導体、ムテイン、もしくは改変体をコードする連続的なオープンリーディングフレームを含む。

【００６１】

２つの一本鎖ポリヌクレオチドの配列を、アンチパラレルな配向で整列し得、その結果、一方のポリヌクレオチド中の全てのヌクレオチドが、ギャップを導入することなく、そしてどちらの配列の５’末端にも３’末端にも対形成しないヌクレオチドを有さずに、他方のポリヌクレオチド中のその相補的なヌクレオチドと向かい合う場合、それらの２つの一本鎖ポリヌクレオチドは、互いの「相補鎖」である。２つのポリヌクレオチドが中程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し得る場合、このポリヌクレオチドは、別のポリヌクレオチドに対して「相補的」である。したがって、ポリヌクレオチドは、その相補鎖ではない別のポリヌクレオチドに対して相補的であり得る。

【００６２】

「ベクター」は、それに連結された別の核酸を細胞に導入するために使用され得る核酸である。１つの型のベクターは、「プラスミド」であり、これは、追加の核酸セグメントがライゲーションされ得る線状または環状の二本鎖ＤＮＡ分子をいう。別の型のベクターは、ウイルスベクター（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ関連ウイルス）であり、追加のＤＮＡセグメントが、ウイルスゲノムに導入され得る。特定のベクターは、それらが導入された宿主細胞において自律性の複製が可能である（例えば、細菌の複製起点を含む細菌ベクターおよびエピソーム性の哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、エピソーム性ではない哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入時に、宿主細胞のゲノムに組み込まれ、それによって宿主のゲノムとともに複製される。「発現ベクター」は、選択したポリヌクレオチドの発現を誘導することができる、１つの型のベクターである。

【００６３】

ヌクレオチド配列は、調節配列が、そのヌクレオチド配列の発現（例えば、発現のレベル、タイミングまたは場所）に影響を与える場合、その調節配列に「作動可能に連結されている」。「調節配列」は、それが作動可能に連結されている核酸の発現（例えば、発現のレベル、タイミングまたは場所）に影響を与える核酸である。調節配列は、例えば、調節された核酸に対して、直接的にまたは１つ以上の他の分子（例えば、その調節配列および／またはその核酸に結合するポリペプチド）の作用を介して、その影響を発揮し得る。調節配列の例としては、プロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御因子（例えば、ポリアデニル化シグナル）が挙げられる。調節配列のさらなる例は、例えば、Ｇｏｅｄｄｅｌ、１９９０、Ｇｅｎｅ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ １８５、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ、ならびにＢａｒｏｎら、１９９５、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２３：３６０５～０６に記載される。

【００６４】

「宿主細胞」は、核酸（例えば、本発明の核酸）を発現するために使用され得る細胞である。宿主細胞は、原核生物（例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ）であり得るか、または、それは、真核生物、例えば、単細胞真核生物（例えば、酵母または他の真菌）、植物細胞（例えば、タバコまたはトマト植物細胞）、動物細胞（例えば、ヒト細胞、サル細胞、ハムスター細胞、ラット細胞、マウス細胞または昆虫細胞）またはハイブリドーマであり得る。例示的な宿主細胞としては、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞株、またはＤＨＦＲを欠損するＣＨＯ株ＤＸＢ－１１（Ｕｒｌａｕｂら、１９８０、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４２１６～２０を参照のこと）、無血清培地で増殖するＣＨＯ細胞株（Ｒａｓｍｕｓｓｅｎら、１９９８、Ｃｙｔｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２８：３１を参照のこと）、ＣＳ－９細胞（ＤＸＢ－１１ ＣＨＯ細胞の誘導体）およびＡＭ

－１／Ｄ細胞（米国特許第６，２１０，９２４号に記載される）を含むそれらの誘導体が挙げられる。他のＣＨＯ細胞株としては、ＣＨＯ－Ｋ１（ＡＴＣＣ＃　ＣＣＬ－６１）、ＥＭ９（ＡＴＣＣ＃　ＣＲＬ－１８６１）およびＵＶ２０（ＡＴＣＣ＃　ＣＲＬ－１８６２）が挙げられる。他の宿主細胞の例としては、サル腎臓細胞のＣＯＳ－７株（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ　１６５１）（Ｇｌｕｚｍａｎら、１９８１、Ｃｅｌｌ　２３：１７５を参照のこと）、Ｌ細胞、Ｃ１２７細胞、３Ｔ３細胞（ＡＴＣＣ　ＣＣＬ　１６３）、ＨｅＬａ細胞、ＢＨＫ（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ　１０）細胞株、アフリカミドリザル腎臓細胞株ＣＶ１から得られるＣＶ１／ＥＢＮＡ細胞株（ＡＴＣＣ　ＣＣＬ　７０）（ＭｃＭａｈａｎら、１９９１、ＥＭＢＯ　Ｊ．１０：２８２１を参照のこと）、２９３、２９３　ＥＢＮＡまたはＭＳＲ　２９３のようなヒト胚性腎臓細胞、ヒト上皮Ａ４３１細胞、ヒトＣｏｌｏ２０５細胞、他の形質転換された霊長類細胞株、通常の二倍体細胞、一次組織（ｐｒｉｍａｒｙ　ｔｉｓｓｕｅ）のインビトロ培養物から得られる細胞株、一次外植片（ｐｒｉｍａｒｙ　ｅｘｐｌａｎｔ）、ＨＬ－６０、Ｕ９３７、ＨａＫまたはＪｕｒｋａｔ細胞が挙げられる。代表的に、宿主細胞は、ポリペプチドをコードする核酸（これは、その後、その宿主細胞内で発現され得る）で形質転換またはトランスフェクトされ得る、培養された細胞である。句「組換え宿主細胞」は、発現されるべき核酸で形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞を意味するために使用され得る。宿主細胞はまた、核酸を含むが、調節配列が、その核酸と作動可能に連結されるようにその宿主細胞に導入されない限りは所望のレベルでその核酸を発現しない細胞であり得る。用語である宿主細胞とは、特定の対象細胞をいうだけでなく、このような細胞の子孫または可能性のある子孫もいうことが理解される。例えば、変異または環境の影響に起因して、特定の改変が続く世代で生じ得るので、実際には、このような子孫は、親細胞と同一ではない可能性があるが、依然として、本明細書で使用される用語の範囲内に含まれる。

【００６５】

抗原結合タンパク質

一局面において、本開示は、ヒトＴＳＬＰに結合する、抗体、抗体断片、抗体誘導体、抗体ムテインおよび抗体改変体のような抗原結合タンパク質を提供する。本開示にしたがう抗原結合タンパク質は、ヒトＴＳＬＰに結合し、それによってＴＳＬＰ活性を低減する抗原結合タンパク質を含む。例えば、抗原結合タンパク質は、ＴＳＬＰの、そのレセプターへの結合を妨害し得、したがってＴＳＬＰ活性を低減し得る。

【００６６】

一実施形態において、本発明は、図１Ａ～１Ｆまたは図２Ａ～２Ｆに示されるＣＤＲ配列から、５個以下、４個以下、３個以下、２個以下、１個以下または０個以下のアミノ酸残基だけ異なる１つ以上のＣＤＲ配列を含む抗原結合タンパク質を提供する。

【００６７】

別の実施形態において、抗原結合タンパク質のＣＤＲ３配列の少なくとも１つは、図１Ａ～１Ｆまたは図２Ａ～２Ｆの配列である。別の実施形態において、抗原結合タンパク質の軽鎖ＣＤＲ３配列は、Ａ１～Ａ２７の軽鎖配列であり、抗原結合タンパク質の重鎖ＣＤＲ３配列は、Ａ１～Ａ２７の重鎖ＣＤＲ３配列である。

【００６８】

別の実施形態において、上記の抗原結合タンパク質はさらに、１、２、３、４または５つのＣＤＲ配列を含み、これらは、それぞれ独立して、Ａ１～Ａ２７のＣＤＲ配列から５、４、３、２、１または０個の単一アミノ酸の付加、置換および／または欠失だけ異なる。例示的な抗原結合タンパク質Ａ１～Ａ２７の軽鎖ＣＤＲの配列および例示的な結合タンパク質Ａ１～Ａ２７の重鎖ＣＤＲの配列は、それぞれ図１Ａ～１Ｆおよび図２Ａ～２Ｆに示される。ＣＤＲのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド配列もまた示される。さらに、ＣＤＲ配列のコンセンサス配列は、以下に提供される。

【００６９】

【数１】

CDR コンセンサス配列

可変軽鎖 CDR
群 1a

LC CDR1 コンセンサス

							X_1					X_2				
A16.1	R	S	S	Q	S	L	V	Y	S	D	G	N	T	Y	L	N
A18.1							V					N				
A13.1							V					D				
A19.1							V					D				
A20.1							V					D				
A14.1							V					N				
A15.1							I					N				

R S S Q S LX_1YSDGX_2TYLN(配列番号 246)

X_1 は V(バリン)残基または I(イソロイシン)残基であり、
X_2 は N(アスパラギン)残基または D(アスパラギン酸）残基である;

LC CDR2 コンセンサス

				X_3			
A16.1	K	V	S	Y	W	D	S
A18.1				Y			
A13.1				N			
A19.1				N			
A20.1				N			
A14.1				N			
A15.1				N			

KVSX_3WDS(配列番号 247)
X_3 は Y(チロシン)残基または N(アスパラギン)残基である;

LC CDR3 コンセンサス

A16.1	M	Q	G	T	H	W	P	P	A
A18.1									
A13.1									
A19.1									
A20.1									
A14.1									
A15.1									

MQGTHQPPA(配列番号 248)

【００７０】

【数２】

群 Ib
LC CDR1 コンセンサス

					X_4	X_5					
A13.2	R	A	S	Q	G	L	S	S	W	L	A
A14.2					G	L					
A19.2					G	L					
A20.2					G	L					
A16.2					S	L					
A18.2					S	L					
A15.2					G	I					

$RASQX_4X_5SSWLA$(配列番号 249)
X_4 は G(グリシン)残基または S(セリン)残基であり;
X_5 は L(ロイシン)残基または I(イソロイシン)残基である;

LC CDR2 コンセンサス

	X_6	X_7					
A13.2	N	T	S	S	L	Q	S
A14.2	N	T					
A19.2	N	T					
A20.2	N	T					
A16.2	N	A					
A18.2	N	A					
A15.2	T	T					

X_6X_7SSLQS(配列番号 250)
X_6 は N(アスパラギン)残基または T(トレオニン)残基であり;
X_7 は T(トレオニン)残基または A(アラニン)残基である;

LC CDR3 コンセンサス

				X_8					
A13.2	Q	Q	A	N	S	F	P	L	T
A14.2				N					
A19.2				N					
A20.2				N					
A16.2				N					
A18.2				N					
A15.2				D					

$QQAX_8SFPLT$(配列番号 251)
X_8 は N(アスパラギン)残基または D(アスパラギン酸)残基である;

群 2
LC CDR1 コンセンサス

A6	S	G	D	K	L	G	D	K	Y	A	C
A8											

SGDKLGDKYAC(配列番号 15)

【００７１】

【数３】

LC CDR2 コンセンサス

			X				
A6	Q	D	K	K	R	P	S
A8			N				

QDX_9KRPS (配列番号 252)
X_9 は K(リジン)残基または N(アスパラギン)残基である;

LC CDR3 コンセンサス

A6	Q	A	W	D	S	S	T	V	V
A8									

QAWDSSTVV(配列番号 107)

群 3
LC CDR1 コンセンサス

A3	T	G	S	S	S	N	I	G	A	G	F	D	V	H
A4														

TGSSSNIGAGFDVH(配列番号 10)

LC CDR2 コンセンサス

A3	D	N	N	N	R	P	S
A4							

DNNNRPS(配列番号 57)

LC CDR3 コンセンサス

A3	Q	S	Y	D	S	N	L	S	G	S	I	V	V
A4													

QSYDSNLSGSIVV(配列番号 102)

【００７２】

【数４】

可変重鎖 CDR

群 1

HC CDR1 コンセンサス

	X_{10}				
A13	S	Y	G	M	H
A14	S				
A19	S				
A20	S				
A16	N				
A18	N				
A15	N				

X_{10}YGMH(配列番号 253)
X_{10} は S(セリン)残基または N(アスパラギン)残基である;

HC CDR2 コンセンサス

				X_{11}													
A13	V	I	W	Y	D	G	S	N	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G
A14				Y													
A19				Y													
A20				Y													
A16				Y													
A18				Y													
A15				F													

VIWX_{11}DGSNKYYADSVKG(配列番号 254)
X_{11} は Y(チロシン)残基または F(フェニルアラニン)残基である。

HC CDR3 コンセンサス

					X_{12}						X_{13}					
A13	G	G	G	I	P	V	A	D	Y	Y	Y	Y	G	M	D	V
A14					P						Y					
A19					P						Y					
A20					P						Y					
A16					A						Y					
A18					A						Y					
A15					A						F					

GGGIX_{12}VADYYX_{13}YGMDV(配列番号 255)
X_{12} は P(プロリン)残基または A(アラニン)残基であり;
X_{13} は Y(チロシン)残基または F(フェニルアラニン)残基である。

【００７３】

【数５】

群2
HC CDR1 コンセンサス

A6		S		Y		G		I		H							
A8																	

SYGIH(配列番号 147)

HC CDR2 コンセンサス

								X_{14}								
A6	V	I	S	Y	D	G	S	Y	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G
A8								N									

VISYDGSX_{14}KYYADSVKG(配列番号 256)
X_{14} は Y(チロシン)残基または N(アスパラギン)残基である。

HC CDR3 コンセンサス

A6	G	D	S	W	N	D	R	L	N	Y	Y	F	Y	D	M	D	V
A8																	

GDSWNDRLNYYFYDMDV(配列番号 214)

群3

HC CDR1 コンセンサス

	X_{15}	X_{16}			X_{17}
A3	D	Y	Y	M	Y
A4	G	D			H

$X_{15}X_{16}YMX_{17}$(配列番号 257)
X_{15} は D(アスパラギン酸)残基または G(グリシン)残基であり;
X_{16} は Y(チロシン)残基または D(アスパラギン酸)残基であり;
X_{17} は Y(チロシン)残基または H(ヒスチジン)残基である。

HC CDR2 コンセンサス

											X_{18}	X_{19}	X_{20}				
A3	W	I	N	P	N	S	G	G	T	N	Y	V	Q	K	F	Q	G
A4											H	A	R				

WINPNSGGTN$X_{18}X_{19}X_{20}$KFQG(配列番号 258)
X_{18} は Y(チロシン)残基または H(ヒスチジン)残基であり;
X_{19} は V(バリン)残基または A(アラニン)残基であり;
X_{20} は Q(グルタミン)残基または R(アルギニン)残基である。

HC CDR3 コンセンサス

		X_{21}		X_{22}							X_{23}	
A3	D	G	G	S	S	G	W	P	L	F	A	Y
A4		R		T							D	

(配列番号 259)
X_{21} は G(グリシン)残基または R(アルギニン)残基であり;
X_{22} は S(セリン)残基または T(トレオニン)残基であり;
X_{23} は A(アラニン)残基または D(アスパラギン酸)残基である。

【００７４】

以下の表２は、例示的なＴＳＬＰ抗原結合タンパク質Ａ１～Ａ２７に関して、可変重鎖

ドメイン（ｖａｒｉａｂｌｅ　ｈｅａｖｙ　ｄｏｍａｉｎ）（Ｈ＃）および可変軽鎖ドメイン（ｖａｒｉａｂｌｅ　ｌｉｇｈｔ　ｄｏｍａｉｎ）（Ｌ＃）をコードする核酸（ＤＮＡ）配列、ならびに可変重鎖ドメインおよび可変軽鎖ドメインのアミノ酸配列をそれぞれ提供する。各可変ドメインについてのＣＤＲ１、２および３は、各配列の最初から最後まで連続的である。フレームワーク（Ｆｒ）領域は下線が引かれている。各可変ドメインについてのフレームワーク１、２、３および４は、各配列の最初から最後まで連続的である（例えば、各配列において、配列の最初の下線が引かれた部分はＦｒ１であり、２番目のものはＦｒ２であり、３番目のものはＦｒ３であり、そして最後のものはＦｒ４である）。

【００７５】

【表２－１】

表２

H1 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTATATTACTGTGCGAGTCT
AGTGGGAGCTACCAACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCCTCA
(配列番号 260)
H1 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASLVGATNYYGMDVWGQGTTVTV
SS
(配列番号 261)

L1 DNA
TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATC
ACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
ACAGGCCCCTGTACTTGTCATCTCTGGTAAAAACTACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCG
ATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGA
AGATGAGGCTGACTACTACTGTAACTCCCGGGACAGAAGTGGTAACCATCTGGTGTTTTC
GGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(配列番号 262)
L1 タンパク質
SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVISGKNYRPSGIPDRFSG
SSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDRSGNHLVFGGGTKLTVL
(配列番号 263)

H2 DNA
GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGTCGTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTTTACCATGCACTGGGTCCGTCAAGCT
CCGGGGAAGGGTCTGGAGTGGGTCTCTCTTATTAGTTGGGATGGTGGTAGCACATACTAT
GCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACAGCAAAAACTCCCTGTA
TATGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACAGCGCCTTGTATTACTGTGCAAGAGGTC
CTTACTACTACTTCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCT
CA(配列番号 264)

H2 タンパク質
EVQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDFTMHWVRQAPGKGLEWVSLISWDGGSTYY
ADSVKGRFTISRDNSKNSLYMQMNSLRTEDSALYYCARGPYYYFYGMDVWGQGTTVTVSS(
配列番号 265)

L2 DNA
TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATC
ACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAACCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
ACAGGCCCCTATACTTGTCATCTCTGATAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCG
ATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGA
AGATGAGGCTGACTATTACTGTAACTCCCGGGACAGCAGTGATAACCATCTAGTGGTATT
TCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(配列番号 266)

【００７６】

【表２－２】

L2 タンパク質
SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRTYYASWYQQKPGQAPILVISDKNNRPSGIPDRFSG
SSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSDNHLVVFGGGTKLTVL
(配列番号 267)

H3 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT
CTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGACTACTATATGTACTGGGTGCGACAGGC
CCCTGGACAAGGGCCTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAACAGTGGTGGCACAAACT
ATGTACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCC
TACATGGAGCTGAGCAGGATGAGATCCGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA
TGGGGGTAGCAGTGGCTGGCCCCTCTTTGCCTACTGGGGCCTGGGAACCCTGGTCACCGT
CTCCTCA(配列番号 268)

H3 タンパク質
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMYWVRQAPGQGPEWMGWINPNSGGTN
YVQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRMRSDDTAVYYCARDGGSSGWPLFAYWGLGTLVTV
SS(配列番号 269)

L3 DNA
CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCAT
CTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTTTGATGTACACTGGTACCAGCA
GCTTCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTCATCTATGATAACAACAATCGGCCCTCAGGGGT
CCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGGCT
CCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACAGCAACCTGAGTGGTTC
GATTGTGGTTTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA(配列番号 270)

L3 タンパク質
QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQQLPGTAPKLLIYDNNNRPSGVPDR
FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSNLSGSIVVFGGGTKLTVL(配列番号 271)

H4 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT
CTCCTGCAAGGCTTCTGGATACATCTTCACCGGCGACTATATGCACTGGGTGCGACAGGC
CCCTGGACAAGGGCTGGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAACAGTGGTGGCACAAACC
ATGCACGGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCC
TACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGTGAGAGA
TAGGGGTACCAGTGGCTGGCCACTCTTTGACTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACCGT
CTCCTCA(配列番号 272)

H4 タンパク質
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTGDYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTN
HARKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCVRDRGTSGWPLFDYWGQGTLVTV
SS(配列番号 273)

L4 DNA
CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCAT
CTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTTTGATGTGCACTGGTACCAGCT
GCTTCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTCATCTTTGATAACAACAATCGCCCCTCAGGGGT
CCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGGCT
CCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACAGCAACCTGAGTGGTTC
GATTGTGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA(配列番号 274)

【００７７】

【表２－３】

L4 タンパク質
QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGFDVHWYQLLPGTAPKLLIFDNNNRPSGVPDR
FSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSNLSGSIVVFGGGTKLTVL(配列番号 275)

H5 DNA
CAGATGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGAACCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAACACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCACCAGAGACAATTCCAAGAACACTCTG
AATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGC
CCCTCAGTGGGAGCTAGTTCATGAAGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCAC
CGTCTCTTCA(配列番号 360)

H5 タンパク質
QMQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFRTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKH
YADSVKGRFTITRDNSKNTLNLQMNSLRAEDTAVYYCARAPQWELVHEAFDIWGQGTMVT
VSS(配列番号 361)

L5 DNA
TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCAGGATT
ACCTGTGGGGGAAACAACCTTGGAAGTAAAAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
CCAGGCCCCTGTGCTGGTCGTCTATGATGATAGCGACCGGCCCTCATGGATCCCTGAGCG
ATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGGCGAAGCCG
GGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGATCATGTGGTATTTC
GGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA(配列番号 362)

L5 タンパク質
SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNLGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSWIPERFS
GSNSGNTATLTISRGEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL
(配列番号 363)

H6 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCATTTTCAGTAGCTATGGCATTCACTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTTATAAATACTA
TGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT
ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGGG
GACTCCTGGAACGACAGATTAAACTACTACTTCTACGATATGGACGTCTGGGGCCAAGG
GACCACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 276)

H6 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSYKYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDSWNDRLNYYFYDMDVWGQGT
TVTVSS(配列番号 277)

L6 DNA
TCCTATGAGCTGACTCAGGCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCAGCATC
ACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATATGCTTGCTGGTATCAGCAGAAGCCAGG
CCAGTCCCCTGTGCTGGTCATCTATCAAGATAAGAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCG
ATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACAGCCACTCTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTAT
GGATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGCGTGGGACAGCAGCACTGTGGTATTTCGGCGGA
GGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(配列番号 278)

【００７８】

【表２－４】

L6 タンパク質
SYELTQAPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLVIYQDKKRPSGIPERFSG
SNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL
(配列番号 279)

H7 DNA
CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCT
CACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCG
CCAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTTCATCCATTACAGTGGGACCACCT
ACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGACTTACCCTATCAGTAGACACGTCTAAGAGCCAGT
TCTCCCTGAAGCTGAACTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG
AAGTTGGCAGCTCGTCGGGTAACTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCCTCA(配列番号 280)

H7 タンパク質
QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGFIHYSGTTYYNP
SLKSRLTLSVDTSKSQFSLKLNSVTAADTAVYYCAREVGSSSGNWFDPWGQGTLVTVSS(配
列番号 281)

L7 DNA
TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCAGCATC
ACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATATGCTTGCTGGTATCAGCAGAAGCCAGG
CCAGTCCCCTGTGGTGGTCATCTATCAAGATAACAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCG
ATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACAGCCACTTTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTAT
GGATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGCGTGGGACAGCACCACTGCGATATTTCGGCGGA
GGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(配列番号 282)

L7 タンパク質
SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVVVIYQDNKRPSGIPERFSG
SNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSTTAIFGGGTKLTVL
(配列番号 283)

H8 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATTCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGACTCCTGGAACGACAGATTAAACTACTACTTCTACGATATGGACGTCTGGGGCCAAG
GGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 284)

H8 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGIHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDSWNDRLNYYFYDMDVWGQGT
TVTVSS(配列番号 285)

【００７９】

【表２－５】

L8 DNA
TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCAGCATC
ACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATATGCTTGCTGGTATCAGCAGAAGCCAGG
CCAGTCCCCTGTACTGGTCATCTATCAAGATAACAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCG
ATTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACAGCCACTTTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTAT
GGATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGCGTGGGACAGCAGCACTGTGGTATTTCGGCGGA
GGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(配列番号 286)

L8 タンパク質
SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLVIYQDNKRPSGIPERFSG
SNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL
(配列番号 287)

H9 DNA
CAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATATACCTTCAATAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATACATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACATTTCCAAGAACACTCTGT
ATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAG
GTCCGGGCGTATAGCAGTGGCTGGTACGCCGCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCT
GGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 288)

H9 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGYTFNSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNTY
YADSVKGRFTISRDISKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVRAYSSGWYAAFDYWGQGTL
VTVSS(配列番号 289)

L9 DNA
TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATC
ACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAATCTTTTATGCAAACTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
ACAGGCCCCTGTAGTTGTCTTCTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCG
ATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGCGGCTCAGGCGGA
AGATGAGGCTGACTATTATTGTAACTCCCGGGACAGCAGTGGTAACCATGTGGTATTTCG
GCGGAGGGACCACGCTGACCGTCCTA
(配列番号 290)

L9 タンパク質
SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRIFYANWYQQKPGQAPVVVFYGKNNRPSGIPDRFS
GSSSGNTASLTITAAQAEDEADYYCNSRDSSGNHVVFGGGTTLTVL
(配列番号 291)

H10 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAACGTCTGGATTCACCTTCAGTAGTTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAGTAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGT
AAGAAGTGGGAGCTACTACGAACAGTATTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCGCCGTCTCCTCA
(配列番号 292)

【００８０】

【表２－６】

H10 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSSKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRSGSYYEQYYYGMDVWGQGTT
VAVSS(配列番号 293)

L10 DNA
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAATCAGTACATTAGCACCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGGTCCTGATTTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATTTGAGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAGAGCTACACTACCCCGATCACCTTTCGGCCA
AGGGACACGACTGGAGATTAAA
(配列番号 294)

L10 タンパク質
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRANQYISTYLNWYQQKPGKAPKVLIYAASSLQSGVPSRFS
GSGFETDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTTPITFGQGTRLEIK
(配列番号 295)

H11 DNA
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGTTATAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTGGTCGTACTAGTAGCGTATACTA
CGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACTCACTGT
ATCTGCACATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAAGT
GGGATCTACTACGACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT
CTCCTCA(配列番号 296)

H11 タンパク質
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISGRTSSVYYA
DSVKGRFTISRDNAKNSLYLHMNSLRDEDTAVYYCARSGIYYDYYGMDVWGQGTTVTVSS(
配列番号 297)

L11 DNA
GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCCCC
ATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAAACAGCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCT
TGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGACATCCACCCGG
GAAGGCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCAC
CATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTGTCAGCAGTATTTTACTAC
TCCGTGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA(配列番号 298)

L11 タンパク質
DIVMTQSPDSLAVSLGERAPINCKSSQSVLNSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWTSTREG
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFTTPWTFGQGTKVEIK(配列番号 299)

H12 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGCAGCCACTGCTATAGATTACTACTACTCCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCTAGGGAC
CACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 300)

【００８１】

【表２－７】

H12 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAATAIDYYYSYGMDVWGLGTT
VTVSS(配列番号 301)

L12 DNA
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGTAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCGGAAACCA
GGAAAAGCCCCTAAGTTCCTGATCTATACTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
CGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTCTGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTGACAGTTTCCCGCTCACTTTTCGGCGG
AGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
(配列番号 302)

L12 タンパク質
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQRKPGKAPKFLIYTASSLQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDSATYYCQQADSFPLTFGGGTKVEIK
(配列番号 303)

H13 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGTATACCAGTAGCTGACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 304)

H13 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIPVADYYYYGMDVWGQGTT
VTVSS(配列番号 305)

L13.1 DNA
GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCGTCTACAGTGATGGAGACACCTACTTGAATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCGCCTAATTTATAAGGTTTCTAACTGGGAC
TCTGGGGTCCCATACAGATTCAGCGGCAGTGGGTCAGGCACTGATTTCACACTGCAAATC
AGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTACTACTGCATGCAAGGTACACACTGGCC
TCCGGCCTTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA(配列番号 306)

L13.1 タンパク質
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGDTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNWDSG
VPYRFSGSGSGTDFTLQISRVEAEDVGIYYCMQGTHWPPAFGQGTRLEIK(配列番号 307)

L13.2 DNA
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCCAAGCTCCTGATGTATAACACATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC
AAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCAGTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGC
CTGAAGATTTTGCAAGTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTTTTCGGCG
GAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
(配列番号 308)

【００８２】

【表２－８】

L13.2 タンパク質
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGLSSWLAWYQQKPGKAPKLLMYNTSSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFSLTISSLQPEDFASYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK
(配列番号 309)

H14 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGTATACCAGTAGCTGACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 304)

H14 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIPVADYYYYGMDVWGQGTT
VTVSS(配列番号 305)

L14.1 DNA
GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCGTCTACAGTGATGGAAACACCTACTTGAATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCGCCTAATTTATAAGGTTTCTAACTGGGAC
TCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGGCATTGGGTCAGGCACTGACTTCACACTGAAAATC
AGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTACTACTGCATGCAAGGTACACACTGGCC
TCCGGCCTTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA(配列番号 310)

L14.1 タンパク質
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNWDSG
VPDRFSGIGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPAFGQGTRLEIK(配列番号 311)

L14.2 DNA
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCCAAGCTCCTGATGTATAACACATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC
AAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCAGTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGC
CTGAAGATTTTGCAAGTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTTTTCGGCG
GAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
(配列番号 312)

L14.2 タンパク質
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGLSSWLAWYQQKPGKAPKLLMYNTSSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFSLTISSLQPEDFASYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK
(配列番号 309)

【００８３】

【表２－９】

H15 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAAGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCCCCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCAGTTATATGGTTTGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCGGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATCCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTTCTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 313)

H15 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFPFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWFDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNPKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIAVADYYFYGMDVWGQGTT
VTVSS(配列番号 314)

L15.1 DNA
GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCATATACAGTGATGGAAACACTTACTTGAATTGG
TTTCAACAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCGCCTAATTTATAAGGTTTCTAACTGGGAC
TCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGGCAGTGGGTCAGGCACTGATTTCACACTGAAAAT
CAGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTATTACTGCATGCAAGGTACACACTGGC
CTCCGGCCTTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA(配列番号 315)

L15.1 タンパク質
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLIYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNWDSGV
PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYYCMQGTHWPPAFGQGTRLEIK(配列番号 316)

L15.2 DNA
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATTACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGGTCCTGACCTATACTACATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCTACTTACTTTTGTCAACAGGCTGACAGTTTCCCTCTCACTTTTCGGCGGG
GGGACCAAGGTGGAGATCAAA(配列番号 317)

L15.2 タンパク質
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKVLTYTTSSLQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQADSFPLTFGGGTKVEIK
(配列番号 318)

H16 DNA
CAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 319)

H16 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIAVADYYYYGMDVWGQG
TTVTVSS(配列番号 320)

【００８４】

【表２－１０】

L16.1 DNA
GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCGTATACAGTGATGGAAACACCTACTTGAATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCGCCTAATTTATAAGGTTTCTTACTGGGAC
TCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGGCAGTGGGTCAAGCACTGATTTCACACTGAAAAT
CAGTAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGGTACACACTGGC
CTCCGGCCTTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA(配列番号 321)

L16.1 タンパク質
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSYWDSG
VPDRFSGSGSSTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPAFGQGTRLEIK(配列番号 322)

L16.2 DNA
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTCGGGCGAGTCAGAGTCTTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAACTCCTGCTCCATAATGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGTAAATTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTTTTCGGCGGA
GGGACCAGGGTGGAGATCAAA
(配列番号 323)

L16.2 タンパク質
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQSLSSWLAWYQQKPGKAPKLLLHNASSLQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFVNYYCQQANSFPLTFGGGTRVEIK
(配列番号 324)

H17 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTAAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTAAGTAGTTATGGCATGCTCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTTTATGGTTTGATGGAAGTTATAAAAACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGCGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGA
TAGTACAACTATGGCCCACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC
A(配列番号 325)

H17 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLSSYGMLWVRQAPGKGLEWVAVLWFDGSYKNY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSTTMAHFDYWGQGTLVTVSS(配
列番号 326)

L17 DNA
CAGACTGTGGTGACCCAGGAGCCATCGTTCTCAGTGTCCCCTGGAGGGACAGTCACACTC
ACTTGTGGCTTGAACTCTGGCTCAGTCTCTACTAGTTACTTCCCCAGCTGGTACCAGCAG
ACCCCAGGCCAGGCTCCACGCACGCTCATCTACAGCACAAACAGTCGCTCTTCTGGGGTC
CCTGATCGCTTCTCTGGCTCCATCCTTGGGAACAAAGCTGCCCTCACCATCACGGGGGCC
CAGGCAGATGATGAATCTGATTATTACTGTGTGCTGTATATGGGTAGAGGCATTTGGGTG
TTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA(配列番号 327)

L17 タンパク質
QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLNSGSVSTSYFPSWYQQTPGQAPRTLIYSTNSRSSGVPDRF
SGSILGNKAALTITGAQADDESDYYCVLYMGRGIWVFGGGTKLTVL
(配列番号 328)

【００８５】

【表２－１１】

H18 DNA
CAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 319)

H18 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIAVADYYYYGMDVWGQG
TTVTVSS(配列番号 320)

L18.1 DNA
GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCGTATACAGTGATGGAAACACCTACTTGAATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCGCCTAATTTATAAGGTTTCTTACTGGGAC
TCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGCGGCAGTGGGTCAGGCACTGATTTCACACTGAAAAT
CAGTAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGGTACACACTGGC
CTCCGGCCTTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATCAAA(配列番号 329)

L18.1 タンパク質
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSYWDSG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPPAFGQGTRLEIK(配列番号 330)

L18.2 DNA
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTCGGGCGAGTCAGAGTCTTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAACTCCTGCTCTATAATGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGCCCCATCA
AGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGTAACTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTTTTCGGCGGA
GGGACCAGGGTGGAGATCAAA
(配列番号 331)

L18.2 タンパク質
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQSLSSWLAWYQQKPGKAPKLLLYNASSLQSGAPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFVTYYCQQANSFPLTFGGGTRVEIK
(配列番号 332)

H19 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGGTATACCAGTAGCTGACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 304)

【００８６】

【表２－１２】

H19 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIPVADYYYYGMDVWGQGTT
VTVSS(配列番号 305)

L19.1 DNA
GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCGTCTACAGTGATGGAGACACCTACTTGAATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCGCCTAATTTATAAGGTTTCTAACTGGGAC
TCTGGGGTCCCATACAGATTCAGCGGCAGTGGGTCAGGCACTGATTTCACACTGCAAATC
AGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTACTACTGCATGCAAGGTACACACTGGCC
TCCGGCCTTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA(配列番号 306)

L19.1 タンパク質
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGDTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNWDSG
VPYRFSGSGSGTDFTLQISRVEAEDVGIYYCMQGTHWPPAFGQGTRLEIK(配列番号 307)

L19.2 DNA
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCCAAGCTCCTGATGTATAACACATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC
AAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCAGTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGC
CTGAAGATTTTGCAAGTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTTTTCGGCG
GAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
(配列番号 308)

L19.2 タンパク質
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGLSSWLAWYQQKPGKAPKLLMYNTSSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFSLTISSLQPEDFASYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK
(配列番号 309)

H20 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GGGGGGTATACCAGTAGCTGACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 304)

H20 タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGIPVADYYYYGMDVWGQGTT
VTVSS(配列番号 305)

L20.1 DNA
GATGTTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCTTGGACAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAAAGCCTCGTCTACAGTGATGGAGACACCTACTTGAATTGG
TTTCAGCAGAGGCCAGGCCAATCTCCAAGGCGCCTAATTTATAAGGTTTCTAACTGGGAC
TCTGGGGTCCCATACAGATTCAGCGGCAGTGGGTCAGGCACTGATTTCACACTGCAAATC
AGCAGGGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGATTTACTACTGCATGCAAGGTACACACTGGCC
TCCGGCCTTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA(配列番号 306)

【００８７】

【表２－１３】

L20.1 タンパク質
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGDTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNWDSG
VPYRFSGSGSGTDFTLQISRVEAEDVGIYYCMQGTHWPPAFGQGTRLEIK(配列番号 307)

L20.2 DNA
GACATCCAGATGACCCAGTCCCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCCAAGCTCCTGATGTATAACACATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATC
AAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCAGTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGC
CTGAAGATTTTGCAAGTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTTTTCGGCG
GAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA
(配列番号 333)

L20.2 タンパク質
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGLSSWLAWYQQKPGKAPKLLMYNTSSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFSLTISSLQPEDFASYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK
(配列番号 309)

H21 DNA
GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCAATTAGTGGTAGTGGTGGAAGTACACACT
ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGA
TCTCAACTGGGGAGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA(配
列番号 334)

H21 タンパク質
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTHYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLNWGAFDIWGQGTMVTVSS(配列
番号 335)

L21 DNA
CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCAT
CTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATTGGGGCGGGTTATGTTGTACATTGGTACCAGCA
GCTTCCAGGAACAGCCCCCAAACTCCTCATCTATGGTAACAGCAATCGGCCCTCAGGGGT
CCCTGACCAATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGACT
CCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCAAAGCATGGGATAACAGCCTGAATGCTC
AAGGGGTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA(配列番号 336)

L21 タンパク質
QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDQ
FSGSKSGTSASLAITGLQSEDEADYYCKAWDNSLNAQGVFGGGTKLTVL(配列番号 337)

H22 DNA
GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGCACAGCCGGGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGGCTCTGGATTCTCCTTTAGAGGCTATGTCATGACTTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGAATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTA
CGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGT
GTCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGA
GACAGCTCGAACTACTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCATCGT
CTCCTCA(配列番号 338)

【００８８】

【表２－１４】

H22 タンパク質
EVQLLESGGGLAQPGGSLRLSCAGSGFSFRGYVMTWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGSTYYA
DSVKGRFTISRDNSKNTLCLQMNSLRAEDTAVYYCAKGDSSNYYSGMDVWGQGTTVIVSS(
配列番号 339)

L22 DNA
GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACC
ATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAACTCCAACAATAAGAACTACTTAGCT
TGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCTTCTACCCGG
GAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACC
ATCAGCAGCCTGCAGGCTGAGGATGTGGCAATTTATTACTGTCAGCAATTTTATGGTCCT
CCTCTCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA(配列番号 340)

L22 タンパク質
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYNSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRES
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAIYYCQQFYGPPLTFGGGTKVEIK(配列番号 341)

H23 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGT
CTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCGGCTACTATATGCACTGGGTGCGACAGGC
CCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAACCCTAACAATGGTGGCACAAACT
ATGGACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCAGCACAGCC
TACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGG
GAACTGGAACGACGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTC
A(配列番号 342)

H23 タンパク質
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNNGGTN
YGQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGNWNDDAFDIWGQGTMVTVSS
(配列番号 343)

L23 DNA
TCCTATGAGCTGACTCAGTCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCAGCATC
ACCTGTTCTGGTGATAAATTGGGGGATAAATTTGCTTTCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGC
CAGTCCCCTGTGCTGGTCATCTATCAAGATAGCAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGA
TTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACAGCCACTCTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTATG
GATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGCGTGGGACAGCAGCGCCGGGGGGGTATTTCGGCG
GAGGGACCAAGTTGACCGTCCTA
(配列番号 344)

L23 タンパク質
SYELTQSPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKFAFWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGS
NSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSAGGVFGGGTKLTVL
(配列番号 345)

H24 DNA
CAGGTGCAACTGGAGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACT
ATGTAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAAT
GGGGTTTACTATGGTTCGGGGAGCCCTCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGA
CCACGGTCACCGTCTCCTCA
(配列番号 346)

【００８９】

【表２－１５】

H24 タンパク質
QVQLEESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYY
VDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARMGFTMVRGALYYGMDVWGQGT
TVTVSS(配列番号 347)

L24 DNA
TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATC
ACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAAGCTATCATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
ACAGGCCCCTGTACTTGTCATCTATGGTGAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCG
ATTCTCTGACTCCAGTTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGA
AGATGAGGCTGACTATTATTGTAATTATCGGGACAACAGTGGTAACCATCTGGTGTTTCG
GCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(配列番号 348)

L24 タンパク質
SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYHASWYQQKPGQAPVLVIYGENNRPSGIPDRFSD
SSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNYRDNSGNHLVFGGGTKLTVL
(配列番号 349)

H25 DNA
GAGGTGCAGCTGTTGGAATCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTCGTAGTGGTAGTACCACATACT
ACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGTGGAACC
GAGATATTTTGACTGGTTATTAGGCGACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTC
A(配列番号 350)

H25 タンパク質
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISRSGSTTYYAD
SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVEPRYFDWLLGDWGQGTLVTVSS(配列
番号 351)

L25 DNA
GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGGCGAGAGGGCCACC
ATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAACTCCAACAATAAGAACTACTTAGCT
TGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCTTCTACCCGG
GAATCCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACC
ATCAGCAGCCTGCAGGCTGAGGATGTGGCAATTTATTACTGTCAGCAATTTTATGGTCCT
CCTCTCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA(配列番号 340)

L25 タンパク質
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYNSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRES
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAIYYCQQFYGPPLTFGGGTKVEIK(配列番号 341)

H26 DNA
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCGGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTAAATGGTATGAAGGAAGTAATAAATACT
ATGGAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATTTGCAAATGAACAGTCTGAGAGGCGAGGATACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGG
CGCCCACGACTACGGTGACTTCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGG
TCACCGTCTCCTCA(配列番号 352)

【００９０】

【表２－１６】

H26タンパク質
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVKWYEGSNKY
YGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRGEDTAVYYCARGAHDYGDFYYGMDVWGQGTT
VTVSS(配列番号353)

L26 DNA
TCCTATGAACTGACTCAGCCAGCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGATAGCCAGCATC
ACCTGCTCTGGAGATAATTTGGGGGATAAATATATTTGCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGC
CAGTCCCCTGTGCGGGTCATCTATCAAGATAACAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGT
TTCTCTGGCTCCAATTCTGGGAACACAGCCACTCTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTATG
GATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGCGTGGGACAGCAGCACTGTGGTATTTCGGCGGAG
GGACCAAGCTGACCGTCCTA
(配列番号354)

L26タンパク質
SYELTQPASVSVSPGQIASITCSGDNLGDKYICWYQQKPGQSPVRVIYQDNKRPSGIPERFSGS
NSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTVVFGGGTKLTVL
(配列番号355)

H27 DNA
GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACT
CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTTATAGTGGCGGTAGCACATACT
ACGCAGGCTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGA
TCGGGAGGGAGCGACTTGGTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCTCCTCA(配列番号356)

H27タンパク質
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISYSGGSTYYA
GSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDREGATWYYGMDVWGQGTTVTV
SS(配列番号357)

L27 DNA
TCCTATGAACTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCAGGACAGACAGCCAGCATC
ACCTGCTCTGGAGATAAATTGGGGGGAAAGCTATGCTTGCTGGTATCAGCAGAAGCCAGG
CCAGTCCCCTGTACTGGTCATCTATCAAGATTACAAGCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCG
CTTCTCTGGCTCCAACTCTGGGAACACAGCCACTCTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTAT
GGATGAGGCTGACTATTACTGTCAGGCGTGGGACAGAAGTACTGTACTATTTCGGCGGA
GGGACCAAGCTGACCGTCCTA
(配列番号358)

L27タンパク質
SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGESYACWYQQKPGQSPVLVIYQDYKRPSGIPERFSGS
NSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDRSTVLFGGGTKLTVL
(配列番号359)

本発明の抗原結合タンパク質の特定の実施形態は、ＣＤＲのうちの１つ以上のアミノ酸配列と同一である１つ以上のアミノ酸配列を含み、さらに先に示される１つ以上のＦＲを含み得る。一実施形態において、この抗原結合タンパク質は、先に示される軽鎖ＣＤＲ１配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質は、先に示される軽鎖ＣＤＲ２配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質は、先に示される軽鎖ＣＤＲ３配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質は、先に示される重鎖ＣＤＲ１配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質は、先に示される重鎖ＣＤＲ２配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質は、先に

示される重鎖ＣＤＲ３配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質はさらに、先に示される軽鎖ＦＲ１配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質はさらに、先に示される軽鎖ＦＲ２配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質はさらに、先に示される軽鎖ＦＲ３配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質はさらに、先に示される軽鎖ＦＲ４配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質はさらに、先に示される重鎖ＦＲ１配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質はさらに、先に示される重鎖ＦＲ２配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質はさらに、先に示される重鎖ＦＲ３配列を含む。別の実施形態において、この抗原結合タンパク質はさらに、先に示される重鎖ＦＲ４配列を含む。

【００９１】

一実施形態において、本開示は、Ｌ１～Ｌ２７からなる群より選択される軽鎖可変ドメインの配列から１５残基、１４残基、１３残基、１２残基、１１残基、１０残基、９残基、８残基、７残基、６残基、５残基、４残基、３残基、２残基、１残基または０残基のみ異なるアミノ酸の配列を含む軽鎖可変ドメインを含む抗原結合タンパク質を提供し、ここで、このような配列の差異は、各々独立して１アミノ酸残基の欠失、挿入または置換のいずれかである。別の実施形態において、この軽鎖可変ドメインは、Ｌ１～Ｌ２７からなる群より選択される軽鎖可変ドメインの配列と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９７％、または９９％同一である、アミノ酸の配列を含む。別の実施形態において、この軽鎖可変ドメインは、Ｌ１～Ｌ２７からなる群より選択される軽鎖可変ドメインをコードするヌクレオチド配列と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９７％または９９％同一である、ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列を含む。別の実施形態において、この軽鎖可変ドメインは、Ｌ１～Ｌ２７からなる群より選択される軽鎖可変ドメインをコードするポリヌクレオチドの相補鎖に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸の配列を含む。別の実施形態において、この軽鎖可変ドメインは、Ｌ１～Ｌ２７の軽鎖ポリヌクレオチドの相補鎖に、高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸の配列を含む。

【００９２】

別の実施形態において、本発明は、Ｈ１～Ｈ２７からなる群より選択される重鎖可変ドメインの配列から１５残基、１４残基、１３残基、１２残基、１１残基、１０残基、９残基、８残基、７残基、６残基、５残基、４残基、３残基、２残基、１残基または０残基のみ異なるアミノ酸の配列を含む重鎖可変ドメインを含む抗原結合タンパク質を提供し、ここで、このような配列の差異は、各々独立して１アミノ酸残基の欠失、挿入または置換のいずれかである。別の実施形態において、この重鎖可変ドメインは、Ｈ１～Ｈ２７からなる群より選択される重鎖可変ドメインの配列と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９７％、または９９％同一である、アミノ酸の配列を含む。別の実施形態において、この重鎖可変ドメインは、Ｈ１～Ｈ２７からなる群より選択される重鎖可変ドメインをコードするヌクレオチド配列と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９７％または９９％同一である、ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸の配列を含む。別の実施形態において、この重鎖可変ドメインは、Ｈ１～Ｈ２７からなる群より選択される重鎖可変ドメインをコードするポリヌクレオチドの相補鎖に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸の配列を含む。別の実施形態において、この重鎖可変ドメインは、Ｈ１～Ｈ２７からなる群より選択される重鎖可変ドメインをコードするポリヌクレオチドの相補鎖に、高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸の配列を含む。

【００９３】

先の表２に提供される実施形態の一部において、２つの軽鎖は、単一の重鎖と結合しており、例えば、Ｌ－１２．１、Ｌ－１２．２などとして識別される。これらの代替的な軽

鎖は、各々単一の重鎖と対形成する。これらの実施形態において、軽鎖および重鎖の組み合わせは、以下に記載されるようにアッセイされ得、より高いＴＳＬＰ中和活性を提供する軽鎖と重鎖との組み合わせが選択され得る。

【００９４】

さらなる実施形態は、組み合わせＬ１Ｈ１、Ｌ２Ｈ２、Ｌ３Ｈ３、Ｌ４Ｈ４、Ｌ５Ｈ５、Ｌ６Ｈ６、Ｌ７Ｈ７、Ｌ８Ｈ８、Ｌ９Ｈ９、Ｌ１０Ｈ１０、Ｌ１１Ｈ１１、Ｌ１２Ｈ１２、Ｌ１３Ｈ１３、Ｌ１４Ｈ１４、Ｌ１５Ｈ１５、Ｌ１６Ｈ１６、Ｌ１７Ｈ１７、Ｌ１８Ｈ１８、Ｌ１９Ｈ１９、Ｌ２０Ｈ２０、Ｌ２１Ｈ２１、Ｌ２２Ｈ２２、Ｌ２３Ｈ２３、Ｌ２４Ｈ２４、Ｌ２５Ｈ２５、Ｌ２６Ｈ２６およびＬ２７Ｈ２７を含む抗原結合タンパク質を含む。

【００９５】

本発明の抗原結合タンパク質（例えば、抗体、抗体断片および抗体誘導体）はさらに、当該技術分野で公知の任意の定常領域を含み得る。軽鎖定常領域は、例えば、κ型またはλ型の軽鎖定常領域（例えば、ヒトκ型またはλ型の軽鎖定常領域）であり得る。重鎖定常領域は、例えば、α型、δ型、ε型、γ型またはμ型の重鎖定常領域（例えば、ヒトα型、δ型、ε型、γ型またはμ型の重鎖定常領域）であり得る。一実施形態において、この軽鎖または重鎖定常領域は、天然に存在する定常領域の断片、誘導体、改変体またはムテインである。

【００９６】

一実施形態において、上記の抗原結合タンパク質は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３またはＩｇＧ４のようなＩｇＧを含む。

【００９７】

目的の抗体とは異なるサブクラスまたはアイソタイプの抗体を取得するための技術（すなわち、サブクラス転換（ｓｕｂｃｌａｓｓ　ｓｗｉｔｃｈｉｎｇ））は公知である。したがって、例えば、ＩｇＧ抗体は、ＩｇＭ抗体から取得され得、逆にＩｇＭ抗体は、ＩｇＧ抗体から取得され得る。このような技術は、所定の抗体（親抗体）の抗原結合特性を有するが、親抗体のものとは異なる抗体アイソタイプまたはサブクラスと関連した生物学的特性も示す、新規な抗体の調製を可能にする。組換えＤＮＡ技術が使用され得る。特定の抗体ポリペプチドをコードするクローニングされたＤＮＡ（例えば、所望のアイソタイプの抗体の定常ドメインをコードするＤＮＡ）は、このような手順に使用され得る。Ｌａｎｔｔｏら、２００２、Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１７８：３０３～１６もまた参照のこと。

【００９８】

一実施形態において、本発明の抗原結合タンパク質は、ＩｇＧ１重鎖定常ドメインまたはＩｇＧ１重鎖ドメインの断片を含む。一実施形態において、本発明の抗原結合タンパク質はさらに、軽鎖κ定常ドメインもしくは軽鎖λ定常ドメインまたはこれらの断片を含む。軽鎖定常領域、およびこれらをコードするポリヌクレオチドは、以下の表３に提供される。別の実施形態において、本発明の抗原結合タンパク質はさらに、以下の表３に示されるＩｇＧ２重鎖定常領域のような重鎖定常ドメインまたはその断片を含む。

【００９９】

重鎖定常ドメインおよび軽鎖定常ドメインをコードする核酸（ＤＮＡ）、ならびに重鎖ドメインおよび軽鎖ドメインのアミノ酸配列は、以下に提供される。λ可変ドメインはλ定常ドメインに融合され得、そしてκ可変ドメインはκ定常ドメインに融合され得る。

【０１００】

【表３】

表３

IgG2 重鎖定常ドメイン DNA(配列番号 364)

gctagcaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggact
acttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctact
ccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcaacttcggcacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtgga
caagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaa
ggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtg
gacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcacc
aggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggc
agccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttcta
ccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctcctt
cttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccacta
cacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaatga

IgG2 重鎖定常ドメインタンパク質(配列番号 365)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTV
VHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK*

κ軽鎖定常ドメイン DNA(配列番号 366)

cgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcc
cagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagca
cctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctc
gcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgttag

κ軽鎖定常ドメインタンパク質(配列番号 367)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*

λ軽鎖定常ドメイン DNA(配列番号 368)

ggccaaccgaaagcggcgccctcggtcactctgttcccgccctcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtgac
ttctacccgggagccgtgacagtggcctggaaggcagatagcagccccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacccctccaaacaaagcaa
caacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaagggag
caccgtggagaagacagtggcccctacagaatgttcatag

λ軽鎖定常ドメインタンパク質(配列番号 369)

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSN
NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS*

本発明の抗原結合タンパク質としては、例えば、所望のアイソタイプ（例えば、ＩｇＡ、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＥおよびＩｇＤ）を有する、可変ドメインの組み合わせＬ１Ｈ１、Ｌ２Ｈ２、Ｌ３Ｈ３、Ｌ４Ｈ４、Ｌ５Ｈ５、Ｌ６Ｈ６、Ｌ７Ｈ７、Ｌ８Ｈ８、Ｌ９Ｈ９、Ｌ１０Ｈ１０、Ｌ１１Ｈ１１、Ｌ１２Ｈ１２、Ｌ１３．１Ｈ１３、Ｌ１３．２Ｈ１３、Ｌ１４．１Ｈ１４、Ｌ１４．２Ｈ１４、Ｌ１５．１Ｈ１５、Ｌ１５．２Ｈ１５、Ｌ１６．１Ｈ１６、Ｌ１６．２Ｈ１６、Ｌ１７Ｈ１７、Ｌ１８．１Ｈ１８、Ｌ１８．２Ｈ１８、Ｌ１９．１Ｈ１９、Ｌ１９．２Ｈ１９、Ｌ２０．１Ｈ２０、Ｌ２０．２Ｈ２０、Ｌ２１Ｈ２１、Ｌ２２Ｈ２２、Ｌ２３Ｈ２３、Ｌ２４Ｈ２４、Ｌ２５Ｈ２５、Ｌ２６Ｈ２６およびＬ２７Ｈ２７を含むもの、ならびにそれらのＦａｂまたはＦ（ａｂ’）$_2$断片が挙げられる。さらに、ＩｇＧ４が所望される場合、Ｂｌｏｏｍら、１９９７、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　６：４０７（参考として本明細書に援用される）に記載されるように、ＩｇＧ４抗体の不均質性をもたらし得るＨ鎖内ジスルフィド結合を形成する傾向を軽減するために、ヒンジ領域内に点変異を導入することも望まし

くあり得る。

【０１０１】

抗体および抗体断片

本明細書で使用される場合、用語「抗体」とは、本明細書の定義のセクションに記載されるように、インタクトな抗体またはその抗原結合断片をいう。抗体は、完全な抗体分子（全長の重鎖および／または軽鎖を有するポリクローナルバージョン、モノクローナルバージョン、キメラバージョン、ヒト化バージョンまたはヒトバージョンを含む）を含み得るか、またはその抗原結合断片を含み得る。抗体断片としては、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ’断片、Ｆｖ断片、Ｆｃ断片およびＦｄ断片が挙げられ、これらは、単一ドメイン抗体、一価抗体、単鎖抗体、マキシボディ（ｍａｘｉｂｏｄｙ）、ミニボディ（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）、細胞内抗体（ｉｎｔｒａｂｏｄｙ）、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ｖ－ＮＡＲおよびｂｉｓ－ｓｃＦｖに取り込まれ得る（例えば、ＨｏｌｌｉｎｇｅｒおよびＨｕｄｓｏｎ、２００５、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、２３、９、１１２６－１１３６を参照のこと）。フィブロネクチンポリペプチドモノボディ（ｍｏｎｏｂｏｄｙ）を含む抗体ポリペプチドはまた、米国特許第６，７０３，１９９号に開示される。他の抗体ポリペプチドは、米国特許出願公開第２００５／０２３８６４６号に開示される（これは、単鎖ポリペプチドである）。一価の抗体断片は、米国特許出願公開第２００５０２２７３２４号に開示される。

【０１０２】

抗体に由来する抗原結合断片は、例えば、抗体のタンパク質分解性の加水分解（例えば、従来の方法にしたがう抗体全体のペプシンまたはパパイン消化）によって取得され得る。例として、抗体断片は、Ｆ（ａｂ’）$_2$と称する５Ｓ断片を提供するために、ペプシンを使用する抗体の酵素切断によって生成され得る。この断片はさらに、チオール還元剤を使用して切断され得、３．５ＳのＦａｂ’一価断片を生じ得る。必要に応じて、切断反応は、ジスルフィド結合の切断に起因するスルフヒドリル基のためのブロック基（ｂｌｏｃｋｉｎｇ ｇｒｏｕｐ）を使用して実行され得る。代替法として、パパインを使用する酵素切断は、２つの一価のＦａｂ断片および１つのＦｃ断片を直接生じる。これらの方法は、例えば、Ｇｏｌｄｅｎｂｅｒｇ、米国特許第４，３３１，６４７号、Ｎｉｓｏｎｏｆｆら、Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．８９：２３０、１９６０；Ｐｏｒｔｅｒ、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．７３：１１９、１９５９；Ｅｄｅｌｍａｎら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ １：４２２（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９６７）；ならびにＡｎｄｒｅｗｓ，Ｓ．Ｍ．およびＴｉｔｕｓ、Ｊ．Ａ．、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｃｏｌｉｇａｎ Ｊ．Ｅ．ら編）、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（２００３）、頁２．８．１～２．８．１０および２．１０Ａ．１～２．１０Ａ．５によって記載される。重鎖を分離して一価の軽鎖－重鎖断片（Ｆｄ）を形成する、断片をさらに切断する、または他の酵素的、化学的もしくは遺伝学的な技術のような抗体を切断するための他の方法もまた、その断片がインタクトな抗体によって認識される抗原に結合する限り使用され得る。

【０１０３】

抗体断片はまた、任意の合成タンパク質であっても、遺伝的に操作されたタンパク質であってもよい。例えば、抗体断片としては、軽鎖可変領域からなる単離された断片、重鎖および軽鎖の可変領域からなる「Ｆｖ」断片、軽鎖可変領域と重鎖可変領域とがペプチドリンカーによって接続される組換え単鎖ポリペプチド分子（ｓｃＦｖタンパク質）が挙げられる。

【０１０４】

抗体断片の別の形態は、抗体の１つ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）を含むペプチドである。ＣＤＲ（「最小認識単位」または「超可変領域」とも呼ばれる）は、目的のＣＤＲをコードするポリヌクレオチドを構築することによって取得され得る。このようなポリヌクレオチドは、例えば、抗体産生細胞のｍＲＮＡを鋳型として使用して可変領域を合成するポリメラーゼ連鎖反応を使用することによって調製される（例えば、Ｌａｒｒｉｃｋら

、Ｍｅｔｈｏｄｓ：Ａ Ｃｏｍｐａｎｉｏｎ ｔｏ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ２：１０６、１９９１；Ｃｏｕｒｔｅｎａｙ－Ｌｕｃｋ、“Ｇｅｎｅｔｉｃ Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｏｎ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，”、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ，Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ、Ｒｉｔｔｅｒら（編）、１６６頁（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ １９９５）；ならびにＷａｒｄら、“Ｇｅｎｅｔｉｃ Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，”、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ、Ｂｉｒｃｈら（編）、１３７頁（Ｗｉｌｅｙ－Ｌｉｓｓ、Ｉｎｃ．１９９５）を参照のこと）。

【０１０５】

したがって、一実施形態において、上記の結合因子は、本明細書に記載される少なくとも１つのＣＤＲを含む。この結合因子は、本明細書に記載される少なくとも２つ、３つ、４つ、５つまたは６つのＣＤＲを含み得る。この結合因子はさらに、本明細書に記載される抗体の少なくとも１つの可変領域ドメインを含み得る。この可変領域ドメインは、任意のサイズまたはアミノ酸組成であってもよく、一般的に、ＴＳＬＰへの結合に関与する少なくとも１つのＣＤＲ配列（例えば、本明細書に具体的に記載された重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ＣＤＲ３および／または軽鎖ＣＤＲ）を含み、このＣＤＲ配列は、１つ以上のフレームワーク配列に隣接するか、それとインフレームである。概して、可変（Ｖ）領域ドメインは、免疫グロブリン重（V_H）鎖可変ドメインおよび／または軽（V_L）鎖可変ドメインの任意の適切な配列（ａｒｒａｎｇｅｍｅｎｔ）であり得る。したがって、例えば、Ｖ領域ドメインは、単量体であり得、以下に記載されるように、少なくとも1×10^{-7}Ｍ以下の親和性でヒトＴＳＬＰに独立して結合することができるV_HまたはV_Lドメインであり得る。あるいは、このＶ領域ドメインは、二量体であり得、そしてV_H-V_H、V_H-V_LまたはV_L-V_L二量体を含み得る。このＶ領域二量体は、非共有結合的に結合し得る少なくとも１つのV_H鎖および少なくとも１つのV_L鎖を含む（以後、F_Vという）。所望される場合、これらの鎖は、２つの可変ドメインの間のジスルフィド結合を介して直接的にか、またはリンカー（例えば、ペプチドリンカー）を介してのいずれかで共有結合的にカップリングされ得、単鎖Ｆｖ（scF_V）を形成し得る。

【０１０６】

上記の可変領域ドメインは、任意の天然に存在する可変ドメインまたはその操作されたバージョンであり得る。操作されたバージョンによって、組換えＤＮＡ操作技術を使用して作製された可変領域ドメインが意味される。このような操作されたバージョンとしては、例えば、特定の抗体のアミノ酸配列におけるもしくはそれへの挿入、欠失または変更によって特定の抗体の可変領域から作製されるものが挙げられる。特定の例としては、第一の抗体に由来する少なくとも１つのＣＤＲおよび必要に応じて１つ以上のフレームワークアミノ酸、ならびに第二の抗体に由来する可変領域ドメインの残りを含む、操作された可変領域ドメインが挙げられる。

【０１０７】

上記の可変領域ドメインは、Ｃ末端アミノ酸において、少なくとも１つの他の抗体ドメインまたはその断片に共有結合的に付着され得る。したがって、例えば、可変領域ドメインに存在するＶＨドメインは、免疫グロブリンＣＨ１ドメインまたはその断片に連結され得る。同様に、V_Lドメインは、C_Kドメインまたはその断片に連結され得る。この方法において、例えば、抗体は、その抗原結合ドメインが、結合したV_HドメインおよびV_Lドメイン（このV_HドメインおよびV_Lドメインは、それらのＣ末端でそれぞれＣＨ１ドメインおよびC_Kドメインに共有結合的に連結されている）を含むＦａｂ断片であり得る。このＣＨ１ドメインは、さらなるアミノ酸で伸長され得、例えば、Ｆａｂ’断片に見出されるヒンジ領域もしくはヒンジ領域ドメインの一部を提供し得るか、または抗体ＣＨ２およびＣＨ３ドメインのようなさらなるドメインを提供し得る。

【０１０８】

抗原結合タンパク質の誘導体

図１Ａ～１Ｆ、図２Ａ～２Ｆ、および上記の表２に示されるヌクレオチド配列を、例えば、無作為な変異誘発または部位特異的変異誘発（ｓｉｔｅ－ｄｉｒｅｃｔｅｄ　ｍｕｔａｇｅｎｅｓｉｓ）（例えば、オリゴヌクレオチド誘導部位特異的変異誘発（ｓｉｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ｍｕｔａｇｅｎｅｓｉｓ））によって変更し得、変異させていないポリヌクレオチドと比べて、１個以上の特定のヌクレオチドの置換、欠失または挿入を含む変更されたポリヌクレオチドを作製し得る。このような改変物を作製するための技術の例は、Ｗａｌｄｅｒら、１９８６、Ｇｅｎｅ　４２：１３３；Ｂａｕｅｒら、１９８５、Ｇｅｎｅ　３７：７３；Ｃｒａｉｋ、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、Ｊａｎｕａｒｙ　１９８５、１２－１９；Ｓｍｉｔｈら、１９８１、Ｇｅｎｅｔｉｃ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ　ａｎｄ　Ｍｅｔｈｏｄｓ、Ｐｌｅｎｕｍ　Ｐｒｅｓｓ；ならびに米国特許第４，５１８，５８４号および同第４，７３７，４６２号に記載される。これらおよび他の方法は、例えば、所望の特性（例えば、誘導体化されていない抗原結合タンパク質と比べて、ＴＳＬＰに対する増大した親和性、アビディティもしくは特異性、インビボもしくはインビトロでの増大した活性もしくは安定性、または低減されたインビボ副作用）を有するＴＳＬＰ抗原結合タンパク質の誘導体を作製するために使用され得る。

【０１０９】

本発明の範囲内の抗体を含む抗ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質の他の誘導体としては、抗ＴＳＬＰ抗体ポリペプチドのＮ末端もしくはＣ末端に融合された異種ポリペプチドを含む組換え融合タンパク質の発現などによる、抗ＴＳＬＰ抗体もしくはその断片と、他のタンパク質もしくはポリペプチドとの共有結合性の結合体または集合性の結合体が挙げられる。例えば、結合体化されたペプチドは、異種シグナル（またはリーダー）ポリペプチド（例えば、酵母αファクターのリーダー）またはエピトープタグのようなペプチドであり得る。抗原結合タンパク質含有融合タンパク質は、抗原結合タンパク質の精製または同定を促進するために付加されたペプチド（例えば、ポリＨｉｓ）を含み得る。抗原結合タンパク質はまた、Ｈｏｐｐら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　６：１２０４、１９８８および米国特許第５，０１１，９１２号に記載されるようにＦＬＡＧペプチドに連結され得る。ＦＬＡＧペプチドは、高度に抗原性であり、特異的なモノクローナル抗体（ｍＡｂ）によって可逆的に結合されるエピトープを提供し、これは、発現された組換えタンパク質の迅速なアッセイおよび容易な精製を可能にする。ＦＬＡＧペプチドが所定のポリペプチドに融合された融合タンパク質を調製するのに有用な試薬は、市販されている（Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）。

【０１１０】

１つ以上の抗原結合タンパク質を含むオリゴマーは、ＴＳＬＰアンタゴニストとして使用され得る。オリゴマーは、共有結合的に連結されたまたは非共有結合的に連結された二量体、三量体またはより高次のオリゴマーの形態であり得る。２つ以上の抗原結合タンパク質を含むオリゴマーが、使用について意図され、その一例は、ホモ二量体である。他のオリゴマーとしては、ヘテロ二量体、ホモ三量体、ヘテロ三量体、ホモ四量体、ヘテロ四量体などが挙げられる。

【０１１１】

一実施形態は、抗原結合タンパク質に融合されたペプチド部分間の共有結合的または非共有結合的な相互作用を介して連結された複数の抗原結合タンパク質を含むオリゴマーに関する。このようなペプチドは、ペプチドリンカー（スペーサー）またはオリゴマー化を促進する特性を有するペプチドであり得る。ロイシンジッパーおよび抗体に由来する特定のポリペプチドは、以下により詳細に記載されるように、ペプチドに付着した抗原結合タンパク質のオリゴマー化を促進し得るペプチドのうちの一つである。

【０１１２】

特定の実施形態において、上記のオリゴマーは、ＴＳＬＰに結合することができる２～４つの抗原結合タンパク質を含む。オリゴマーの抗原結合タンパク質は、上記の形態（例えば、改変体または断片）のいずれかのような任意の形態であり得る。

【０１１３】
一実施形態において、オリゴマーは、免疫グロブリンに由来するポリペプチドを使用して調製される。抗体由来のポリペプチド（Ｆｃドメインを含む）の種々の部分に融合した特定の異種ポリペプチドを含む融合タンパク質の調製は、例えば、Ａｓｈｋｅｎａｚｉら、１９９１、ＰＮＡＳ ＵＳＡ ８８：１０５３５；Ｂｙｒｎら、１９９０、Ｎａｔｕｒｅ ３４４：６７７；およびＨｏｌｌｅｎｂａｕｇｈら、１９９２ “Ｃｏｎｓｔｒｕｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ Ｆｕｓｉｏｎ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ”、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、補遺４、頁１０．１９．１～１０．１９．１１によって記載されている。

【０１１４】
本発明の一実施形態は、抗ＴＳＬＰ抗体の断片を抗体のＦｃ領域に融合させることによって作製される、２つの融合タンパク質を含む二量体に関する。この二量体は、例えば、融合タンパク質をコードする遺伝子融合物を適切な発現ベクターに挿入すること、組換え発現ベクターで形質転換した宿主細胞内で、この遺伝子融合物を発現させること、そして発現した融合タンパク質を、抗体分子によく似せて組立てさせ、この際、鎖間ジスルフィド結合がＦｃ部分の間で形成し、二量体を得ることによって作製され得る。

【０１１５】
本明細書で使用される場合、用語「Ｆｃポリペプチド」は、抗体のＦｃ領域に由来するポリペプチドの天然形態およびムテイン形態を含む。二量体化を促進するヒンジ領域を含むこのようなポリペプチドの短縮化された形態もまた含まれる。Ｆｃ部分を含む融合タンパク質（およびそれから形成されるオリゴマー）は、プロテインＡカラムまたはプロテインＧカラムよりも優れた、アフィニティクロマトグラフィによる容易な精製の利点を提供する。

【０１１６】
ＰＣＴ特許出願第ＷＯ９３／１０１５１号（参考として本明細書に援用される）に記載される、１つの適切なＦｃポリペプチドは、ヒトＩｇＧ１抗体のＦｃ領域のＮ末端ヒンジ領域から天然のＣ末端まで延びる単鎖ポリペプチドである。別の有用なＦｃポリペプチドは、米国特許第５，４５７，０３５号およびＢａｕｍら、１９９４、ＥＭＢＯ Ｊ．１３：３９９２－４００１に記載されるＦｃムテインである。このムテインのアミノ酸配列は、アミノ酸１９がＬｅｕからＡｌａへ変更され、アミノ酸２０がＬｅｕからＧｌｕへ変更され、そしてアミノ酸２２がＧｌｙからＡｌａへ変更されたこと以外は、ＷＯ９３／１０１５１に提示される天然のＦｃ配列のものと同一である。このムテインは、Ｆｃレセプターに対する低減された親和性を示す。

【０１１７】
他の実施形態において、抗ＴＳＬＰ抗体の重鎖および／または軽鎖の可変部分は、抗体重鎖および／または軽鎖の可変部分の代わりになり得る。

【０１１８】
あるいは、上記オリゴマーは、ペプチドリンカー（スペーサーペプチド）を含むか含まない、複数の抗原結合タンパク質を含む融合タンパク質である。適切なペプチドリンカーのうちに、米国特許第４，７５１，１８０号および同第４，９３５，２３３号に記載されるものがある。

【０１１９】
オリゴマーの抗原結合タンパク質を調製するための別の方法は、ロイシンジッパーの使用を含む。ロイシンジッパードメインは、それが見出されるタンパク質のオリゴマー化を促進するペプチドである。ロイシンジッパーは元々、いくつかのＤＮＡ結合タンパク質（Ｌａｎｄｓｃｈｕｌｚら、１９８８、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１７５９）で同定され、以来、種々の異なるタンパク質で見出されている。既知のロイシンジッパーのうちに、二量体化または三量体化する、天然に存在するペプチドおよびその誘導体がある。可溶性のオリゴマータンパク質を生成するのに適切なロイシンジッパードメインの例は、ＰＣＴ特許出願第ＷＯ９４／１０３０８号に記載され、肺サーファクタントタンパク質Ｄ（ＳＰＤ

）に由来するロイシンジッパーは、Ｈｏｐｐｅら、１９９４、ＦＥＢＳ　Ｌｅｔｔｅｒｓ　３４４：１９１（これは、参考として本明細書に援用される）に記載される。それに融合された異種タンパク質の安定な三量体化を可能にする改変ロイシンジッパーの使用は、Ｆａｎｓｌｏｗら、１９９４、Ｓｅｍｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．６：２６７－７８に記載される。１つのアプローチにおいて、ロイシンジッパーペプチドに融合された抗ＴＳＬＰ抗体断片または誘導体を含む組換え融合タンパク質は、適切な宿主細胞で発現され、形成する可溶性のオリゴマーの抗ＴＳＬＰ抗体断片または誘導体が、培養上清から回収される。

【０１２０】

本明細書に記載されるように、抗体は、少なくとも１つのＣＤＲを含む。例えば、１つ以上のＣＤＲは、既知の抗体フレームワーク領域（ＩｇＧ１、ＩｇＧ２など）に組み込まれ得るか、またはその半減期を増大させる適切なビヒクルに結合体化され得る。適切なビヒクルとしては、Ｆｃ、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、アルブミンおよびトランスフェリンなどが挙げられるが、これらに限定されない。これらおよび他の適切なビヒクルは、当該技術分野で公知である。このような結合体化されたＣＤＲペプチドは、単量体形態、二量体形態、四量体形態または他の形態であり得る。一実施形態において、１つ以上の水溶性ポリマーが、結合因子の１つ以上の特定の位置（例えば、アミノ末端）に結合される。

【０１２１】

特定の好ましい実施形態において、抗体は、１つ以上の水溶性ポリマー付着物（ａｔｔａｃｈｍｅｎｔ）を含み、これらとしては、ポリエチレングリコール、ポリオキシエチレングリコールまたはポリプロピレングリコールが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、米国特許第４，６４０，８３５号、同第４，４９６，６８９号、同第４，３０１，１４４号、同第４，６７０，４１７号、同第４，７９１，１９２号および同第４，１７９，３３７号を参照のこと。特定の実施形態において、誘導体の結合因子は、１つ以上のモノメトキシ－ポリエチレングリコール、デキストラン、セルロース、または他の炭水化物ベースのポリマー、ポリ（Ｎ－ビニルピロリドン）－ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）およびポリビニルアルコール、ならびにこのようなポリマーの混合物を含む。特定の実施形態において、１つ以上の水溶性ポリマーは、１つ以上の側鎖にランダムに付着される。特定の実施形態において、ＰＥＧは、結合因子（例えば、抗体）についての治療能力を改善するように作用し得る。特定のこのような方法は、例えば、米国特許第６，１３３，４２６号（これは、任意の目的のために、参考として本明細書に援用される）で議論される。

【０１２２】

本発明の抗体が少なくとも１つのアミノ酸の置換、欠失または付加を含み得るが、ただし、その抗体は結合特異性を保持していることが条件となることが認識される。したがって、抗体構造への改変は、本発明の範囲に包含される。これらとしては、抗体のヒトＴＳＬＰ結合能力を破壊しない、保存的であっても非保存的であってもよいアミノ酸置換が挙げられ得る。保存的アミノ酸置換は、天然に存在しないアミノ酸残基を包含し得、これは、代表的に、生物学的システム（ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　ｓｙｓｔｅｍ）における合成によるのではなく化学的ペプチド合成によって組み込まれる。これらとしては、ペプチドミメティック（ｐｅｐｔｉｄｏｍｉｍｅｔｉｃ）およびアミノ酸部分の他の逆向き（ｒｅｖｅｒｓｅｄ）形態または逆方向（ｉｎｖｅｒｔｅｄ）形態が挙げられる。保存的アミノ酸置換はまた、標準的な残基での天然のアミノ酸残基の置換を含み得、その結果、その位置におけるアミノ酸残基の極性または電荷に対してほとんど影響がないかまたは全く影響がない。

【０１２３】

非保存的な置換は、１つのクラスのアミノ酸またはアミノ酸模倣物のメンバーを、異なる物理的特性（例えば、サイズ、極性、疎水性、電荷）を有する別のクラス由来のメンバーと交換することを含み得る。このような置換された残基は、非ヒト抗体と相同なヒト抗

体の領域に導入され得るか、またはその分子の非相同領域に導入され得る。

【０１２４】

さらに、当業者は、各所望のアミノ酸残基に単一のアミノ酸置換を含む試験改変体を生成し得る。次に、この改変体は、当業者に公知の活性アッセイを使用してスクリーニングされ得る。このような改変体は、適切な改変体についての情報を集めるために使用され得る。例えば、特定のアミノ酸残基への変更が、破壊されたか、望ましくなく低減されたか、または不適切な活性をもたらしたことを発見したとき、このような変更を有する改変体は回避され得る。言い換えると、このような慣例的な実験から集められた情報に基づいて、当業者は、さらなる置換が単独でかまたは他の変異と組み合わせてかのいずれかで回避されるべきであるアミノ酸を容易に決定することができる。

【０１２５】

当業者は、周知の技術を使用して本明細書に示されるポリペプチドの適切な改変体を決定することができる。特定の実施形態において、当業者は、活性に重要であるとは考えられない領域を標的化することによって、活性を破壊することなく変更され得る、分子の適切な領域を同定することができる。特定の実施形態において、類似するポリペプチドの間で保存されている、分子の残基および部分を同定することができる。特定の実施形態において、生物学的活性または構造に重要であり得る領域でさえ、生物学的活性を破壊することなく、かつポリペプチド構造に有害に影響することなく、保存的アミノ酸置換に供され得る。

【０１２６】

さらに、当業者は、活性または構造に重要である、同様なポリペプチド中の残基を同定した構造－機能研究を再検討し得る。このような比較を鑑みて、同様なタンパク質において活性または構造に重要であるアミノ酸残基に対応する、タンパク質中のアミノ酸残基の重要性を予測することができる。当業者は、このように予測された重要なアミノ酸残基に化学的に類似するアミノ酸置換を選択し得る。

【０１２７】

当業者はまた、同様なポリペプチドにおけるその構造に関連して、三次元構造およびアミノ酸配列を分析し得る。このような情報を鑑みて、当業者は、その三次元構造に関して、抗体のアミノ酸残基のアラインメントを予測し得る。特定の実施形態において、当業者は、タンパク質の表面上にあると予測されるアミノ酸残基への劇的な変更はしないことを選択し得る。なぜなら、このような残基は、他の分子との重要な相互作用に関与し得るからである。

【０１２８】

多くの科学刊行物が、二次構造の予測に向けられてきた。Ｍｏｕｌｔ　Ｊ．、Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．ｉｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ．、７（４）：４２２－４２７（１９９６）、Ｃｈｏｕら、Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、１３（２）：２２２－２４５（１９７４）；Ｃｈｏｕら、Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、１１３（２）：２１１－２２２（１９７４）；Ｃｈｏｕら、Ａｄｖ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．Ｒｅｌａｔ．Ａｒｅａｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、４７：４５－１４８（１９７８）；Ｃｈｏｕら、Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．、４７：２５１－２７６およびＣｈｏｕら、Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｊ．、２６：３６７－３８４（１９７９）を参照のこと。さらに、コンピュータプログラムは、二次構造の予測を補助することに現在利用可能である。二次構造を予測する一つの方法は、相同性モデリングに基づく。例えば、３０％超の配列同一性または４０％超の類似性を有する２つのポリペプチドまたはタンパク質は、しばしば同様な構造上のトポロジーを有する。タンパク質構造データベース（ＰＤＢ）の最近の成長は、ポリペプチドの構造またはタンパク質の構造内の可能性のある数の折りたたみを含む、二次構造の増大した予測性を提供してきた。Ｈｏｌｍら、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄ．Ｒｅｓ．、２７（１）：２４４－２４７（１９９９）を参照のこと。所定のポリペプチドまたはタンパク質内に限られた数の折りたたみが存在すること、ならびに一度、重要な数（ｃｒｉｔｉｃａｌ　ｎｕｍｂｅｒ）の構造が解明されると、構造予測は、劇的により加速するようになることが示唆されている（Ｂｒｅｎｎｅｒら、Ｃｕｒｒ．

Ｏｐ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．、７（３）：３６９－３７６（１９９７））。

【０１２９】

二次構造を予測するさらなる方法としては、「スレッディング（ｔｈｒｅａｄｉｎｇ）」（Ｊｏｎｅｓ，Ｄ．、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．、７（３）：３７７－８７（１９９７）；Ｓｉｐｐｌら、Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、４（１）：１５－１９（１９９６））、「プロファイル分析」（Ｂｏｗｉｅら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２５３：１６４－１７０（１９９１）；Ｇｒｉｂｓｋｏｖら、Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍ．、１８３：１４６－１５９（１９９０）；Ｇｒｉｂｓｋｏｖら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．、８４（１３）：４３５５－４３５８（１９８７））および「進化的連鎖（ｅｖｏｌｕｔｉｏｎａｒｙ　ｌｉｎｋａｇｅ）」（Ｈｏｌｍ、上記（１９９９）およびＢｒｅｎｎｅｒ、上記（１９９７）を参照のこと）が挙げられる。

【０１３０】

一部のタンパク質（例えば、抗体）が種々の翻訳後修飾を受け得ることを当業者は理解する。これらの修飾の型および程度は、しばしばタンパク質を発現するのに使用される宿主細胞株および培養条件に依存する。このような修飾としては、グリコシル化の変動、メチオニンの酸化、ジケトピペリジン形成、アスパラギン酸異性化およびアスパラギンアミド分解が挙げられる。頻発する修飾は、カルボキシペプチダーゼの作用に起因するカルボキシ末端の塩基性残基（例えば、リジンまたはアルギニン）の喪失である（Ｈａｒｒｉｓ，Ｒ．Ｊ．、Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒａｐｈｙ　７０５：１２９－１３４、１９９５に記載される）。

【０１３１】

特定の実施形態において、抗体の改変体としては、親ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、グリコシル化部位の数および／または型が変更されているグリコシル化改変体が挙げられる。特定の実施形態において、改変体は、天然のタンパク質よりも多いかまたは少ない数のＮ結合型グリコシル化部位を含む。あるいは、この配列を消失させる置換は、存在するＮ結合型炭水化物鎖を除去する。１つ以上のＮ結合型グリコシル化部位（代表的に、天然に存在するもの）が消失され、１つ以上の新規なＮ結合型部位が作製されるＮ結合型炭水化物鎖の再配列もまた提供される。さらなる好ましい抗体改変体としては、その親アミノ酸配列と比較して、１つ以上のシステイン残基が欠失させられるか、または別のアミノ酸（例えば、セリン）に置換される、システイン改変体が挙げられる。例えば、不溶性の封入体の単離の後、抗体が生物学的に活性なコンフォメーションに再折りたたみされなければならない場合、システイン改変体が有用であり得る。一般的に、システイン改変体は、天然のタンパク質よりも少ないシステイン残基を有し、代表的に、対形成していないシステインから生じる相互作用を最小にするために偶数のシステイン残基を有する。

【０１３２】

所望のアミノ酸置換（保存的であろうと非保存的であろうと）は、このような置換が所望される時に、当業者によって決定され得る。特定の実施形態において、アミノ酸置換は、ヒトＴＳＬＰに対する抗体の重要な残基を同定するか、または本明細書に記載されるヒトＴＳＬＰに対する抗体の親和性を増大もしくは低減させるのに使用され得る。

【０１３３】

特定の実施形態にしたがって、好ましいアミノ酸置換は、（１）タンパク質分解に対する感受性を低減する、（２）酸化に対する感受性を低減する、（３）タンパク質複合体を形成する結合親和性を変更する、（４）結合親和性を変更する、および／あるいは（４）そのようなポリペプチドに対して他の物理化学的特性または機能特性を付与または改変するものである。特定の実施形態にしたがって、単一または複数のアミノ酸置換（特定の実施形態において、保存的アミノ酸置換）は、天然に存在する配列（特定の実施形態において、分子間接触を形成するドメインの外側のポリペプチドの一部）でなされ得る。特定の実施形態において、保存的アミノ酸置換は、代表的に、親配列の構造的特徴を実質的に変化させなくてよい（例えば、置換アミノ酸は、親配列に存在するヘリックスを破壊する傾向もなく、親配列を特徴付ける他の型の二次構造を破壊する傾向もないはずである）。当

該技術分野で認識されるポリペプチドの二次および三次構造の例は、Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ（Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ編、Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４））；Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ（Ｃ．ＢｒａｎｄｅｎおよびＪ．Ｔｏｏｚｅ編、Ｇａｒｌａｎｄ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、Ｎ．Ｙ．（１９９１））；およびＴｈｏｒｎｔｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ ３５４：１０５（１９９１）（これらは、それぞれ参考として本明細書に援用される）に記載される。

【０１３４】

特定の実施形態において、本発明の抗体は、ポリマー、脂質または他の部分に化学的に結合され得る。

【０１３５】

さらに、上記の抗原結合タンパク質は、生体適合性フレームワーク構造に組み込まれた、本明細書に記載されたＣＤＲのうちの少なくとも１つを含み得る。一例において、この生体適合性フレームワーク構造は、コンフォメーション的に安定な構造支持体またはフレームワークまたは足場を形成するのに十分であるポリペプチドまたはその一部を含み、これは、局在化した表面領域において、抗原に結合するアミノ酸の１つ以上の配列（例えば、ＣＤＲ、可変領域など）を提示することができる。このような構造は、天然に存在するポリペプチドもしくはポリペプチドの「折りたたみ」（構造モチーフ）であり得るか、または天然に存在するポリペプチドまたは折りたたみと比較して、アミノ酸の付加、欠失もしくは置換のような１つ以上の改変を有し得る。これらの足場は、ヒト、他の哺乳動物、他の脊椎動物、無脊椎動物、植物、細菌またはウイルスのような任意の種（または１つより多い種）のポリペプチドに由来し得る。

【０１３６】

代表的に、生体適合性フレームワーク構造は、免疫グロブリンドメイン以外のタンパク質足場または骨格に基づく。例えば、フィブロネクチン、アンキリン、リポカリン、ネオカルチノスタチン（ｎｅｏｃａｒｚｉｎｏｓｔａｉｎ）、シトクロムｂ、ＣＰ１ジンクフィンガー、ＰＳＴ１、コイルドコイル、ＬＡＣＩ－Ｄ１、Ｚドメインおよびテンダミスタット（ｔｅｎｄａｍｉｓｔａｔ）ドメインに基づくものが使用され得る（例えば、ＮｙｇｒｅｎおよびＵｈｌｅｎ、１９９７、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ、７、４６３－４６９を参照のこと）。

【０１３７】

さらに、別の実施形態において、当業者は、上記の抗原結合タンパク質が、１つ以上のアミノ酸置換を有する重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ＣＤＲ３および／または軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３のうちの１つ以上を含み得るが、この抗体が、置換されていないＣＤＲの結合特異性を保持することが条件となることを認識する。この抗体の非ＣＤＲ部分が、非タンパク質分子であり得、この結合因子が、ヒトＴＳＬＰへの本明細書に開示された抗体の結合を交差ブロック（ｃｒｏｓｓ－ｂｌｏｃｋ）するか、および／またはＴＳＬＰ活性を阻害する。抗体の非ＣＤＲ部分は、非タンパク質分子であり得、ここで、この抗体が、競合結合アッセイにおいて、抗体Ａ１～Ａ２７のうちの少なくとも１つによって示されるものと同様なヒトＴＳＬＰタンパク質への結合パターンを示すか、および／またはＴＳＬＰの活性を中和する。この抗体の非ＣＤＲ部分は、アミノ酸から構成され得、ここで、この抗体は、組換え結合タンパク質または合成ペプチドであり、この組換え結合タンパク質は、ヒトＴＳＬＰへの本明細書に開示された抗体の結合を交差ブロックするか、および／またはインビボもしくはインビトロでＴＳＬＰを中和する。この抗体の非ＣＤＲ部分は、アミノ酸から構成され得、ここで、この抗体は組換え抗体であり、そしてこの組換え抗体は、競合結合アッセイにおいて、抗体Ａ１～Ａ２７のうちの少なくとも１つによって示されるものと同様なヒトＴＳＬＰポリペプチドへの結合パターンを示すか、および／またはＴＳＬＰの活性を中和する。

【０１３８】

抗原結合タンパク質（特に抗体）を作成する方法。

【０１３９】

上記のように、一つ以上の重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ＣＤＲ３、ならびに／または軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３を含む抗体のような、抗原結合タンパク質は、これらの配列をコードするＤＮＡを含む宿主細胞からの発現により取得され得る。それぞれのＣＤＲ配列をコードするＤＮＡは、ＣＤＲのアミノ酸配列に基づいて決定され得、そして適切なオリゴヌクレオチド合成技術、部位特異的変異誘発およびポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）技術を用いて任意の所望の抗体可変領域フレームワークおよび定常領域ＤＮＡ配列と一緒に合成され得る。可変領域フレームワークおよび定常領域をコードするＤＮＡは、ＧｅｎＢａｎｋ（登録商標）のような遺伝子配列データベースから当業者には広く入手可能である。

【０１４０】

追加の実施形態は、キメラ抗体（例えば、非ヒト（例えば、マウス）モノクローナル抗体のヒト化型）を含む。そのようなヒト化抗体は、公知の技術により調製され得、そしてその抗体がヒトに投与される場合、免疫原性の減少の利点を提供する。一つの実施形態において、ヒト化モノクローナル抗体は、マウス抗体の可変ドメイン（またはその抗原結合部位の全てもしくは部分）およびヒト抗体由来の定常ドメインを含む。あるいは、ヒト化抗体断片は、マウスモノクローナル抗体の抗原結合部位およびヒト抗体由来の可変ドメイン断片（抗原結合部位を欠く）を含み得る。キメラのそしてさらに操作されたモノクローナル抗体の生産のための手順は、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎら、１９８８，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３、Ｌｉｕら、１９８７，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８４：３４３９、Ｌａｒｒｉｃｋら、１９８９，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ７：９３４、およびＷｉｎｔｅｒら、１９９３，ＴＩＰＳ １４：１３９に記載された手順を含む。一つの実施形態において、キメラ抗体は、ＣＤＲを接いだ抗体である。抗体をヒト化するための技術は、例えば、米国特許第５，８６９，６１９号、同第５，２２５，５３９号、同第５，８２１，３３７号、同第５，８５９，２０５号、同第６，８８１，５５７号、Ｐａｄｌａｎら、１９９５，ＦＡＳＥＢ Ｊ．９：１３３～３９，およびＴａｍｕｒａら、２０００，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：１４３２～４１において考察される。そのようなヒト化抗体を生産するための追加の技術は、Ｚｈａｎｇ，Ｗ．ら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ．４２（１２）：１４４５～１４５１，２００５；Ｈｗａｎｇ Ｗ．ら、Ｍｅｔｈｏｄｓ．３６（１）：３５～４２，２００５；Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ＷＦら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６（１）：４３～６０，２００５；およびＣｌａｒｋ，Ｍ．，Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｔｏｄａｙ．２１（８）：３９７～４０２，２０００）に記載される。

【０１４１】

非ヒト動物において、ヒト抗体または部分的ヒト抗体を生成するための手順が開発された。例えば、一つ以上の内在性免疫グロブリン遺伝子が種々の方法により不活化されたマウスが作られた。ヒト免疫グロブリン遺伝子が、不活化されたマウス遺伝子を置き換えるためにマウス中に導入された。その動物において産生された抗体は、その動物中に導入されたヒト遺伝子物質によりコードされるヒト免疫グロブリンポリペプチド鎖を組み込む。一つの実施形態において、非ヒト動物（例えば、トランスジェニックマウス）が、ＴＳＬＰタンパク質で免疫化され、その結果、種々のＴＳＬＰポリペプチドに対して指向する抗体が、その動物において生成される。適切な免疫原の例が、以下の例において提供される。

【０１４２】

ヒト抗体または部分的ヒト抗体の生産のためのトランスジェニック動物の生産および使用のための技術の例が、米国特許第５，８１４，３１８号、同第５，５６９，８２５号、および同第５，５４５，８０６号、Ｄａｖｉｓら、２００３，Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｏｆ ｈｕｍａｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｒｏｍ ｔｒａｎｓｇｅｎｉｃ ｍｉｃｅ ｉｎ Ｌｏ，ｅｄ．Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ：Ｍｅｔｈｏｄｓ

and Protocols, Humana Press, NJ：191～200、Kellermannら、2002, Curr Opin Biotechnol. 13：593～97、Russelら、2000, Infect Immun. 68：1820～26、Galloら、2000, Eur J Immun. 30：534～40、Davisら、1999, Cancer Metastasis Rev. 18：421～25、Green, 1999, J Immunol Methods. 231：11～23、Jakobovits, 1998, Advanced Drug Delivery Reviews 31：33～42、Greenら、1998, J Exp Med. 188：483～95、Jakobovits A, 1998, Exp. Opin. Invest. Drugs. 7：607～14、Tsudaら、1997, Genomics. 42：413～21、Mendezら、1997, Nat Genet. 15：146～56、Jakobovits, 1994, Curr Biol. 4：761～63、Arbonesら、1994, Immunity. 1：247～60、Greenら、1994, Nat Genet. 7：13～21、Jakobovitsら、1993, Nature. 362：255～58、Jakobovitsら、1993, Proc Natl Acad Sci USA. 90：2551～55、Chen, J., M. Trounstine, F. W. Alt, F. Young, C. Kurahara, J. Loring, D. Huszar. “Immunoglobulin gene rearrangement in B－cell deficient mice generated by targeted deletion of the JH locus.” International Immunology 5（1993）：647～656、Choiら、1993, Nature Genetics 4：117～23、Fishwildら、1996, Nature Biotechnology 14：845～51、Hardingら、1995, Annals of the New York Academy of Sciences、Lonbergら、1994, Nature 368：856～59、Lonberg, 1994, Transgenic Approaches to Human Monoclonal Antibodies in Handbook of Experimental Pharmacology 113：49～101、Lonbergら、1995, Internal Review of Immunology 13：65～93、Neuberger, 1996, Nature Biotechnology 14：826、Taylorら、1992, Nucleic Acids Research 20：6287～95、Taylorら、1994, International Immunology 6：579～91、Tomizukaら、1997, Nature Genetics 16：133～43、Tomizukaら、2000, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 97：722～27、Tuaillonら、1993, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 90：3720～24、およびTuaillonら、1994, Journal of Immunology 152：2912～20に記載される。

【０１４３】

別の局面において、本発明は、ヒトＴＳＬＰに結合するモノクローナル抗体を提供する。モノクローナル抗体は、免疫化スケジュールの完了後、当該分野で公知の任意の技術を用いて（例えばトランスジェニック動物から採取した脾臓細胞を不死化することによって）生産され得る。脾臓細胞は、当該分野で公知の任意の技術（例えば、ハイブリドーマ細胞を生成するためにそれらを骨髄腫細胞と融合させることによる）を用いて不死化され得る。ハイブリドーマ生成融合手順における使用のための骨髄腫細胞は、好ましくは、抗体を産生せず、高い融合効率、および所望の融合細胞（ハイブリドーマ）のみの増殖を支持する特定の選択培地においてその骨髄腫細胞が増殖することを不可能にする、酵素の欠損

を有する。マウスの融合における使用のための適切な細胞株の例は、Ｓｐ－２０、Ｐ３－Ｘ６３／Ａｇ８、Ｐ３－Ｘ６３－Ａｇ８．６５３、ＮＳ１／１．Ａｇ　４　１、Ｓｐ２０－Ａｇ１４、ＦＯ、ＮＳＯ／Ｕ、ＭＰＣ－１１、ＭＰＣ１１－Ｘ４５－ＧＴＧ　１．７およびＳ１９４／５ＸＸ０　Ｂｕｌを含み；ラットの融合において使用される細胞株の例は、Ｒ２１０．ＲＣＹ３、Ｙ３－Ａｇ　１．２．３、ＩＲ９８３Ｆおよび４Ｂ２１０を含む。細胞融合のために有用な他の細胞株は、Ｕ－２６６、ＧＭ１５００－ＧＲＧ２、ＬＩＣＲ－ＬＯＮ－ＨＭｙ２およびＵＣ７２９－６である。

【０１４４】

一実施形態において、ハイブリドーマ細胞株は、ＴＳＬＰ免疫原で動物（例えば、ヒト免疫グロブリン配列を有するトランスジェニック動物）を免疫化すること；その免疫化された動物から脾臓細胞を採取すること；その採取された脾臓細胞を骨髄腫細胞株に融合させること、それによりハイブリドーマ細胞を生成すること；そのハイブリドーマ細胞からハイブリドーマ細胞株を樹立すること、そしてＴＳＬＰポリペプチドを結合する抗体を産生するハイブリドーマ細胞株を同定することにより生成される。そのようなハイブリドーマ細胞株、およびそれらにより産生されるＴＳＬＰモノクローナル抗体は、本発明により包含される。

【０１４５】

ハイブリドーマ細胞株により分泌されるモノクローナル抗体は、当該分野で公知の任意の技術を用いて精製され得る。ハイブリドーマまたはｍＡｂｓは、特定の特性（例えば、初代ヒト樹状細胞からのオステオプロテゲリン（ＯＰＧ）産生のようなＴＳＬＰ活性を妨げることのような）をもつｍＡｂｓを同定するためにさらにスクリーニングされ得る。そのようなアッセイの例が、以下の実施例で提供される。

【０１４６】

抗体結合部位の中心における相補性決定領域（ＣＤＲ）の分子進化が、例えば、Ｓｃｈｉｅｒら、，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２６３：５５１により記載されたように、親和性の増加した抗体を単離するために用いられた。したがって、そのような技術は、ヒトＴＳＬＰに対する抗体を調製するうえで有用である。

【０１４７】

ヒトＴＳＬＰに対して指向する抗原結合タンパク質が、例えば、ＴＳＬＰの存在を検出するアッセイにおいてインビトロまたはインビボのどちらでも用いられ得る。

【０１４８】

ヒト抗体、部分的ヒト抗体、またはヒト化抗体が、多くの適用、特にヒト被験体へのその抗体の投与を含む適用に適切であるが、他の型の抗原結合タンパク質が、特定の適用に適切である。本発明の非ヒト抗体は、例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ロバ、または非ヒト霊長類（サル（例えば、カニクイザルまたはアカゲザル）または類人猿（例えば、チンパンジー））のような任意の抗体産生動物由来であり得る。本発明の非ヒト抗体は、例えば、インビトロおよび細胞培養に基づく適用において、または本発明の抗体に対する免疫応答が、生じないか、取るに足らないか、防止され得るか、重要でないか、もしくは所望される、任意の他の適用において用いられ得る。一つの実施形態において、本発明の非ヒト抗体は、非ヒト被験体に投与される。別の実施形態において、非ヒト抗体は、非ヒト被験体において、免疫応答を誘発しない。別の実施形態において、非ヒト抗体は、非ヒト被験体と同じ種に由来する（例えば、本発明のマウス抗体が、マウスに投与される）。特定の種からの抗体が、例えば、所望の免疫原をもつ種の動物を免疫化することにより、またはその種の抗体を生成するための人工的な系（例えば、特定の種の抗体を生成するための細菌またはファージディスプレイに基づく系）を用いることにより、または一つの種由来の抗体を別の種由来の抗体へと変換することにより（例えば、抗体の定常領域を他の種由来の定常領域で置き換えることにより）、または抗体を、他の種由来の抗体の配列により密接に似せるように、その抗体の一つ以上のアミノ酸残基を置き換えることにより作製され得る。一つの実施形態において、抗体は、二つ以上の異なる種からの抗体に由来するアミノ酸配列を含むキメラ抗体である。

【０１４９】
抗原結合タンパク質は、多数の従来の技術のいずれによっても調製され得る。例えば、抗原結合タンパク質は、抗原結合タンパク質を天然に発現する細胞から精製され得る（例えば、抗体は、抗体を産生するハイブリドーマから精製され得る）か、当該分野で公知の任意の技術を用いる組換え発現系において生成され得る。例えば、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ：Ａ Ｎｅｗ Ｄｉｍｅｎｓｉｏｎ ｉｎ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｎａｌｙｓｅｓ，Ｋｅｎｎｅｔら、（ｅｄｓ．），Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８０）；およびＡｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｄ（ｅｄｓ．），Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ，（１９８８）を参照のこと。

【０１５０】
当該分野で公知の任意の発現系が、本発明の組換えペプチドを作製するために用いられ得る。一般的に、宿主細胞は、所望のポリペプチドをコードするＤＮＡを含む組換え発現ベクターで形質転換される。宿主細胞の中で、用いられ得るものは、原核生物、酵母またはより高等な真核生物細胞である。原核生物は、グラム陰性またはグラム陽性生物、例えば、Ｅ．ｃｏｌｉまたはバチルスを含む。より高等な真核生物細胞は、昆虫細胞および哺乳動物起源の樹立細胞株を含む。適切な哺乳動物宿主細胞株の例は、サル腎臓細胞のＣＯＳ－７株（ＡＴＣＣ ＣＲＬ １６５１）（Ｇｌｕｚｍａｎら、１９８１，Ｃｅｌｌ ２３：１７５）、Ｌ細胞、２９３細胞、Ｃ１２７細胞、３Ｔ３細胞（ＡＴＣＣ ＣＣＬ １６３）、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ＨｅＬａ細胞、ＢＨＫ（ＡＴＣＣ ＣＲＬ １０）細胞株、およびＭｃＭａｈａｎら、１９９１，ＥＭＢＯ Ｊ．１０：２８２１により記載されたようにアフリカミドリザル腎臓細胞株ＣＶＩ（ＡＴＣＣ ＣＣＬ ７０）から得られたＣＶＩ／ＥＢＮＡ細胞株を含む。細菌、真菌、酵母、および哺乳動物の細胞宿主での使用のための適切なクローニングおよび発現ベクターは、Ｐｏｕｗｅｌｓら、（Ｃｌｏｎｉｎｇ Ｖｅｃｔｏｒｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８５）により記載される。

【０１５１】
形質転換された細胞は、ポリペプチドの発現を促進する条件下で培養され得、そして該ポリペプチドは、従来のタンパク質精製手順により回収される。一つのそのような精製手順は、以下の実施例において記載される。本明細書における使用のために企図されるポリペプチドは、汚染内在性物質が実質的に存在しない、実質的に同質の組換え哺乳動物抗ＴＳＬＰ抗体ポリペプチドを含む。

【０１５２】
多数の公知の技術のいずれかによって、抗原結合タンパク質が調製され得、そして所望の特性についてスクリーニングされ得る。その技術のいくつかは、目的の抗原結合タンパク質（例えば、ＴＳＬＰ抗体）のポリペプチド鎖（またはその部分）をコードする核酸を単離すること、そして組換えＤＮＡ技術を介してその核酸を操作することを含む。核酸は、別の目的の核酸に融合され得るか、または例えば、一つ以上のアミノ酸残基を加えるか、欠失させるか、もしくは置換させるために改変させられ得る（例えば変異誘発または他の従来の技術により）。

【０１５３】
単鎖抗体は、重鎖および軽鎖可変ドメイン（Ｆｖ領域）断片を、アミノ酸橋（ａｍｉｎｏ ａｃｉｄ ｂｒｉｇｄｅ）（短いペプチドリンカー）を介して連結し、単一ポリペプチド鎖を生じることにより形成され得る。そのような単鎖Ｆｖｓ（ｓｃＦｖｓ）は、二つの可変ドメインポリペプチド（V_LおよびV_H）をコードするＤＮＡの間にペプチドリンカーをコードするＤＮＡを融合させることにより調製された。生じたポリペプチドは、抗原結合単量体を形成するために、それら自身の上に折り返し得るか、または二つの可変ド

メイン間の柔軟なリンカーの長さに依存して、多量体（例えば、二量体、三量体、または四量体）を形成することができる（Korttら、1997, Prot. Eng. 10：423；Korttら、2001, Biomol. Eng. 18：95～108）。異なるV_LおよびV_H含有ポリペプチドを結合することにより、異なるエピトープに結合する多量体のscFvsを形成することができる（Kriangkumら、2001, Biomol. Eng. 18：31－40）。単鎖抗体の生成のために開発された技術は、米国特許第4，946，778号；Bird, 1988, Science 242：423；Hustonら、1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85：5879；Wardら、1989, Nature 334：544, de Graafら、2002, Methods Mol Biol. 178：379～87に記載された技術を含む。本明細書で提供された抗体から得られた単鎖抗体は、本発明により包含される可変ドメインの組合せL1H1, L2H2, L3H3, L4H4, L5H5, L6H6, L7H7, L8H8, L9H9, L10H10, L11H11, L12H12, L13H13, L14H14, L15H15, L16H16, L17H17, L18H18, L19H19, L20H20, L21H21, L22H22, L23H23, L24H24, L25H25, L26H26, およびL27H27を含むscFvsを含むが、それに限定されるものではない。

【0154】

ひとたび合成されると、本発明の抗体またはその断片をコードするDNAは、核酸の切り出し、ライゲーション、形質転換、および任意の数の公知の発現ベクターを用いるトランスフェクションのための多様な周知の方法のいずれかによって増やされ、そして発現させられ得る。したがって、特定の実施形態において、抗体断片の発現は、Escherichia.coliのような原核生物宿主において好ましくあり得る（例えば、Pluckthunら、1989 Methods Enzymol. 178：497～515を参照のこと）。特定の他の実施形態において、抗体またはその断片の発現は、酵母（例えば、Saccharomyces cerevisiae、Schizosaccharomyces pombe、およびPichia pastoris）、動物細胞（哺乳動物細胞を含む）または植物細胞を含む真核生物宿主細胞において好ましくあり得る。適切な動物細胞の例は、骨髄腫（例えば、マウスNSO株）、COS、CHO、またはハイブリドーマ細胞を含むが、それらに限定されない。植物細胞の例は、タバコ、トウモロコシ、大豆、およびイネの細胞を含む。抗体の可変および／または定常領域をコードするDNAを含む一つ以上の複製可能な発現ベクターが、調製され、そしてその抗体の産生が生じる適切な細胞株、例えばマウスNSO株のような非産生骨髄腫細胞株、またはE.coliのような細菌を形質転換するために使用され得る。有効な転写および翻訳を得るために、各ベクターにおけるDNA配列は、適切な制御配列、特に可変ドメイン配列に作動可能に連結されたプロモーターおよびリーダー配列を含む。この方法で抗体を生成するための特定の方法は、一般的に周知であり、日常的に用いられる。例えば、基礎的な分子生物学の手順は、Maniatisらにより記載される（Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1989；Maniatisら、3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, （2001）もまた参照のこと）。DNA配列決定は、Sangerら、（PNAS 74：5463,（1977））およびAmersham International plc sequencing handbookに記載されたように実施され得、そして部位特異的変異誘発は、当該分野で公知の方法（Kramerら、Nucleic Acids Res. 12：9441,（1984）；Kunkel Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82：488～92 （1985）；Kunkelら、Methods in Enzymol. 154：367～82 （1987）；the Anglian Bi

otechnology Ltd. handbook）にしたがって実行され得る。さらに、多数の出版物が、ＤＮＡの操作による抗体の調製、発現ベクターの作製、ならびに適切な細胞の形質転換および培養のために適切な技術を記載する（Mountain A and Adair, J R in Biotechnology and Genetic Engineering Reviews（ed. Tombs, M P, １０, Chapter 1, １９９２, Intercept, Andover, UK）；“Current Protocols in Molecular Biology”, １９９９, F.M. Ausubel（ed.）, Wiley Interscience, New York）。

【０１５５】

一つ以上の上記のＣＤＲを含む本発明による抗体の親和性を改善することが所望される場合、ＣＤＲの維持（Yangら、J. Mol. Biol., ２５４, ３９２～４０３, １９９５）、鎖のシャッフリング（chain shuffling）（Marksら、Bio／Technology、１０、７７９～７８３、１９９２）、E. coliの変異株の使用（Lowら、J. Mol. Biol., ２５０, ３５０～３６８, １９９６）、ＤＮＡシャッフリング（Pattenら、Curr. Opin. Biotechnol., ８, ７２４～７３３, １９９７）、ファージディスプレイ（Thompsonら、J. Mol. Biol., ２５６, ７～８８, １９９６）およびＰＣＲ（Crameri, ら、Nature, ３９１, ２８８～２９１, １９９８）を含む、多くの親和性成熟プロトコールにより取得され得る。親和性成熟のこれらの方法の全てが、Vaughanら、（Nature Biotechnology, １６, ５３５～５３９, １９９８）によって考察される。

【０１５６】

本発明による他の抗体は、本明細書中に記載されそして当該分野で公知である従来の免疫化手順および細胞融合手順により取得され得る。本発明のモノクローナル抗体は、多様な公知の技術を用いて生成され得る。一般的に、特定の抗原に結合するモノクローナル抗体は、当業者に公知の方法により取得され得る（例えば、Kohlerら、Nature ２５６：４９５, １９７５；Coliganら、（eds.）, Current Protocols in Immunology, １：２.５.１２.６.７（John Wiley & Sons １９９１）、米国特許第ＲＥ ３２, ０１１号、同第４, ９０２, ６１４号、同第４, ５４３, ４３９号および同第４, ４１１, ９９３号、Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Plenum Press, Kennett, McKearn, and Bechtol（eds.）（１９８０）、ならびにAntibodies: A Laboratory Manual, Harlow and Lane（eds.）, Cold Spring Harbor Laboratory Press（１９８８）、Pickslayら、“Production of monoclonal antibodies against proteins expressed in E. coli,” in DNA Cloning ２: Expression Systems, 2nd Edition, Gloverら、（eds.）, page ９３（Oxford University Press １９９５）を参照のこと）。抗体断片は、任意の適切な標準的な技術（例えば、タンパク質分解性の消化）を用いて、または任意にジスルフィド結合の穏やかな還元およびアルキル化が続くタンパク質分解性の消化（例えば、パパインまたはペプシンを用いる）により、それらから取得され得る。あるいは、そのような断片はまた、本明細書中に記載されるような組換え遺伝子操作技術により生成され得る。

【０１５７】

モノクローナル抗体は、当該分野で公知の方法および本明細書中に記載された方法により、配列番号２のヒトＴＳＬＰ、本明細書中に記載されるような他のＴＳＬＰポリペプチ

ド配列、またはその断片を含む免疫原を動物（例えば、ラット、ハムスター、ウサギ、または好ましくはマウス（例えば、トランスジェニックまたはノックアウトを含む））に当該分野で公知のように注射することにより取得され得る。特定の抗体産生の存在は、最初の注射後および／またはブースター注射後、血清サンプルを採取し、ヒトＴＳＬＰに結合する抗体またはその断片の存在を、当該分野で公知および本明細書中に記載のいくつかの免疫検出法の任意の一つを用いて検出することによってモニタリングされ得る。所望の抗体を産生する動物から、脾臓またはリンパ節由来の最も一般的な細胞であるリンパ系細胞が、Ｂリンパ球を得るために採取される。Ｂリンパ球は、その後、不死の真核生物細胞株であるハイブリドーマを生成するために、薬剤感受性の骨髄腫細胞の融合の相手、好ましくは免疫化された動物と同系であり、そして任意に他の所望の特性を有する細胞（例えば、内因性Ｉｇ遺伝子産物を発現できない、例えば、Ｐ３Ｘ６３－Ａｇ　８．６５３（ＡＴＣＣ　Ｎｏ．ＣＲＬ　１５８０）；ＮＳＯ，ＳＰ２０）と融合される。

【０１５８】

リンパ系（例えば、脾臓）細胞および骨髄腫細胞は、膜融合促進剤（例えば、ポリエチレングリコールまたは非イオン性界面活性剤）をもちいて数分で結合され得、そしてハイブリドーマ細胞の増殖を支持するが、非融合の骨髄腫細胞の増殖は支持しない選択培地上に低密度で播種され得る。好ましい選択培地は、ＨＡＴ（ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジン）である。十分な時間（通常、約１～２週間）の後、細胞のコロニーが観察される。単一コロニーが単離され、その細胞により産生される抗体が、当該分野で公知のおよび本明細書中に記載される多様な免疫アッセイの任意の一つを用いて、ヒトＴＳＬＰに対する結合活性について試験され得る。そのハイブリドーマは、クローニングされ（例えば、限界希釈クローニングにより、または軟寒天プラーク単離により）、そしてヒトＴＳＬＰに対して特異的な抗体を産生するクローンが選択され培養される。ハイブリドーマ培養物からのモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ培養物の上清から単離され得る。

【０１５９】

マウスモノクローナル抗体の生成についての、代替的な方法は、ハイブリドーマ細胞を同遺伝子型のマウス（例えば、モノクローナル抗体を含む腹水流体の形成を促進するために処置された（例えば、プリスタン感作された）マウス）の腹腔に注入することである。モノクローナル抗体は、多様なよく確立された技術により単離および精製され得る。そのような単離技術は、プロテインＡをもちいるアフィニティクロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、およびイオン交換クロマトグラフィーを含む（例えば、Ｃｏｌｉｇａｎ　２．７．１～２．７．１２　頁および２．９．１～２．９．３頁；　Ｂａｉｎｅｓら、“Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ　Ｇ　（ＩｇＧ），”　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，　Ｖｏｌ．１０，　７９～１０４頁（Ｔｈｅ　Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ，　Ｉｎｃ．　１９９２）を参照のこと）．　モノクローナル抗体は、抗体の特定の性質（例えば、重鎖または軽鎖アイソタイプ、結合特性等）に基づいて選択された適切なリガンドを用いるアフィニティクロマトグラフィーにより精製され得る。固体支持体に固定された適切なリガンドの例は、プロテインＡ、プロテインＧ、抗定常領域（軽鎖または重鎖）抗体、抗イディオタイプ抗体、およびＴＳＬＰ、またはその断片もしくは改変体を含む。

【０１６０】

本発明の抗体はまた、完全なヒトモノクローナル抗体である。完全なヒトモノクローナル抗体は、先に記載した方法のような、任意の数の技術により生成され得る。そのような方法はさらに、それに限定されるものではないが、ヒト末梢血球（例えば、Ｂリンパ球を含む）のエプスタイン－バーウイルス（ＥＢＶ）形質転換、ヒトＢ細胞のインビトロ免疫化、挿入されたヒト免疫グロブリン遺伝子を保持する免疫化されたトランスジェニックマウスからの脾臓細胞の融合、ヒト免疫グロブリンＶ領域ファージライブラリーからの単離、または当該分野で公知および本明細書の開示に基づく他の手順を含む。例えば、完全なヒトモノクローナル抗体は、抗原性の攻撃に応答して特定のヒト抗体を産生する、操作されたトランスジェニックマウスから取得され得る。完全なヒト抗体をトランスジェニック

マウスから取得するための方法は、例えば、Ｇｒｅｅｎら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔ．７：１３，１９９４；Ｌｏｎｂｅｒｇら、Ｎａｔｕｒｅ ３６８：８５６，１９９４；Ｔａｙｌｏｒら、Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎ．６：５７９，１９９４；米国特許第５，８７７，３９７号；Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎら、１９９７ Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．８：４５５～５８；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓら、１９９５ Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．７６４：５２５～３５に記載される。この技術において、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子座のエレメントが、内因性の重鎖および軽鎖遺伝子座の標的化された破壊を有する胚幹細胞株から得られたマウスの系統中に導入される（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎら、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．８：４５５～５８（１９９７）をまた参照のこと）。例えば、ヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、マウスリンパ系組織におけるＢ細胞特異的ＤＮＡ再配列および過剰変異（ｈｙｐｅｒｍｕｔａｔｉｏｎ）を受ける、ミニ遺伝子構築物、または酵母人工染色体上のトランス遺伝子座（ｔｒａｎｓｌｏｃｉ）であり得る。完全なヒトモノクローナル抗体は、トランスジェニックマウスを免疫化することにより取得され得、それはそしてヒトＴＳＬＰに対して特異的なヒト抗体を産生し得る。免疫化されたトランスジェニックマウスのリンパ球は、本明細書中に記載された方法により、ヒト抗体分泌ハイブリドーマを生成するために用いられ得る。完全なヒト抗体を含むポリクローナル血清がまた、免疫化された動物の血液から取得され得る。

【０１６１】

本発明のヒト抗体を生成するための一つの例示的な方法は、例えば、米国特許第４，４６４，４５６号において記載されたように、ＥＢＶ形質転換によりヒト末梢血細胞を不死化することを含む。ヒトＴＳＬＰに特異的に結合するモノクローナル抗体を産生するそのような不死化されたＢ細胞株（またはリンパ芽球様細胞株）は、本明細書中で提供されるような免疫検出方法（例えば、ＥＬＩＳＡ）により同定され、そしてそのあと標準的なクローニング技術により単離され得る。抗ＴＳＬＰ抗体を産生するリンパ芽球様細胞株の安定性は、形質転換された細胞株を当該分野で公知の方法（例えば、Ｇｌａｓｋｙら、Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ ８：３７７～８９（１９８９）を参照のこと）にしたがって、マウス骨髄腫と融合させ、マウス－ヒトハイブリッド細胞株を生成することにより改善され得る。ヒトモノクローナル抗体を生成するさらに別の方法は、インビトロ免疫化であり、インビトロ免疫化は、ヒト脾臓Ｂ細胞をヒトＴＳＬＰで初回免疫し、その後初回免疫したＢ細胞をヘテロハイブリッド融合の相手と融合させることを含む。例えば、Ｂｏｅｒｎｅｒら、１９９１ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：８６～９５を参照のこと。

【０１６２】

特定の実施形態において、抗ヒトＴＳＬＰ抗体を産生しているＢ細胞が選択され、その軽鎖および重鎖可変領域は、当該分野で公知の（国際公開第９２／０２５５１号パンフレット；米国特許第５，６２７，０５２号；Ｂａｂｃｏｏｋら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９３：７８４３～４８（１９９６））、および本明細書中に記載される分子生物学技術によって、そのＢ細胞からクローニングされる。免疫化された動物由来のＢ細胞は、ＴＳＬＰに特異的に結合する抗体を産生する細胞を選択することにより、脾臓、リンパ節、または末梢血サンプルから単離され得る。Ｂ細胞はまた、ヒト（例えば、末梢血サンプル）から単離され得る。所望の特異性をともなう抗体を産生する単一のＢ細胞を検出するための方法（例えば、プラーク形成、蛍光活性化細胞選別、インビトロ刺激後の特異的抗体の検出等による）は、当該分野で周知である。特定の抗体を産生するＢ細胞の選択のための方法は、例えばヒトＴＳＬＰを含む軟寒天でのＢ細胞の単一懸濁物を調製することを含む。Ｂ細胞により産生される特定の抗体の抗原への結合は、免疫沈降物として見ることができ得る複合体の形成を引き起こす。所望の抗体を産生するＢ細胞が選択された後、特定の抗体遺伝子が、当該分野で公知および本明細書に記載の方法によりＤＮＡまたはｍＲＮＡを単離および増幅することによりクローニングされ得る。

【０１６３】

本発明の抗体を取得するためのさらなる方法は、ファージディスプレイによる。例えば

、Ｗｉｎｔｅｒら、１９９４ Ａｎｎｕ. Ｒｅｖ. Ｉｍｍｕｎｏｌ. １２：４３３～５５；Ｂｕｒｔｏｎら、１９９４ Ａｄｖ. Ｉｍｍｕｎｏｌ. ５７：１９１～２８０．を参照のこと。ヒトまたはマウス免疫グロブリン可変領域遺伝子のコンビナトリアルライブラリーを、ファージベクターで創出し得、このファージベクターは、ＴＳＬＰまたはその改変体もしくは断片に特異的に結合するＩｇ断片（Ｆａｂ、Ｆｖ、ｓＦｖ、またはそれらの多量体）を選択するためにスクリーニングされ得る。例えば、米国特許第５，２２３，４０９号；Ｈｕｓｅら、１９８９ Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４６：１２７５～８１；Ｓａｓｔｒｙら、Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. ＵＳＡ ８６：５７２８～３２（１９８９）；Ａｌｔｉｎｇ－Ｍｅｅｓら、Ｓｔｒａｔｅｇｉｅｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ３：１～９（１９９０）；Ｋａｎｇら、１９９１ Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. ＵＳＡ ８８：４３６３～６６；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍら、１９９２ Ｊ. Ｍｏｌｅｃ. Ｂｉｏｌ. ２２７：３８１～３８８；Ｓｃｈｌｅｂｕｓｃｈら、１９９７ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ １６：４７～５２およびそれらにおいて引用された参考文献を参照のこと。例えば、Ｉｇ可変領域断片をコードする多数のポリヌクレオチド配列を含むライブラリーは、ファージ外殻タンパク質をコードする配列とインフレームである、Ｍ１３またはその改変体のような糸状バクテリオファージのゲノム中に挿入され得る。融合タンパク質は、軽鎖可変領域ドメインおよび／または重鎖可変領域ドメインとの外殻タンパク質の融合物であり得る。特定の実施形態にしたがって、免疫グロブリンＦａｂ断片はまた、ファージ粒子上に提示され得る（例えば、米国特許第５，６９８，４２６号を参照のこと）。

【０１６４】

重鎖または軽鎖免疫グロブリンｃＤＮＡ発現ライブラリーは、例えば、λｌｍｍｕｎｏＺａｐ^{TM}（Ｈ）およびλＩｍｍｕｎｏＺａｐ^{TM}（Ｌ）ベクター（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ，Ｌａ Ｊｏｌｌａ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）を用いて、λファージ中に調製され得る。手短に言えば、ｍＲＮＡがＢ細胞集団から単離され、そしてλｌｍｍｕｎｏＺａｐ（Ｈ）およびλＩｍｍｕｎｏＺａｐ（Ｌ）ベクターにおいて重鎖および軽鎖免疫グロブリンｃＤＮＡ発現ライブラリーを生成するために用いられる。これらのベクターは、個々にスクリーニングされるか、Ｆａｂ断片もしくは抗体を形成するために共発現されてもよい（Ｈｕｓｅら、上述参照のこと；Ｓａｓｔｒｙら、上述もまた参照のこと）。陽性プラークは、その後、非溶菌性プラスミドに変換され、Ｅ．ｃｏｌｉからのモノクローナル抗体断片の高いレベルの発現を可能にする。

【０１６５】

一つの実施形態では、ハイブリドーマにおいて目的のモノクローナル抗体を発現させる遺伝子の可変領域が、ヌクレオチドプライマーを用いて増幅される。これらのプライマーは、当業者により合成され得るか、または市販の入手可能な供給源から購入され得る（例えば、他にくわえて、V_{Ha}、V_{Hb}、V_{Hc}、V_{Hd}、C_{H1}、V_LおよびC_L領域に対するプライマーを含む、マウスおよびヒトの可変領域に対するプライマーを販売するＳｔｒａｔａｇｅｎｅ（Ｌａ Ｊｏｌｌａ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）を参照のこと）。これらのプライマーは、重鎖または軽鎖可変領域を増幅するために用いられ得、次にそれらはそれぞれＩｍｍｕｎｏＺＡＰ^{TM}ＨまたはＩｍｍｕｎｏＺＡＰ^{TM}Ｌ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）のようなベクター中に挿入され得る。これらのベクターは、次に、Ｅ．ｃｏｌｉ、酵母、または哺乳動物に基づく系に発現のために導入され得る。V_HおよびV_Lドメインの融合物を含む、大量の単鎖タンパク質が、これらの方法を用いて生成され得る（Ｂｉｒｄら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３～４２６，１９８８を参照のこと）。

【０１６６】

上に記載した免疫化および他の技術のいずれかを用いて、本発明による抗体を産生する細胞が、ひとたび取得されると、本明細書中に記載されるような標準的な方法にしたがい、ＤＮＡまたはｍＲＮＡを細胞から単離し増幅することにより、特定の抗体遺伝子がクローニングされ得る。細胞から生成された抗体は配列決定され、そして同定されたＣＤＲおよびそのＣＤＲのためのＤＮＡコードは、先に記載されたように操作され本発明による他

の抗体を生成し得る。

【０１６７】

本発明の抗原結合タンパク質は好ましくは、本明細書中に記載される細胞に基づくアッセイおよび／または本明細書中に記載されるインビボアッセイの一つにおいてＴＳＬＰ活性を調節し、および／または本明細書に記載される抗体の一つの結合を交差ブロック（ｃｒｏｓｓ－ｂｌｏｃｋ）し、および／または本明細書に記載される抗体の一つにより、ＴＳＬＰへの結合を交差ブロックされる。特に有用であるのは、本願中に記載される例示的な抗体の一つと交差競合する（すなわち、本明細書に記載される例示的な抗体の一つの結合を交差ブロックし、そして例示的な抗体の一つによりＴＳＬＰへの結合を交差ブロックされる）抗原結合タンパク質である。したがって、そのような結合剤は、本明細書中に記載されるアッセイを用いて同定され得る。

【０１６８】

特定の実施形態において、抗体は、第一に、ＴＳＬＰに結合し、および／または本明細書中に記載される細胞に基づくアッセイにおいて中和し、および／または本願において記載される抗体を交差ブロックし、および／または本願において記載される抗体の一つによりＴＳＬＰへの結合を交差ブロックされる抗体を同定することにより生成される。これらの抗体由来のＣＤＲ領域は、その後、抗原結合タンパク質を生成するために適切な生体適合性のフレームワーク中に挿入される。結合剤の非ＣＤＲ部分は、アミノ酸から構成されてもよいし、または非タンパク質分子であってもよい。本明細書中に記載されるアッセイは、結合剤の特徴付けを可能にする。好ましくは、本発明の結合剤は、本明細書中に規定されるような抗体である。

【０１６９】

本発明の抗原結合タンパク質は、本明細書中に記載される例示的な抗体のように同じエピトープに結合するタンパク質を含む。実施例９において考察されるように、エピトープは、構造的であっても、あるいは機能的であってもよい。構造的なエピトープは、抗体によって網羅される標的のパッチとして考えられる。機能的なエピトープは、構造的なエピトープの一部であり、相互作用（例えば、水素結合、イオン性相互作用）の親和性に直接寄与する残基を含む。抗体のエピトープを決定する一つの方法は、標的分子中の変異をスキャンし、そして結合におけるその変異の影響を測定することによる。抗体結合領域の三次元構造を与えることで、エピトープにおける変異は、変異した標的に対する抗体の結合親和性を減少または増加させることができる。

【０１７０】

抗原結合タンパク質は、それらのエピトープにより規定され得る。表６において見られるように、その抗体は全てＴＳＬＰに結合し得るが、それらはＴＳＬＰ中の特定の残基の変異によって異なって影響され、それぞれのエピトープが完全には重複しないことを示す。好ましい抗原結合タンパク質は、本明細書中に記載される参照抗体の構造的エピトープの少なくとも一部を共有するタンパク質を含む。

【０１７１】

例えば、好ましい抗原結合タンパク質は、Ａ２と同じ構造的エピトープの少なくとも一部を共有するタンパク質である。これは、ＴＳＬＰが、Ｋ６７Ｅ、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１Ｅ、またはＫ１０３Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の増加により証明される。これはまた、ＴＳＬＰが、Ｋ２１Ｅ、Ｔ２５Ｒ、Ｓ２８Ｒ、Ｓ６４Ｒ、Ｋ７３Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の減少により証明され得る。その抗原結合タンパク質およびＡ２は、いくつかの変異により同じように影響され、他の変異によっては影響され得ないが、ＴＳＬＰの特定の残基における変異の影響においてその抗原結合タンパク質とＡ２の間により一層の同一性があればあるほど、より一層、その抗原結合タンパク質と参照抗体は、構造的エピトープを共有する。

【０１７２】

別の好ましい抗原結合タンパク質は、Ａ４と同じ構造的エピトープの少なくとも一部を

共有するタンパク質である。これは、ＴＳＬＰが、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１Ｅ、またはＫ１０３Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の増加により証明される。これはまた、ＴＳＬＰが、Ｋ１０Ｅ、Ａ１４Ｒ、Ｋ２１Ｅ、Ｄ２２Ｒ、Ｋ７３Ｅ、Ｋ７５Ｅ、またはＡ７６Ｒの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の減少により証明され得る。

【０１７３】

別の好ましい抗原結合タンパク質は、Ａ５と同じ構造的エピトープの少なくとも一部を共有するタンパク質である。これは、ＴＳＬＰが、Ｋ１２Ｅ、Ｄ２２Ｒ、Ｓ４０Ｒ、Ｒ１２２Ｅ、Ｎ１２４Ｅ、Ｒ１２５Ｅ、またはＫ１２９Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の減少により証明され得る。

【０１７４】

別の好ましい抗原結合タンパク質は、Ａ６と同じ構造的エピトープの少なくとも一部を共有するタンパク質である。これは、ＴＳＬＰが、Ｓ４０Ｒ、Ｓ４２Ｒ、Ｈ４６Ｒ、Ｒ１２２Ｅ、またはＫ１２９Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の減少により証明され得る。

【０１７５】

別の好ましい抗原結合タンパク質は、Ａ７と同じ構造的エピトープの少なくとも一部を共有するタンパク質である。これは、ＴＳＬＰが、Ｋ１０１Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の増加により証明される。これはまた、ＴＳＬＰがＤ２Ｒ、Ｔ４Ｒ、Ｄ７Ｒ、Ｓ４２Ｒ、Ｈ４６Ｒ、Ｔ４９Ｒ、Ｅ５０Ｒ、Ｑ１１２Ｒ、Ｒ１２２Ｅ、Ｒ１２５Ｅ、またはＫ１２９Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の減少により証明され得る。

【０１７６】

別の好ましい抗原結合タンパク質は、Ａ１０と同じ構造的エピトープの少なくとも一部を共有するタンパク質である。これは、ＴＳＬＰがＫ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１Ｅ、またはＫ１０３Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の増加により証明される。これはまた、ＴＳＬＰがＮ５Ｒ、Ｓ１７Ｒ、Ｔ１８Ｒ、Ｋ２１Ｅ、Ｄ２２Ｒ、Ｔ２５Ｒ、Ｔ３３Ｒ、Ｈ４６Ｒ、Ａ６３Ｒ、Ｓ６４Ｒ、Ａ６６Ｒ、Ｅ６８Ｒ、Ｋ７３Ｅ、Ｋ７５Ｅ、Ａ７６Ｒ、Ａ９２Ｒ、Ｔ９３Ｒ、Ｑ９４Ｒ、またはＡ９５Ｒの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の減少により証明され得る。

【０１７７】

別の好ましい抗原結合タンパク質は、Ａ２１と同じ構造的エピトープの少なくとも一部を共有するタンパク質である。これは、ＴＳＬＰがＫ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１Ｅ、またはＫ１０３Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の増加により証明される。これはまた、ＴＳＬＰがＫ２１Ｅ、Ｋ２１Ｒ、Ｄ２２Ｒ、Ｔ２５Ｒ、Ｔ３３Ｒ、Ｓ６４Ｒ、Ｋ７３Ｅ、Ｋ７５Ｅ、Ｅ１１１Ｒ、またはＳ１１４Ｒの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の減少により証明され得る。

【０１７８】

別の好ましい抗原結合タンパク質は、Ａ２３と同じ構造的エピトープの少なくとも一部を共有するタンパク質である。これは、ＴＳＬＰがＫ６７Ｅ、Ｋ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１Ｅ、またはＫ１０３Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の増加により証明される。これはまた、ＴＳＬＰがＥ９Ｒ、Ｋ１０Ｅ、Ｋ１２Ｅ、Ａ１３Ｒ、Ｓ１７Ｒ、Ｓ２０Ｒ、Ｋ２１Ｅ、Ｋ２１Ｒ、Ｋ７３Ｅ、Ｋ７５Ｅ、Ｎ１２４Ｅ、またはＲ１２５Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の減少により証明され得る。

【０１７９】

別の好ましい抗原結合タンパク質は、Ａ２６と同じ構造的エピトープの少なくとも一部を共有するタンパク質である。これは、ＴＳＬＰがＫ９７Ｅ、Ｋ９８Ｅ、Ｒ１００Ｅ、Ｋ１０１Ｅ、またはＫ１０３Ｅの変異を有する場合、野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の増加により証明される。これはまた、ＴＳＬＰがＡ１４Ｒ、Ｋ２１Ｅ、Ｄ２２Ｒ、Ａ

６３Ｒ、Ｓ６４Ｒ、Ｋ６７Ｅ、Ｋ７３Ｅ、Ａ７６Ｒ、Ａ９２Ｒ、またはＡ９５Ｒの変異を有する場合、　野生型ＴＳＬＰと比べての結合親和性の減少により証明され得る。

【０１８０】

抗体間で結合に影響する変異を比較することは、ＴＳＬＰの特定の残基が、ＴＳＬＰを結合し、そしてＴＳＬＰ活性を妨げる抗体の能力の部分となる傾向があることを示唆する。そのような残基は、Ｋ２１、Ｄ２２、Ｋ７３、およびＫ１２９を含む。従って、好ましい抗原結合タンパク質は、Ｋ２１Ｅの変異を含むＴＳＬＰに対する親和性よりも野生型ＴＳＬＰに対してより高い親和性を有するタンパク質、Ｄ２１Ｒの変異を含むＴＳＬＰに対する親和性よりも野生型ＴＳＬＰに対してより高い親和性を有するタンパク質、Ｋ７３Ｅの変異を含むＴＳＬＰに対する親和性よりも野生型ＴＳＬＰに対してより高い親和性を有するタンパク質、およびＫ１２９Ｅの変異を含むＴＳＬＰに対する親和性よりも野生型ＴＳＬＰに対してより高い親和性を有するタンパク質を含む。

【０１８１】

さらに、本明細書中に記載される多くの例示的な抗原結合タンパク質は、９７－１０３の位置のアミノ酸の塩基性のパッチが酸性アミノ酸に変えられた場合、ＴＳＬＰに対する親和性が増大するという性質を共有する。

【０１８２】

核酸

一つの局面において、本発明は、単離された核酸分子を提供する。その核酸は、例えば、抗原結合タンパク質の全てまたは部分（例えば、本発明の抗体の一つもしくは両方の鎖、またはその断片、誘導体、ムテイン、または改変体）をコードするポリヌクレオチド、ハイブリダイゼーションプローブとしての使用のために十分なポリヌクレオチド、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを同定するか、アッセイするか、変異させるか、または増幅するためのＰＣＲプライマーもしくは配列決定プライマー、ポリヌクレオチドの発現を阻害するためのアンチセンス核酸、および前記のものの相補配列を含む。その核酸は、どのような長さであってもよい。それらは、例えば、５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、７５、１００、１２５、１５０、１７５、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００、７５０、１，０００、１，５００、３，０００、５，０００またはそれより多い長さのヌクレオチドであり得、および／または一つ以上の追加の配列（例えば、調節配列）を含み得、および／またはより大きな核酸（例えば、ベクター）の部分であり得る。その核酸は、単一鎖または二本鎖であり得、そしてＲＮＡおよび／またはＤＮＡヌクレオチド、ならびにその改変体（例えば、ペプチド核酸）を含み得る。

【０１８３】

抗体ポリペプチド（例えば、重鎖または軽鎖、可変ドメインのみ、または全長）をコードする核酸は、ＴＳＬＰ抗原で免疫化されたマウスのＢ細胞から単離され得る。その核酸は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）のような従来の方法により単離され得る。

【０１８４】

重鎖および軽鎖可変領域の可変領域をコードする核酸配列は上に示される。遺伝コードの縮重により、本明細書中に開示される各ポリペプチド配列が、多くの数の他の核酸配列によりコードされていることを、当業者は正しく認識するだろう。本発明は、本発明の各抗原結合タンパク質をコードする各縮重ヌクレオチド配列を提供する。

【０１８５】

本発明はさらに、特定のハイブリダイゼーション条件下で他の核酸（例えば、Ａ１～Ａ２７のいずれかヌクレオチド配列を含む核酸）にハイブリダイズする核酸を提供する。核酸をハイブリダイズするための方法は当該分野で周知である。例えば、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，　Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ，　Ｎ．Ｙ．（１９８９）６．３．１－６．３．６を参照のこと。本明細書中に規定されるように、適度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、５×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＣＣ）、０．５％　ＳＤＳ、１．０ｍＭ

ＥＤＴＡ（ｐＨ８．０）を含む予洗溶液、約５０％　ホルムアミドのハイブリダイゼーション緩衝液、６×ＳＳＣ、および５５℃のハイブリダイゼーション温度（または他の類似のハイブリダイゼーション溶液、例えば、約５０％のホルムアミドを含むハイブリダイゼーション溶液を４２℃のハイブリダイゼーション温度で）、および０．５×ＳＳＣ、０．１％　ＳＤＳにおいて６０℃の洗浄条件を用いる。一つのストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、６×ＳＣＣ中、４５℃でハイブリダイズさせ、その後、０．１×ＳＳＣ、０．２％　ＳＤＳにおいて６８℃で一回以上洗浄する。さらに、当業者は、ハイブリダイゼーションおよび／または洗浄条件を、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーを増加または減少させるために操作することができ、その結果、お互いに少なくとも６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５、９８または９９％同一なヌクレオチド配列を含む核酸が、一般的にお互いにハイブリダイズされて残る。ハイブリダイゼーション条件の選択に影響する基本的なパラメータおよび適切な条件を考案するためのガイダンスは、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ、ＦｒｉｔｓｃｈおよびＭａｎｉａｔｉｓ（１９８９，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．，ｃｈａｐｔｅｒｓ ９ ａｎｄ １１；およびＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，１９９５，Ａｕｓｕｂｅｌら、ｅｄｓ．，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，ｓｅｃｔｉｏｎｓ ２．１０ ａｎｄ ６．３－６．４）により定められ、そして当業者により、例えばＤＮＡの長さおよび／または塩基組成に基づいて容易に決定され得る。

【０１８６】

変異により変化が核酸中に導入され得、その結果それがコードするポリペプチド（例えば、抗原結合タンパク質）のアミノ酸配列における変化を生じる。変異は、当該分野で公知の任意の技術を用いて導入され得る。一つの実施形態において、一つ以上の特定のアミノ酸残基が、例えば、部位特異的変異誘発プロトコールを用いて変化させられる。別の実施形態において、一つ以上の無作為に選択された残基が、例えば、無作為変異誘発プロトコールを用いて変化させられる。どのような方法で作られても、変異ポリペプチドは、発現されそして所望の特性についてスクリーニングされ得る。

【０１８７】

変異は、核酸がコードするポリペプチドの生物学的活性を顕著に変化させることなく、核酸中に導入され得る。例えば、非必須アミノ酸残基でのアミノ酸置換を生じるヌクレオチドの置換を作製することができる。一つの実施形態において、二つまたはそれ以上の配列が異なる残基となるように、本明細書中でＡ１～Ａ２７に対して示されたアミノ酸残基の一つまたはそれ以上の欠失または置換を含むアミノ酸配列をコードするよう、Ａ１～Ａ２７に対して本明細書中で与えられたヌクレオチド配列、またはその所望の断片、改変体、もしくは誘導体が変異させられる。別の実施形態において、二つまたはそれ以上の配列が異なる残基となるように、変異誘発は、本明細書中でＡ１～Ａ２７に対して示された一つ以上のアミノ酸残基に隣接して一つのアミノ酸残基を挿入する。あるいは、核酸がコードするポリペプチドの生物学的活性（例えば、ＴＳＬＰへの結合）を選択的に変化させる一つ以上の変異が、核酸中に導入され得る。例えば、その変異は、生物学的活性を定量的または定性的に変化させ得る。定量的な変化の例は、その活性の増加、減少または除去を含む。定性的な変化の例は、抗原結合タンパク質の抗原特異性を変化させることを含む。

【０１８８】

別の局面において、本発明は、本発明の核酸配列の検出のためのプライマーまたはハイブリダイゼーションプローブとして用いるのに適切な核酸分子を提供する。本発明の核酸分子は、本発明の全長ポリペプチドをコードする核酸配列の一部分のみ、例えば、プローブもしくはプライマーとして用いられ得る断片、または本発明のポリペプチドの活性部分（例えば、ＴＳＬＰ結合部分）をコードする断片を含み得る。

【０１８９】

本発明の核酸の配列に基づくプローブは、その核酸または類似の核酸（例えば、本発明のポリペプチドをコードする転写物）を検出するために用いられ得る。そのプローブは、標識基（例えば、放射性同位体）、蛍光化合物、酵素、または酵素補因子）を含み得る。そのようなプローブは、そのポリペプチドを発現する細胞を同定するために用いられ得る。

【０１９０】

別の局面において、本発明は、本発明のポリペプチドまたはその一部分をコードする核酸を含むベクターを提供する。ベクターの例は、プラスミド、ウイルスベクター、非エピソーム哺乳動物ベクターおよび発現ベクター（例えば、組換え発現ベクター）を含むが、それらに限定されない。

【０１９１】

本発明の組換え発現ベクターは、本発明の核酸を、宿主細胞におけるその核酸の発現に適した形態で含み得る。その組換え発現ベクターは、発現のために用いられる宿主細胞に基づいて選択される一つ以上の制御配列を含み、その制御配列は発現される核酸配列に作動可能に連結される。制御配列は、多くのタイプの宿主細胞におけるヌクレオチド配列の構成的発現を導く制御配列（例えば、ＳＶ４０初期遺伝子エンハンサー、ラウス肉腫ウイルスプロモーターおよびサイトメガロウイルスプロモーター）、特定の宿主細胞においてのみそのヌクレオチド配列の発現を導く制御配列（例えば、組織特異的制御配列（その全体が本明細書中に参考として援用されるＶｏｓｓら、１９８６，Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｃｉ．１１：２８７，Ｍａｎｉａｔｉｓら、１９８７，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３６：１２３７を参照のこと））、および特定の処理または条件に応答するヌクレオチド配列の誘導発現を導く制御配列（例えば、哺乳動物細胞におけるメタロチオネインプロモーターならびに原核生物および真核生物系の両方におけるｔｅｔ応答および／またはストレプトマイシン応答プロモーター（同書参照））を含む。当業者は、発現ベクターの設計が、形質転換される宿主細胞の選択、所望のタンパク質の発現のレベル等のようなそのような因子に依存し得ることを理解する。本発明の発現ベクターが、宿主細胞中に導入され、それにより本明細書中に記載されるような核酸によりコードされる融合タンパク質またはペプチドを含む、タンパク質またはペプチドを産生することができる。

【０１９２】

別の局面において、本発明は、本発明の組換え発現ベクターが導入された、宿主細胞を提供する。宿主細胞は、任意の真核生物細胞（例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ）または真核生物細胞（例えば、酵母、昆虫、または哺乳動物細胞（例えば、ＣＨＯ細胞））であり得る。ベクターＤＮＡ、一般的な形質転換またはトランスフェクション技術を介して原核生物または真核生物細胞中に導入され得る。哺乳動物細胞の安定なトランスフェクションに関して、用いる発現ベクターおよびトランスフェクション技術に依存して、少数の細胞のみが、外来ＤＮＡをそのゲノム中に組み込むことができることが公知である。これらの組み込み物（ｉｎｔｅｇｒａｎｔ）を同定および選択するため、選択マーカー（例えば、抗生物質に対する抵抗性についての）をコードする遺伝子が目的の遺伝子とともに宿主細胞中に一般的に導入される。好ましい選択マーカーは、薬剤（例えば、Ｇ４１８、ハイグロマイシンおよびメトトレキサート）に対する抵抗性を与える遺伝子を含む。導入された核酸で安定にトランスフェクトされた細胞は、他の方法に加えて、薬剤選択により同定され得る（例えば、選択マーカー遺伝子を取り込んだ細胞は生存するが、一方、他の細胞は死ぬ）。

【０１９３】

適応症

ＴＳＬＰは、多様な炎症性障害、特にアレルギー性炎症性障害の促進に関与する。本明細書中で用いられる場合、用語「アレルギー性炎症」は、免疫グロブリンＥ（ＩｇＥ）関連免疫性応答の発現に関連する（Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ａｌｌｅｒｇｙ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｃｈａｐｔｅｒ ２，Ａｌｖｉｎ Ｍ．Ｓａｎｉｃｏ，Ｂｒｕｃｅ Ｓ．Ｂｏｃｈｎｅｒ，ａｎｄ Ｓａｒｂｊｉｔ Ｓ．Ｓａｉｎｉ，Ａｄｅｌｍａｎら、ｅｄ．，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ，Ｗｉｌｌｉａｍｓ，Ｗｉｌｋｉｎｓ

, Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ, ＰＡ, （２００２））。本明細書中で用いられる場合、アレルギー性炎症は、影響を受けた組織中への２型ヘルパーＴ細胞（$Ｔ_{Ｈ}$２細胞）の侵入により一般的に特徴付けられる（Ｋａｙ, 上述）。アレルギー性炎症は、アトピー性皮膚炎のような炎症性の皮膚状態に加えて、アレルギー性の副鼻腔炎、喘息のような肺の炎症性疾患、アレルギー性結膜炎を含む（Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ａｌｌｅｒｇｙ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、上述）。本明細書中で用いられる場合、用語「ＴＳＬＰ関連アレルギー性炎症」は、ＴＳＬＰがアップレギュレートされているか、または他に関与することが実証されているアレルギー性の炎症状態に関する。

【０１９４】

アレルギー性喘息は、気道の好酸球増加症、高レベルの血清ＩｇＥならびに気道の応答性亢進、上皮損傷および粘液分泌過多に関与するマスト細胞活性化により特徴付けられる気道の慢性の炎症性の疾患である（Ｗｉｌｌｓ－Ｋａｒｐ, Ｍ, Ａｎｎ. Ｒｅｖ. Ｉｍｍｕｎｏｌ. １７：２５５～２８１（１９９９）, Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ａｌｌｅｒｇｙ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、上述）。多様な程度の慢性の炎症が、全ての喘息の気道に、症状のない期間の間にさえ存在することを研究が示した。感受性の個体において、この炎症は、喘鳴、息切れ、胸苦しさ、および咳の再発性症状を引き起こす（Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ａｌｌｅｒｇｙ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、上述）。

【０１９５】

アトピー性皮膚炎は、皮膚の障害により特徴付けられる慢性そう痒性皮膚疾患であり、血清総ＩｇＥの上昇、好酸球増加症、および好塩基球およびマスト細胞からのヒスタミンの放出の増加を特徴とする。アトピー性皮膚炎に罹患している個人は、際立った$Ｔ_{Ｈ}$２応答を示し、そしてアトピー性皮膚炎障害の開始は、高レベルのＩＬ－４、ＩＬ－５およびＩＬ－１３を放出する$Ｔ_{Ｈ}$２リンパ球の初期の皮膚浸潤により媒介されると考えられる（Ｌｅｕｎｇ, Ｊ. Ａｌｌｅｒｇｙ Ｃｌｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ １０５：８６０～７６（２０００））。ＴＳＬＰと他の炎症性サイトカインの間の関係は、米国特許出願第１１／２０５, ９０４号、公開第２００６／００３９９１０号に記載され、それは本明細書中に参考として援用される。

【０１９６】

インサイチュハイブリダイゼーションにより検出されたようにヒトＴＳＬＰ発現は、疾患の重症度と相関して喘息性の気道において増加することが報告された（Ｙｉｎｇら、Ｊ. Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １７４：８１８３～８１９０（２００５））。喘息患者の肺サンプルにおけるＴＳＬＰ ｍＲＮＡレベルのアッセイは、コントロールと比較して増加したＴＳＬＰの発現を示した。加えて、ＴＳＬＰタンパク質レベルは、喘息患者、肺移植患者、および嚢胞性線維症患者の濃縮された気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）流体において検出可能である。ＴＳＬＰは、炎症と同様に、微生物および外傷に対する応答において放出され、そしてマスト細胞を活性化することが、最近見いだされた（Ａｌｌａｋｈｖｅｒｄｉら、Ｊ Ｅｘｐ. Ｍｅｄ ２０４９２： ２５３～２５８（２００７））。

【０１９７】

ヒトＴＳＬＰタンパク質は、中程度の／重症の喘息およびＣＯＰＤの患者の気管支粘液およびＢＡＬ流体において、疾患と関連することが示された（Ｙｉｎｇら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １８１（４）：２７９０～８（２００８））。

【０１９８】

トランスジェニックマウスの肺におけるＴＳＬＰの過剰発現は、喘息様の気道炎症を生じる（Ｚｈｏｕら、Ｎａｔ. Ｉｍｍｕｎｏｌ １０：１０４７～１０５３（２００５））。加えて、ＴＳＬＰＲ欠損マウスが、ＯＶＡ－喘息モデルにおいて喘息が進行しないことが報告され、気道炎症モデルにおける喘息の進行にＴＳＬＰが必要とされることを示した（Ｚｈｏｕら、上述、Ｃａｒｐｉｎｏら、Ｍｏｌ. Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ. ２４：２５８４～２５９２（２００４））。

【０１９９】

喘息に加えて、アトピー性皮膚炎（ＡＤ）患者の障害性の皮膚および炎症を起こした扁

桃腺の上皮細胞においてＴＳＬＰタンパク質およびｍＲＮＡの上昇したレベルが見いだされる（Ｓｏｕｍｅｌｉｓら、Ｎａｔｕｒｅ Ｉｍｍｕｎｏｌ：３（７）：６７３～６８０（２００２））。トランスジェニックマウスの皮膚におけるＴＳＬＰの過剰発現は、ＡＤ様表現型を生じる（Ｙｏｏら、Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ ２０２：５４１～５４９（２００５））。

【０２００】

したがって、ＴＳＬＰアンタゴニスト、特に本出願のＴＳＬＰ抗原結合タンパク質および抗体は、アレルギー性炎症、特に喘息およびアトピー性皮膚炎のための治療処置として有用である。

【０２０１】

加えて、ＴＳＬＰアンタゴニスト、特に本開示のＴＳＬＰ抗原結合タンパク質および抗体はまた、線維症障害を処置するために有用である。ＴＳＬＰは、出願番号第１１／３４４，３７９に記載されたように、線維症障害の促進に関係することが示された。ＴＳＬＰが、動物における線維芽細胞の蓄積およびコラーゲンの沈着を誘導することが見いだされた。例えば、マウスＴＳＬＰのマウスへの皮内注入は、線維芽細胞の増殖とコラーゲンの沈着により特徴づけられる、マウスの皮下組織内での線維症を生じた。ＴＳＬＰ活性に拮抗することは、組織における線維芽細胞の増殖とコラーゲンの沈着を防止または減少させた。

【０２０２】

本明細書中で用いられる場合、用語「線維増殖疾患」または「線維症疾患または障害」は、一つ以上の組織において線維症に関係する状態に関する。本明細書中で用いられる場合、用語「線維症」は、器官または組織の正常な構成要素としてよりもむしろ、修復性または反応性のプロセスとしての線維組織の形成に関する。線維症は、任意の特定の組織における、線維芽細胞の蓄積および正常な沈着以上のコラーゲン沈着により特徴付けられる。本明細書中で用いられる場合、用語「線維症」は、「線維芽細胞蓄積およびコラーゲン沈着」と同じ意味で用いられる。線維芽細胞は結合組織細胞であり、体中の結合組織に分散する。線維芽細胞はＩ型および／またはＩＩＩ型コラーゲンを含む堅くない細胞外マトリックスを分泌する。組織への傷害に応答して、近くの線維芽細胞が傷に移動し、増殖し、そして大量の膠原性マトリックスを産生する。コラーゲンは、グリシンとプロリンに富んだ線維状のタンパク質であり、細胞外マトリックスおよび結合組織、軟骨、ならびに骨の主要な成分である。コラーゲン分子は、α－鎖と呼ばれる三本鎖らせん構造であり、ロープ様らせんでお互いに巻きつけられる。コラーゲンは、いくつかの形態または型で存在し、これらのうち最も一般的なＩ型は、皮膚、腱、および骨に見出され；そしてＩＩＩ型は皮膚、血管、および内部器官に見出される。

【０２０３】

線維症障害は、全身性強皮症および局所性強皮症、ケロイドおよび過形成性瘢痕、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、肺の炎症および線維症、特発性の肺の線維症、肝硬変、慢性のＢ型肝炎またはＣ型肝炎感染の結果としての線維症、腎臓病、瘢痕組織に起因する心臓病、ならびに黄斑変性症、網膜のおよび硝子体の（ｖｉｔｒｅａｌ）網膜症のような眼疾患を含むが、それらに限定されるものではない。さらなる線維症疾患は、化学療法剤に起因する線維症、放射線誘発線維症、ならびに傷害および火傷を含む。

【０２０４】

強皮症は、皮膚および他の器官での線維芽細胞による新規コラーゲンの過剰産生に起因する皮膚の肥厚および硬化によって特徴付けられる線維症障害である。全身性強皮症は、多数の器官に影響し得る。全身性硬化症は、特に手および顔面の、皮膚の肥厚および下にある組織への接着をともなうヒアリン化および肥厚した膠原性線維組織により特徴付けられる。該疾患はまた、蠕動の消失および食道の粘膜下線維症による嚥下障害、肺の線維症による呼吸困難、心筋の線維症、および腎臓の血管変成により特徴付けられ得る（Ｓｔｅｄｍａｎ’ｓ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ，２６th Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ，１９９５）。肺の線維症は、強皮症患者の

３０～７０％に影響し、しばしば拘束性の肺疾患に帰結する（Ａｔａｍａｓら、Ｃｙｔｏｋｉｎｅ ａｎｄ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｖ １４： ５３７～５５０ （２００３））。特発性 の肺線維症は、慢性、進行性および通常致死性の肺障害であり、慢性の炎症性プロセスの結果と考えられる（Ｋｅｌｌｙら、Ｃｕｒｒ Ｐｈａｒｍａ Ｄｅｓｉｇｎ ９： ３９～４９ （２００３））。

【０２０５】

したがって、ＴＳＬＰアンタゴニスト、特に本願のＴＳＬＰ抗原結合タンパク質および抗体は、強皮症、間質性肺疾患、特発性肺線維症、慢性Ｂ型肝炎または慢性Ｃ型肝炎に由来する線維症、放射線誘発線維症、および創傷治癒に由来する線維症を含むがそれらに限定されるものではない線維症疾患の治療処置として有用である。

【０２０６】

上記適応症が好ましいが、他の疾患、障害、または状態が、被験体への抗原結合物の投与により処置を受ける可能性があるか、または予防され得る。そのような疾患、障害、および状態は、炎症、自己免疫疾患、軟骨の炎症、線維症疾患および／または骨分解、関節炎、リューマチ性関節炎、少年関節炎、若年性関節リウマチ、少関節性（ｐａｕｃｉａｒｔｉｃｕｌａｒ）若年性関節リウマチ、多関節性若年性関節リウマチ、全身性発症（ｓｙｓｔｅｍｉｃ ｏｎｓｅｔ）若年性関節リウマチ、若年性強直性脊椎炎、若年性の腸疾患に基づく関節炎、若年性反応性関節炎、若年性Ｒｅｔｅｒ症候群、ＳＥＡ症候群（血清反応陰性、腱付着部症、関節症症候群）、若年性皮膚筋炎、若年性乾癬性関節炎、若年性強皮症、 若年性全身紅斑性狼瘡、若年性血管炎、少関節性関節リウマチ、多関節性関節リウマチ、全身性発症（ｓｙｓｔｅｍｉｃ ｏｎｓｅｔ）関節リウマチ、強直性脊椎炎、腸疾患に基づく関節炎、反応性関節炎、Ｒｅｔｅｒ症候群、ＳＥＡ症候群（血清反応陰性、腱付着部症、関節症症候群）、皮膚筋炎、乾癬性関節炎、強皮症、 全身紅斑性狼瘡、血管炎、筋炎（ｍｙｏｌｉｔｉｓ）、多発性筋炎（ ｐｏｌｙｍｙｏｌｉｔｉｓ）、皮膚筋炎（ｄｅｒｍａｔｏｍｙｏｌｉｔｉｓ）、骨関節炎、多発性動脈炎、ヴェーゲナー肉芽腫症、動脈炎、リウマチ性多筋痛、サルコイドーシス、強皮症、硬化症、原発性胆汁症 、硬化性胆管炎、シェーグレン症候群、乾癬、尋常性乾癬、滴状乾癬、反転（ｉｎｖｅｒｓｅ）乾癬、膿疱性乾癬、紅皮症性乾癬、皮膚炎、アトピー性皮膚炎、アテローム硬化症、狼瘡、スティル病、全身紅斑性狼瘡（ＳＬＥ）、重症筋無力症、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、潰瘍性大腸炎、セリアック病、多発性硬化症（ＭＳ）、喘息、ＣＯＰＤ、ギランバレー病、Ｉ型糖尿病、グレーブス病、アジソン病、レイノー現象、自己免疫肝炎、ＧＶＨＤ等を含むが、それらに限定されるものではない。特定の実施形態において、治療有効量のＴＳＬＰ抗原結合タンパク質を含む薬学的組成物が提供される。

【０２０７】

用語「処置」は、少なくとも一つの症状もしくは障害の他の局面の緩和または予防、または疾患の重症度の減少等を含む。抗原結合タンパク質は、見込みのある治療剤を構成するために、完全な治療をもたらすこと、または疾患のあらゆる症候もしくは症状を根絶することを必要としない。関連する分野において認識されるように、治療剤として用いられる薬剤は、所定の疾患状態の重症度を減少させ得るが、有用な治療剤とみなされるために、疾患のあらゆる症状を消滅させる必要はない。同様に、予防的に投与される処置は、見込みのある薬剤を構成するために、状態の開始を防止するうえで完全に有効である必要はない。単純に疾患の影響を減少させること（例えば、その症状の数または重症度を減少させることにより、または別の処置の有効性を増大させることにより、または別の有益な効果を生成することにより）、または被験体において疾患が生じるか、もしくは悪化する可能性を減少させることが、十分である。本発明の一実施形態は、患者に抗原結合タンパク質を、特定の障害の重症度を反映する指標のベースラインを超える持続性の改善を誘導するために十分な量および時間、投与することを含む方法に関する。

【０２０８】

薬学的組成物

いくつかの実施形態において、本発明は、治療有効量の一つまたは複数の本発明の抗原

結合タンパク質を、薬学的に受容可能な希釈剤、担体、可溶化剤、乳化剤、保存料、および／または補助薬とともに含む、薬学的組成物を提供する。加えて、本発明は、そのような薬学的組成物を投与することにより、患者を処置する方法を提供する。用語「患者」は、ヒトおよび動物の被験体を含む。

【０２０９】

一つ以上の抗原結合タンパク質を含む薬学的組成物が、ＴＳＬＰ活性を低減するために使用され得る。一つ以上の抗原結合タンパク質を含む薬学的組成物が、ＴＳＬＰ活性と関連する結果、症状、および／または病理の処置において用いられ得る。一つ以上の抗原結合タンパク質を含む薬学的組成物が、本発明の抗原結合タンパク質をＴＳＬＰに提供することを含む、ＴＳＬＰＲへのＴＳＬＰの結合および／またはシグナル伝達を阻害する方法において用いられ得る。

【０２１０】

特定の実施形態において、許容される処方物質は、好ましくは用いられる用量および濃度で受容者に非毒性である。特定の実施形態において、その薬学的組成物は、例えば、ｐＨ、重量オスモル濃度、粘性、透明度、色、等張性、香り、無菌性、安定性、分解もしくは放出の速度、その組成物の吸収もしくは浸透を、改変、維持または保存するための処方物質を含み得る。そのような実施形態において、適切な処方物質は、アミノ酸（例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、またはリジン）；抗菌剤；抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウム、または亜硫酸水素ナトリウム）；緩衝剤（例えば、ホウ酸塩、重炭酸塩、Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、クエン酸塩、リン酸塩または他の有機酸）；増量剤（ｂｕｌｋｉｎｇ　ａｇｅｎｔ）（例えば、マンニトールまたはグリシン）；キレート剤（例えば、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ））；錯化剤（例えば、カフェイン、ポリビニルピロリドン、ベータシクロデキストリンまたはヒドロキシプロピルベータシクロデキストリン）；充填剤；単糖類；二糖類；および他の炭水化物（例えば、グルコース、スクロース、マンノースまたはデキストリン）；タンパク質（例えば、血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン）；着色料、香味料および希釈剤；乳化剤；親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドン）；低分子量ポリペプチド；塩形成対イオン（例えば、ナトリウム）；保存料（例えば、塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサール、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸または過酸化水素）；溶剤（例えば、グリセリン、プロピレングリコールまたはポリエチレングリコール）；糖アルコール（例えば、マンニトールまたはソルビトール）；懸濁剤；界面活性剤または湿潤剤（例えば、プルロニック、ＰＥＧ、ソルビタンエステル、ポリソルベート（例えば、ポリソルベート２０、ポリソルベート、トリトン、トロメタミン、レシチン、コレステロール、チロキサパル）；安定性増強剤（例えば、スクロースまたはソルビトール）；張性増強剤（例えば、アルカリ金属ハロゲン化物、好ましくは塩化ナトリウムまたは塩化カリウム、マンニトール、ソルビトール）；送達ビヒクル；希釈剤；賦形剤および／または薬学的補助剤を含むが、それらに限定されるものではない。ＲＥＭＩＮＧＴＯＮ’Ｓ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ　ＳＣＩＥＮＣＥＳ，　１８’’　Ｅｄｉｔｉｏｎ，　（Ａ．Ｒ．　Ｇｅｎｒｍｏ，　ｅｄ．），１９９０，　Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏｍｐａｎｙを参照のこと。

【０２１１】

特定の実施形態において、最適な薬学的組成物は、例えば、投与の意図された経路、送達方式および所望の用量に依存して、当業者により決定される。例えば、上述のＲＥＭＩＮＧＴＯＮ’Ｓ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ　ＳＣＩＥＮＣＥＳを参照のこと。特定の実施形態において、そのような組成物は、本発明の抗原結合タンパク質の物理的状態、安定性、インビボでの放出の速度およびインビボでの除去の速度に影響し得る。特定の実施形態において、薬学的組成物中の第一のビヒクルまたは担体は、事実上、水性、非水性のいずれでもよい。例えば、適切なビヒクルまたは担体は、非経口的な投与のための組成物において一般的な他の物質で補充される可能性のある、注入のための水、生理的塩溶液または人工的な脳脊髄液であり得る。中性に緩衝された生理食塩水または血清アルブミン

と混合された生理食塩水は、さらに模範的なビヒクルである。特定の実施形態において、薬学的組成物は、約ｐＨ７．０－８．５のＴｒｉｓ緩衝液、または約ｐＨ４．０－５．５の酢酸緩衝液を含み、そしてソルビトールもしくはその適切な置換物をさらに含み得る。本発明の特定の実施形態において、ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質組成物は、凍結乾燥された固まりまたは水性溶液の形態で、所望の程度の純度で最適の処方剤（ＲＥＭＩＮＧＴＯＮ’Ｓ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ　ＳＣＩＥＮＣＥＳ、上述）を有す選択された組成物を混合することにより貯蔵のために調製され得る。さらに、特定の実施形態において、そのＴＳＬＰ抗原結合タンパク質生成物は、スクロースのような適切な賦形剤を用いて凍結乾燥物として処方され得る。

【０２１２】

本発明の薬学的組成物は、非経口的送達のために選択され得る。あるいは、その組成物は、吸入のため、または消化管をとおしての送達（例えば経口的）のために選択され得る。処方物成分は、投与の部位に受け入れられる濃度で好ましくは存在する。特定の実施形態において、組成物を生理的ｐＨまたはわずかにより低いｐＨ、一般的には約５から約８の範囲のｐＨ内に維持するために緩衝剤が用いられる。約５．１、約５．２、約５．３、約５．４、約５．５、約５．６、約５．７、約５．８、約５．９、約６．０、約６．１、約６．２、約６．３、約６．４、約６．５、約６．６、約６．７、約６．８、約６．９、約７．０、約７．１、約７．２、約７．３、約７．４、約７．５、約７．６、約７．７、約７．８、約７．９、および約８．０を含む。

【０２１３】

非経口的投与が企図される場合、本発明における使用のための治療用組成物は、発熱物質を含まない、薬学的に許容されるビヒクル中に所望のＴＳＬＰ抗原結合タンパク質を含む非経口的に許容される水性溶液の形態で、提供され得る。非経口的注入のための特に適切なビヒクルは、ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質が、無菌の、等浸透圧の、適切に保存されたものとして処方される、滅菌蒸留水である。特定の実施形態において、調製物は、所望の分子の処方物を、蓄積注射を介して送達され得る生成物の制御された放出または持続放出を提供し得る薬剤（例えば、注入可能なミクロスフェア、生物受食性（ｂｉｏ－ｅｒｏｄｉｂｌｅ）粒子、高分子化合物（例えば、ポリ乳酸またはポリグリコール酸）、ビーズもしくはリポソーム）とともに含み得る。特定の実施形態において、循環中での持続時間を増進する効果を有する、ヒアルロン酸がまた用いられ得る。特定の実施形態において、埋め込み可能な薬物送達装置が、所望の抗原結合タンパク質を導入するために用いられ得る。

【０２１４】

本発明の薬学的組成物は、吸入のために処方され得る。これらの実施形態において、ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質は、乾燥した吸入可能な粉末として好都合に処方され得る。特定の実施形態において、ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質吸入溶液はまた、エーロゾル送達のための噴射剤とともに処方され得る。特定の実施形態において、溶液は、霧状にされ得る。肺に関する投与およびしたがって処方方法は、国際特許出願第ＰＣＴＵＳ９４／００１８７５号にさらに記載され、それは参考として援用され、そして化学的に修飾されたタンパク質の肺に関する送達を記載する。

【０２１５】

処方物は、経口的に投与され得ることがまた企図される。この様式で投与されるＴＳＬＰ抗原結合タンパク質は、錠剤およびカプセルのような固体投与形態の配合において慣習的に用いられる担体とともに、またはなしで処方され得る。特定の実施形態において、カプセルは、生物学的利用能が最大化され、そして前全身性分解が最小化される、まぎわに、胃腸管において、処方物の活性部分を放出するように設計される。追加の薬剤が、ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質の吸収を促進するために含まれ得る。希釈剤、香料、低融点ワックス、植物油、滑沢剤、懸濁剤、錠剤分解剤、および結合剤がまた、用いられ得る。

【０２１６】

本発明の薬学的組成物は、錠剤の製造のために適切な非毒性賦形剤との混合物中に、有

効量の一つまたは複数のＴＳＬＰ抗原結合タンパク質を含むように、好ましくは提供される。その錠剤を滅菌水、または別の適切なビヒクル中に溶解することにより、溶液は、単位用量形態に調製され得る。

【０２１７】

適切な賦形剤は、不活性の希釈剤（例えば、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウムもしくは重炭酸ナトリウム、ラクトース、またはリン酸カルシウム）；または結合剤（例えば、デンプン、ゼラチン、またはアカシア）；または滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸またはタルク）を含むが、それらに限定されるものではない。

【０２１８】

付加的な薬学的組成物は、当業者には明白であり、持続送達または制御送達処方物中のＴＳＬＰ抗原結合タンパク質を含む処方物を含む。多様な他の持続または制御送達法（例えば、リポソーム担体、生物受食性微粒子または有孔ビーズおよび蓄積注射）を処方するための方法はまた、当業者には公知である。例えば、参考として援用され、そして薬学的組成物の送達のための有孔高分子微粒子の制御された放出を記載する国際特許出願第ＰＣＴ／ＵＳ９３／００８２９号を参照のこと。

【０２１９】

持続性放出調製物は、半透性ポリマー物質を造形品の形態（例えば、フィルム、またはマイクロカプセル）で含み得る。持続性放出調製物は、ポリエステル、ヒドロゲル、ポリラクチド（米国特許第３，７７３，９１９号および欧州特許出願公開第ＥＰ０５８４８１号に開示され、それぞれ参考として援用される）、Ｌ－グルタミン酸およびガンマエチル－Ｌ－グルタミン酸塩のコポリマー（Ｓｉｄｍａｎら、１９８３，Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ ２：５４７～５５６）、ポリ（２－ヒドロキシエチル－インエタクリレート（ｐｏｌｙ（２－ｈｙｄｒｏｘｙｅｔｈｙｌ－ｉｎｅｔｈａｃｒｙｌａｔｅ））（Ｌａｎｇｅｒら、１９８１，Ｊ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｍａｔｅｒ．Ｒｅｓ．１５：１６７～２７７およびＬａｎｇｅｒ，１９８２，Ｃｈｅｍ．Ｔｅｃｈ．１２：９８～１０５）、エチレンビニル酢酸（Ｌａｎｇｅｒら、１９８１、上述）、またはポリ－Ｄ（－）－３－ヒドロキシ酪酸（欧州特許出願公開第ＥＰ １３３，９８８号）を含み得る。

【０２２０】

持続放出組成物はまた、当該分野で公知のいくつかの方法のいずれによっても調製され得るリポソームを含み得る。例えば、Ｅｐｐｓｔｅｉｎら、１９８５，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ Ａｃａｄ．ＳｃＬ Ｕ．Ｓ．Ａ．８２．３６８８～３６９２；参考として援用される欧州特許出願公開第ＥＰ ０３６，６７６号；同第 ＥＰ ０８８，０４６号および同第ＥＰ１４３，９４９号を参照のこと。

【０２２１】

インビボの投与のために用いられる薬学的組成物は、滅菌調製物として一般的に提供される。滅菌は、滅菌フィルター膜をとおしての濾過により達成され得る。その組成物が凍結乾燥される場合、この方法を用いる滅菌は、凍結乾燥および再構成の前または後のどちらかに実施され得る。非経口投与のための組成物は、凍結乾燥形態または溶液で貯蔵され得る。非経口組成物は一般的に、滅菌アクセスポートを有する容器（例えば、静脈注射溶液のバッグまたは皮下注射針によって貫くことが可能なストッパーを有するバイアル）中に置かれる。

【０２２２】

本発明の局面は、自己緩衝化ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質処方物を含み、それは国際特許出願（国際公開第０６１３８１８１Ａ２号パンフレット（ＰＣＴ／ＵＳ２００６／０２２５９９））に記載されたように薬学的組成物として用いられ得る。国際公開第０６１３８１８　１Ａ２号パンフレット（ＰＣＴ／ＵＳ２００６／０２２５９９）は、その全体が本明細書中に参考として援用される。一つの実施形態が、総塩濃度が１５０ｍＭより低い、ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質を含む自己緩衝化ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質処方物を提供する。

【０２２３】

ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質を含む薬学的な組成物の、用いられる治療有効量は、例えば、治療状況および目的に依存する。処置のための適切な用量レベルが、一部において、送達される分子、ＴＳＬＰ抗原結合タンパク質が使用される適応症、投与の経路、およびサイズ（体重、体表面または器官のサイズ）および／または患者の状態（年齢および一般的な健康の）に依存して変化することを、当業者は理解する。

【０２２４】

特定の実施形態において、臨床医は、最適の治療効果を得るために、用量を定め、投与の経路を変えることができる。一般的な用量は、上記の因子に依存して約０．１μｇ／ｋｇから約３０ｍｇ／ｋｇ以上まで変化し得る。特定の実施形態において、用量は、０．１μｇ／ｋｇから約３０ｍｇ／ｋｇまで、随意に１μｇ／ｋｇから約３０ｍｇ／ｋｇまで、または１０μｇ／ｋｇから約５ｍｇ／ｋｇまで変化し得る。

【０２２５】

投与頻度は、用いられる処方物中の特定のＴＳＬＰ抗原結合タンパク質の薬物動態学的パラメーターに依存する。一般的に、臨床医は、所望の効果を達成する用量に到達するまでその組成物を投与する。組成物は、したがって、単一の用量として、または期間中に２回以上の用量（それは所望の分子の同一量を含んでも含まなくてもよい）として、または埋め込み装置もしくはカテーテルを介して連続した注入として、投与され得る。適切な用量のさらなる改善は、当業者によって日常的になされ、それは当業者により実施される業務の範囲内にある。

【０２２６】

適切な用量は、適切な用量－応答データの使用を通して確かめられ得る。特定の実施形態において、本発明の抗原結合タンパク質は、延長された期間をとおして患者に投与され得る。本発明の抗原結合タンパク質の長期投与は、完全にはヒトのものではない抗原結合タンパク質（例えば、非ヒト動物においてヒト抗原に対して生じた抗体、例えば、非ヒト種において産生された非完全ヒト抗体もしくは非ヒト抗体）に一般的に関連する有害な免疫またはアレルギー応答を最小化する。

【０２２７】

薬学的組成物の投与経路は、公知の方法（例えば、経口的に、静脈内、腹腔内、脳内（実質内）、脳室内、筋肉内、眼球内、動脈内、門脈内、または病巣内経路による注入をとおす；持続放出システムによるまたは埋め込み装置による）に従う。特定の実施形態において、組成物は、大量瞬時投与によりまたは点滴により、または埋め込み装置により投与され得る。

【０２２８】

組成物はまた、所望の分子が吸収されるかまたはカプセル化された膜、スポンジ、または別の適切な材料の埋め込みを介して局所的に投与され得る。埋め込み装置が用いられる特定の実施形態において、その装置は、適切な組織または器官中に埋め込まれ得、そして所望の分子の送達は、拡散、時間放出ボーラス、または連続的な投与を介し得る。

【０２２９】

併用療法

さらなる実施形態において、抗原結合タンパク質は、患者が悩まされている状態を処置するために有用な他の薬剤と組み合わせて投与される。そのような薬剤の例は、タンパク様薬剤および非タンパク様薬剤の両方を含む。複数の治療が同時投与される場合、用量は、関連する技術分野で認識されるように、状況に応じて調整され得る。「同時投与」および併用療法は、同時投与に限定されないが、患者に少なくとも一つの他の治療剤を投与することを含む処置のコースの間に少なくとも一度、抗原結合タンパク質が投与される処置の管理をまた含む。

【実施例】

【０２３０】

本発明が記載され、以下の実施例は、説明として提出されるものであり、制限するものではない。

【０２３１】
実施例１：抗原の調製
組換えＴＳＬＰのいくつかの形態を免疫原として用いた。ヒトＴＳＬＰをＥ．ｃｏｌｉおよび哺乳動物細胞の両方において発現させた。Ｅ．ｃｏｌｉが産生するヒトＴＳＬＰはタグのない全長タンパク質であった。アミノ酸１２８－１３２（ＲＫＲＫＶ、配列番号３７１）に対応するヌクレオチド３８２－３９６（ＡＧＡＡＡＡＡＧＧＡＡＡＧＴＣ、配列番号３７０）を欠失させることにより生成されたフューリン切断部位の欠失を有するＴＳＬＰタンパク質をＣＯＳ　ＰＫＢ細胞において生成した。このタンパク質は、Ｃ末端ポリＨＩＳ－Ｆｌａｇタグを含む（ヌクレオチド配列＝　ＡＴＧＴＴＣＣＣＴＴＴＴＧＣＣＴＴＡＣＴＡＴＡＴＧＴＴＣＴＧＴＣＡＧＴＴＴＣＴＴＴＣＡＧＧＡＡＡＡＴＣＴＴＣＡＴＣＴＴＡＣＡＡＣＴＴＧＴＡＧＧＧＣＴＧＧＴＧＴＴＡＡＣＴＴＡＣＧＡＣＴＴＣＡＣＴＡＡＣＴＧＴＧＡＣＴＴＴＧＡＧＡＡＧＡＴＴＡＡＡＧＣＡＧＣＣＴＡＴＣＴＣＡＧＴＡＣＴＡＴＴＴＣＴＡＡＡＧＡＣＣＴＧＡＴＴＡＣＡＴＡＴＡＴＧＡＧＴＧＧＧＡＣＣＡＡＡＡＡＧＴＡＣＣＧＡＧＴＴＣＡＡＣＡＡＣＡＣＣＧＴＣＴＣＴＴＧＴＡＧＣＡＡＴＣＧＧＣＣＡＣＡＴＴＧＣＣＴＴＡＣＴＧＡＡＡＴＣＣＡＧＡＧＣＣＴＡＡＣＣＴＴＣＡＡＴＣＣＣＡＣＣＧＣＣＧＧＣＴＧＣＧＣＧＴＣＧＣＴＣＧＣＣＡＡＡＧＡＡＡＴＧＴＴＣＧＣＣＡＴＧＡＡＡＡＡＣＴＡＡＧＧＣＴＧＣＣＴＴＡＧＣＴＡＴＣＴＧＧＴＧＣＣＣＡＧＧＣＴＡＴＴＣＧＧＡＡＡＣＴＣＡＧＡＴＡＡＡＴＧＣＴＡＣＴＣＡＧＧＣＡＡＴＧＡＡＧＡＡＧＡＧＧＡＧＡＡＡＡＡＡＧＧＡＡＡＧＴＣＡＣＡＡＣＣＡＡＴＡＡＡＴＧＴＣＴＧＧＡＡＣＡＡＧＴＧＴＣＡＣＡＡＴＴＡＣＡＡＧＧＡＴＴＧＴＧＧＣＧＴＣＧＣＴＴＣＡＡＴＣＧＡＣＣＴＴＴＡＣＴＧＡＡＡＣＡＡＣＡＧＣＡＴＣＡＣＣＡＴＣＡＣＣＡＴＣＡＣＧＡＣＴＡＣＡＡＡＧＡＣＧＡＴＧＡＣＧＡＣＡＡＡ　（配列番号３７２）；
タンパク質配列＝　ＭＦＰＦＡＬＬＹＶＬＳＶＳＦＲＫＩＦＩＬＱＬＶＧＬＶＬＴＹＤＦＴＮＣＤＦＥＫＩＫＡＡＹＬＳＴＩＳＫＤＬＩＴＹＭＳＧＴＫＳＴＥＦＮＮＴＶＳＣＳＮＲＰＨＣＬＴＥＩＱＳＬＴＦＮＰＴＡＧＣＡＳＬＡＫＥＭＦＡＭＫＴＫＡＡＬＡＩＷＣＰＧＹＳＥＴＱＩＮＡＴＱＡＭＫＫＲＴＴＮＫＣＬＥＱＶＳＱＬＱＧＬＷＲＲＦＮＲＰＬＬＫＱＱＨＨＨＨＨＨＤＹＫＤＤＤＤＫ　（配列番号３７３）。
【０２３２】
別のキャンペーンにおいて、Ｃ末端ポリＨＩＳ－Ｆｌａｇタグを付けた全長ＴＳＬＰタンパク質をＣＯＳ　ＰＫＢ細胞において生成した（ヌクレオチド配列＝
ＡＴＧＴＴＣＣＣＴＴＴＴＧＣＣＴＴＡＣＴＡＴＡＴＧＴＴＣＴＧＴＣＡＧＴＴＴＣＴＴＴＣＡＧＧＡＡＡＡＴＣＴＴＣＡＴＣＴＴＡＣＡＡＣＴＴＧＴＡＧＧＧＣＴＧＧＴＧＴＴＡＡＣＴＴＡＣＧＡＣＴＴＣＡＣＴＡＡＣＴＧＴＧＡＣＴＴＴＧＡＧＡＡＧＡＴＴＡＡＡＧＣＡＧＣＣＴＡＴＣＴＣＡＧＴＡＣＴＡＴＴＴＣＴＡＡＡＧＡＣＣＴＧＡＴＴＡＣＡＴＡＴＡＴＧＡＧＴＧＧＧＡＣＣＡＡＡＡＡＧＴＡＣＣＧＡＧＴＴＣＡＡＣＡＡＣＡＣＣＧＴＣＴＣＴＴＧＴＡＧＣＡＡＴＣＧＧＧＣＣＡＣＡＴＴＧＣＣＴＴＡＣＴＧＡＡＡＴＣＣＡＧＡＧＣＣＴＡＡＣＣＴＴＣＡＡＴＣＣＣＡＣＣＧＣＣＧＧＣＴＧＣＧＣＧＴＣＧＣＴＣＧＣＣＡＡＡＧＡＡＡＴＧＴＴＣＧＣＣＡＴＧＡＡＡＡＡＣＴＡＡＧＧＣＴＧＣＣＴＴＡＧＣＴＡＴＣＴＧＧＴＧＣＣＣＡＧＧＣＴＡＴＴＣＧＧＡＡＡＣＴＣＡＧＡＴＡＡＡＴＧＣＴＡＣＴＣＡＧＧＣＡＡＴＧＡＡＧＡＡＧＡＧＧＡＧＡＡＡＡＡＡＧＧＡＡＡＧＴＣＡＣＡＡＣＣＡＡＴＡＡＡＴＧＴＣＴＧＧＡＡＣＡＡＧＴＧＴＣＡＣＡＡＴＴＡＣＡＡＧＧＡＴＴＧＴＧＧＣＧＴＣＧＣＴＴＣＡＡＴＣＧＡＣＣＴＴＴＡＣＴＧＡＡＡＣＡＡＣＡＧＣＡＴＣＡＣＣＡＴＣＡＣＣＡＴＣＡＣＧＡＣＴＡＣＡＡＡＧＡＣＧＡＴＧＡＣＧＡＣＡＡＡ（配列番号３７４）；　タンパク質配列＝　ＭＦＰＦＡＬＬＹＶＬＳＶＳＦＲＫＩＦＩＬＱＬＶＧＬＶＬＴＹＤＦＴＮＣＤＦＥＫＩＫＡＡＹＬＳＴＩＳＫＤＬＩＴＹＭＳＧＴＫＳＴＥＦＮＮＴＶＳＣＳＮＲＰＨＣＬＴＥＩＱＳＬＴＦＮＰＴＡＧＣＡＳＬＡＫＥＭＦＡＭＫＴＫＡＡＬＡＩＷＣＰＧＹＳＥＴＱＩＮＡＴＱＡＭＫＫＲＲＫＲＫＶＴＴＮＫＣＬＥＱＶＳＱＬＱＧＬＷＲＲＦＮＲＰＬＬＫＱＱＨＨＨＨＨＨＤＹＫＤＤＤＤＫ　（配列番号３７５））。アミノ酸配列１－２８　（ＭＦＰＦＡＬＬＹＶＬＳＶＳＦＲＫＩＦＩＬＱＬＶＧＬＶＬＴ、配列番号３７６）はこれらの両方のタンパク質の成熟産物から切断された

シグナルペプチドであることに注意。

【０２３３】

加えて、カニクイザルＴＳＬＰをクローニングし、そして、同じＣ末端ポリＨＩＳ－Ｆｌａｇに融合させた、フューリン切断部位（アミノ酸１２０－１２４（ＲＫＲＫＶ、配列番号３７１）に対応するヌクレオチド３５８-３７２（ＡＧＡＡＡＡＡＧＧＡＡＡＧＴＣ、配列番号３７０）を欠失させてか（ＤＮＡ　＝ＡＴＧＧＡＧＡＣＡＧＡＣＡＣＡＣＴＣＣＴＧＣＴＡＴＧＧＧＴＡＣＴＧＣＴＧＣＴＣＴＧＧＧＴＴＣＣＡＧＧＴＴＣＣＡＣＣＧＧＴＴＡＣＧＡＣＴＴＣＡＣＴＡＡＣＴＧＴＧＡＣＴＴＴＣＡＧＡＡＧＡＴＴＧＡＡＧＣＡＧＡＣＴＡＴＣＴＣＣＧＴＡＣＴＡＴＴＴＣＴＡＡＡＧＡＣＣＴＧＡＴＴＡＣＡＴＡＴＡＴＧＡＧＴＧＧＧＡＣＴＡＡＡＡＧＴＡＣＣＧＡＣＴＴＣＡＡＣＡＡＣＡＣＣＧＴＣＴＣＣＴＧＴＡＧＣＡＡＴＣＧＧＣＣＡＣＡＣＴＧＣＣＴＴＡＣＴＧＡＡＡＴＣＣＡＧＡＧＣＣＴＡＡＣＣＴＴＣＡＡＴＣＣＣＡＣＣＣＣＣＣＧＣＴＧＣＧＧＣＧＴＣＧＣＴＣＧＣＣＡＡＧＧＡＡＡＴＧＴＴＣＧＣＣＡＧＧＡＡＡＡＣＴＡＡＧＧＣＴＡＣＣＣＴＣＧＣＴＣＴＣＴＧＧＴＧＣＣＣＡＧＧＣＴＡＴＴＣＧＧＡＡＡＣＴＣＡＧＡＴＡＡＡＴＧＣＴＡＣＴＣＡＧＧＣＡＡＴＧＡＡＧＡＡＧＡＧＧＧＡＧＧＡＡＡＡＡＡＧＧＡＡＡＡＧＴＣＡＣＡＡＣＣＡＡＴＡＡＡＴＧＴＣＴＧＧＡＡＣＡＡＧＴＧＴＣＡＣＡＡＴＴＡＣＴＡＧＧＡＴＴＧＴＧＧＣＧＴＣＧＣＴＴＣＡＴＴＣＧＡＡＣＴＴＴＡＣＴＧＡＡＡＣＡＡＣＡＧＣＡＣＣＡＣＣＡＣＣＡＣＣＡＣＣＡＴＧＡＣＴＡＴＡＡＡＧＡＣＧＡＴＧＡＣＧＡＣＡＡＡ　（配列番号３７９）；タンパク質＝　ＭＥＴＤＴＬＬＬＷＶＬＬＬＷＶＰＧＳＴＧＹＤＦＴＮＣＤＦＱＫＩＥＡＤＹＬＲＴＩＳＫＤＬＩＴＹＭＳＧＴＫＳＴＤＦＮＮＴＶＳＣＳＮＲＰＨＣＬＴＥＩＱＳＬＴＦＮＰＴＰＲＣＡＳＬＡＫＥＭＦＡＲＫＴＫＡＴＬＡＬＷＣＰＧＹＳＥＴＱＩＮＡＴＱＡＭＫＫＲＲＫＲＫＶＴＴＮＫＣＬＥＱＶＳＱＬＬＧＬＷＲＲＦＩＲＴＬＬＫＱＱＨＨＨＨＨＨＤＹＫＤＤＤＤＫ　（配列番号３８０）のいずれかで、サブクローニングしＣＯＳ　ＰＫＢ細胞で発現させた。アミノ酸配列１－２０（ＭＥＴＤＴＬＬＬＷＶＬＬＬＷＶＰＧＳＴＧ、配列番号３８１）は、これらの両方のカニクイザルタンパク質の成熟産物から切断されたシグナルペプチドであることに注意。

【０２３４】

実施例２　マウス抗ヒトＴＳＬＰ抗体

ｈＴＳＬＰ－ＦｃをＢａｌｂ／ｃマウス（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，　Ｂａｒ　Ｈａｒｂｏｒ，　Ｍａｉｎｅ）の免疫化のために用いた。数回の免疫化の後、リンパ球を脾臓から放し、そして５０％　ＰＥＧ／ＤＭＳＯ（Ｓｉｇｍａ）を用いる化学的融合により、マウス骨髄腫細胞のＮＳ１（ＡＴＣＣ）と融合させた。その融合細胞を

、１０％ ＦＢＳ、５％ Ｏｒｉｇｅｎ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ｆａｃｔｏｒ （ＢｉｏＶｅｒｉｓ™）、１× ペニシリン－ストレプトマイシン－グルタミン、ピルビン酸ナトリウム（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を補充した２００μｌのＤＭＥＭ ＨＡＴ（０．１ｍＭ ヒポキサンチン、０．１６ｍＭ チミジン、４ｍＭ アミノプテリン、Ｓｉｇｍａ）培地中に２×１０^{4}細胞／ウエルの密度で９６穴プレート中に播種した。培地は、融合７日後に、１０％ ＦＢＳ、５％ Ｏｒｉｇｅｎ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ｆａｃｔｏｒ（ＢｉｏＶｅｒｉｓ™）、１× ペニシリン－ストレプトマイシン－グルタミン、ピルビン酸ナトリウム（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を補充したＤＭＥＭ ＨＴ（０．１ｍＭ ヒポキサンチン、０．１６ｍＭ チミジン）培地で交換した。馴化培地を、培地交換の二日後に集め、そして最初のスクリーニングに進めた（ｐｒｅｃｅｄｅｄ）。

【０２３５】

実施例３：完全なヒト抗体の生成

ＴＳＬＰに対して特異的な完全なヒトモノクローナル抗体を、例えば、Ｕ．Ｓ． ２００５／０１１８６４３、米国特許第６１１４５９８号、同第６１６２９６３号、同第７０４９４２６号、同第７０６４２４４号、Ｇｒｅｅｎら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ７：１３～２１（１９９４）、Ｍｅｄｅｚら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １５：１４６～１５６（１９９７）、Ｇｒｅｅｎ ａｎｄ Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｉｓ Ｊ．Ｅｘ． Ｍｅｄ． １８８：４８３～４９５（１９９８）（これらの全ては、参考として本明細書に援用される）に記載される方法に従ってＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（登録商標）技術を用いて、および以下に記載されるように、生成した。

【０２３６】

二つのキャンペーンを実施した。キャンペーン１において、ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（登録商標）のＩｇＧ２およびＩｇＧ４コホートを使用した。５０％のマウスがＥ．ｃｏｌｉの産生したヒトＴＳＬＰを受け、そして５０％が哺乳動物の産生したヒトＴＳＬＰを受けた（上述）。血清の力価をＥＬＩＳＡによりモニタリングし（後述）、そして最もよい力価を有すマウスを以下の方法を用いてハイブリドーマを生成するために融合した。

【０２３７】

選択したマウスを殺し、排出したリンパ節を各コホートから採取し、集めた。リンパ節細胞をＢ細胞について富化し、そしてハイブリドーマを作成するためにそのＢ細胞を骨髄腫細胞と融合させた。融合したハイブリドーマ株をその後ハイブリドーマ培地にまき、３７℃で１０～１４日間培養した。そのハイブリドーマの上清を、ＴＳＬＰに結合するＩｇＧ抗体について、以下に記載するようにＥＬＩＳＡによりスクリーニングした。

【０２３８】

第二のキャンペーンを開始し、ここでは、２つのコホートのＩｇＧ２ ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（登録商標）を哺乳動物の産生したヒトＴＳＬＰで免疫化し、一方のコホートをカニクイザルのＴＳＬＰで追加免疫した。数回の免疫化の後、上記のように、リンパ節由来のリンパ球を融合させ、培養した。培養後、ハイブリドーマの上清を、以下に記載されるように、ＥＬＩＳＡによってＴＳＬＰへの結合についてスクリーニングした。

【０２３９】

以下に示すアッセイに基づくさらなるサブクローニングのために、両方のキャンペーン由来のポリクローナルの上清を選択した。ＴＳＬＰ活性の可能性のあるインヒビターである抗体を含有するハイブリドーマを同定し、そしてカニクイザルＴＳＬＰとの交差反応性をさらに決定した。その結果を以下の実施例５に示す。期待のできるハイブリドーマの上清を、後述する初代ＤＣアッセイにおける能力に基づいて選択した。それらのハイブリドーマを単一の細胞にクローニングし、そしてさらなる試験のために広げた。抗体をその後、以下に記載するように精製した。

【０２４０】

Ｍａｂ Ｓｅｌｅｃｔ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）樹脂を用いてハイブリドーマの馴化培地から、抗体を精製した。ＰＢＳ中で平衡化したＭａｂ Ｓｅｌｅｃｔ樹脂の１：２スラリーの１００μｌを、７と１０ｍｌの間の馴化培地（ＣＭ）に加えた。試験管を４

～８℃で一晩ロテーターに置いた。その試験管を１，０００×ｇで５分間遠心分離し、非結合画分の上澄みを移した。その樹脂を５ｍｌのＰＢＳで洗浄し、そして上記のように遠心分離し上澄みを移した。その樹脂をその後、ＳＰＩＮ－Ｘ、０．４５μｍ、２ｍｌ試験管に移した。その樹脂を０．５ｍｌのＰＢＳでさらに二回洗浄し、そして遠心分離した。Ｍａｂは、０．２ｍｌの０．１Ｍ酢酸を用いて、時々混合しながら室温で１０分間インキュベートすることにより溶出した。その試験管を遠心分離し、そして３０μｌのＰｈ　８．０の１Ｍ　Ｔｒｉｓ緩衝液を溶出物に加えた。精製したＭａｂは、４～８℃で貯蔵した。

【０２４１】

実施例４：抗体アッセイ

Ａ．　抗ＴＳＬＰ抗体の存在を検出するＥＬＩＳＡ

ＥＬＩＳＡは、Ｃｏｓｔａｒ　３３６８培地結合９６穴プレートを組換えにより産生されたｗｔＨｕＴＳＬＰまたはｐＨｉｓＦｌａｇを１×ＰＢＳ／０．０５％　アザイド中２μｇ／ｍｌで、５０μｌ／ウエルでコートし、４℃で一晩インキュベートすることにより実施した。そのプレートを洗浄し、そして２５０μｌの１×ＰＢＳ／１％　ミルク（アッセイ希釈剤）でブロックし、そして室温で少なくとも３０分間インキュベートした。

【０２４２】

約５０μｌ／ウエルのハイブリドーマ上清、ポジティブコントロールのマウス抗体Ｍ３８５、またはネガティブコントロールを加え、そして室温で２時間インキュベートした。そのプレートを洗浄し、そして２次抗体のヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ　ＨＰＲ　（Ｐｉｅｒｃｅ）、またはそれに代えヤギ抗マウスＩｇＧ　ＨＰＲ　（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｓ）をアッセイ希釈剤中４００ｎｇ／ｍｌで適用した。そのプレートを室温で１時間インキュベートし、洗浄し、そして４５０ｎｍでＯＤを読んだ。

【０２４３】

Ｂ　抗ＴＳＬＰハイブリドーマ上清のスクリーニングを以下の機能アッセイの一つを用いて実施した。

【０２４４】

１．　９６穴プレートを、レセプターとヒトＦｃの間に８アミノ酸リンカー（ＳＧＧＡＰＭＬＳ、配列番号３８２）を持つ可溶性のｈｕＩＬ－７Ｒａ－ｈｕＴＳＬＰＲ－Ｆｃタンパク質でコートし、そして４℃で一晩インキュベートした。

【０２４５】

２．　そのプレートを洗浄し、そしてＰＢＳ　＋　１％　ＢＳＡ　＋　５％　スクロースを用いて室温で１時間ブロックした。

【０２４６】

３．　そのプレートをビオチン化したｈｕＴＳＬＰＨＦｄｅｌ　（ＨＦはポリＨｉｓＦｌａｇを意味し、ここでＴＳＬＰは、フューリン切断部位が欠失している）（ｄｅｌ）でインキュベートした。そのプレートをその後、（＋／－）ハイブリドーマ上清またはポジティブコントロールとしてのマウス抗ヒトＴＳＬＰ　（Ｍ３８５）で室温で２時間インキュベートした。

【０２４７】

４．　ＳＡ－ＨＲＰ検出（ストレプトアビジン－ホースラディッシュペルオキシダーゼ）。ＳＡは、ビオチン化したｈｕＴＳＬＰＨＦｄｅｌのビオチン部分に強く結合し、そしてＨＲＰが、過酸化水素による色素原ＴＭＢの酸化（青色に変わる）を触媒する。

【０２４８】

Ｂ．　細胞に基づくアッセイ

１）　ヒトＴＳＬＰＲ－ＩＬ７Ｒ複合体を発現する安定ＢＡＦ細胞株のＴＳＬＰで誘導される増殖の、ハイブリドーマ上清または精製抗体による阻害は、以下のプロトコールにより決定した。

【０２４９】

１．　増殖培地（ＲＰＭＩ　１６４０　＋　１０％　ＦＢＳ　＋　１％　Ｌ－グルタミ

ン ＋ ０．１％ Ｐｅｎ／Ｓｔｒｅｐ ＋ ０．１％ ２－ＭＥ）中のＢＡＦ： ＨｕＴＳＬＰＲ安定細胞株を洗浄して、維持培地（増殖培地と同じであるが、１０ ｎｇ／ｍＬのｈｕＴＳＬＰＨＦｗｔを添加）中で用いたＴＳＬＰを除去した。

【０２５０】

２． ＨｕＴＳＬＰｗｔｐＨＦ （＋／－）またはカニクイザルＴＳＬＰｗｔｐＨＦ（＋／－）をハイブリドーマ上清／精製抗体／またはマウス抗ヒトＴＳＬＰ （Ｍ３８５）と室温で３０分間、ウエル中でインキュベートした。

【０２５１】

３． ５×１０^{4}細胞／ウエルを加え、３日間インキュベートした。

【０２５２】

４． その細胞にトリチウム化したチミジン（１ｕＣｉ／ウエル）で一晩パルス（ｐｕｌｓｅ）した。そのＢＡＦ細胞の細胞増殖、またはその阻害を、細胞によるトリチウム化したチミジンの取り込みの量（ＣＰＭ）により評価した。

【０２５３】

２） 初代細胞アッセイ。ハイブリドーマまたは精製抗体による、初代ヒト樹状細胞からのＴＳＬＰ誘導オステオプロテゲリン（ＯＰＧ）（米国特許第６，２８４，７２８号に記載された）産生の阻害を、以下のプロトコールにより決定した。

【０２５４】

１．末梢血ＣＤ１１ｃ＋骨髄性ＤＣを、ＣＤ１ｃ（ＢＤＣＡ－１） ＤＣ単離キット（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を用いて正常な施設内（ｉｎ ｈｏｕｓｅ）ドナー白血球搬出パックから富化した。

【０２５５】

２．ｈｕＴＳＬＰｗｔｐＨＦ （＋／－）またはカニクイザルＴＳＬＰｗｔｐＨＦを、上清または精製抗体またはマウス抗ヒトＴＳＬＰと室温で３０分間インキュベートした。

【０２５６】

３．１×１０５細胞／ウエルを加え、４８時間インキュベートした。上清を採取し、ＥＬＩＳＡによりヒトＯＰＧ産生についてアッセイし、そしてハイブリドーマ上清または精製抗体によるＯＰＧ産生の阻害を決定した。ＯＰＧ ＥＬＩＳＡは、Ｒ＆Ｄ ｓｙｓｔｅｍｓ ＤｕｏＳｅｔ（登録商標）ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔキットを用いて実行した。抗ＴＳＬＰ抗体は、用量依存性様式で細胞からのＯＰＧ産生を阻害した。

【０２５７】

３） カニクイザル末梢血単核細胞アッセイ。ハイブリドーマ上清または精製抗体によるＣｙｎｏＴＳＬＰ誘導ＣＣＬ２２／ＭＤＣ産生の阻害を、以下のプロトコールにより決定した。

【０２５８】

１． カニクイザル（ＳＮＢＬ）より取得した末梢血から末梢血単細胞（ＰＢＭＣ）を、ｉｓｏｌｙｍｐｈ上に１：１の血液：ＰＢＳ混合物をかぶせることにより取得した。

【０２５９】

２． カニクイザルＴＳＬＰｗｔｐＨＦ（＋／－）上清／精製抗体または可溶性ｈｕＩＬ－７Ｒａ－ｈｕＴＳＬＰＲ－Ｆｃを、室温で３０分間インキュベートした。

【０２６０】

３． ４×１０^{5} 細胞／ウエルを加え、５日間インキュベートした。その上清を採取し、そしてＥＬＩＳＡによりカニクイザルＣＣＬ２２／ＭＤＣ産生についてアッセイした。

【０２６１】

実施例５：K_Dの決定

本特許出願において記載された表面プラズモン共鳴実験を、ＣＭ４センサーチップを装備したＢｉａｃｏｒｅ ３０００装置（Ｂｉａｃｏｒｅ ＩｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌＡＢ， Ｕｐｐｓａｌａ， Ｓｗｅｄｅｎ）を用いて、２５℃で実施した。ランニングバッファーとしてＨＢＳ－ＥＰを用いる標準的なアミンカップリング化学を用いてＣＭ４チ

ップ上の二つのフローセルに、抗Ｆｃγ特異的捕捉抗体を共有結合的に固定した。手短に言うと、各フローセルを０．１　Ｍ　ＮＨＳと０．４　Ｍ　ＥＤＣの１：１　（ｖ／ｖ）混合物で活性化した。ＡｆｆｉｎｉＰｕｒｅヤギ抗ヒトＩｇＧ、　Ｆｃγ断片特異的抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｉｎｃ．　Ｗｅｓｔ　Ｇｒｏｖｅ，　ＰＡ）を１０ｍＭ酢酸ナトリウム、ｐＨ　５．０中３０ｕｇ／ｍｌで二つのフローセル上に３，０００　ＲＵの標的レベルで固定した。残存する反応性表面を１Ｍのエタノールアミンの注入で非活性化した。ランニングバッファーをその後、全ての残りのステップについてＨＢＳ－ＥＰ　＋　０．１ｍｇ／ｍｌ　ＢＳＡに切替えた。

【０２６２】

以下の抗体を試験した。Ａ５　ＩｇＧ２は、精製したクローン抗体であり、Ａ２　ＩｇＧ１およびＩｇＧ２は、組換え精製抗体であり、そしてＡ３　ＩｇＧ４およびＡ４　ＩｇＧ４は、クローンの上清である。抗体をランニングバッファー中で適切に希釈し、その結果、試験フローセル上の１０μｌ／ｍｉｎでの２分の注入が、試験フローセル表面上に捕捉された抗体の約１１０～１７５応答単位をもたらした。コントロールのフローセル表面上に、抗体は捕捉されなかった。その後、種々の濃度のヒト、カニクイザル、またはネズミＴＳＬＰが、バッファーブランクとともに二つのフローセルを上に流された。ヒトおよびカニクイザルＴＳＬＰの濃度範囲は、０．４４～１００ｎＭであり、一方、ネズミＴＳＬＰの濃度範囲は、８．２～６０００ｎＭである。５０μｌ／分の流速を用い、そして２分の結合段階後、１０～３０分の解離段階が続いた。各サイクル後、１０　ｍＭグリシンｐＨ　１．５の３０秒間の注入でその表面を再生した。次に、新しい抗体を試験フローセル上に捕捉し、次のサイクルを準備した。

【０２６３】

バルクの（ｂｕｌｋ）屈折率の変化を除去するためにコントロールの表面応答を差し引き、そして実験フローセルから系統的なアーティファクトを除くために平均のバッファーブランク応答を差し引くことによって、データを、二重参照した。ＴＳＬＰデータを加工し、そして全体的に、局所Ｒｍａｘをともなう１：１相互作用モデルに、ＢＩＡ　ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ　ｖ　４．１．　（Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　ＡＢ，　Ｕｐｐｓａｌａ，　Ｓｗｅｄｅｎ）でフィットした。会合（k_a）および解離（k_d）速度定数を決定し、そして解離平衡定数（K_D）を計算するために用いた。解離速度定数および解離平衡定数を、実施例６において見い出される表中にまとめる。

【０２６４】

実施例６：抗体のインビトロ活性

以下の抗体をｋｄおよびＫＤについて上に記載したＢｉａｃｏｒｅアッセイを用いて特徴付けた。初代樹状細胞アッセイを、ＩＣ５０　（ｐＭ）を決定するために用いた。Ａ５についてのデータを精製したクローン抗体を用いて生成し、Ａ２についてのデータを組換え精製抗体を用いて生成し、そしてＡ３およびＡ４についてのデータをクローンの上清を用いて生成した。ＴＳＬＰの全ての変種を哺乳動物細胞から生成した。

【０２６５】

【表４－１】

抗体	TSLP	kd（1／x)オフ率	KD（pM）	IC50（pM）
A5 IgG2	Hu TSLP	7.36 x 10^{-5}	29.2	100−220
	Cyno TSLP	8.64 x 10^{-5}	51.2	680−970
	Mu TSLP	8.81 x 10^{-4}	377,000	Nd
A2 IgG1	Hu TSLP	3.49 x 10^{-4}	203	600−1700
	Cyno TSLP	1.04 x 10^{-4}	46.8	250−860
	Mu TSLP	−−	−−	−−
A2 IgG2	Hu TSLP	2.85 x 10^{-4}	157	6−24
	Cyno TSLP	9.42 x 10^{-5}	37.6	Nd
	Mu TSLP	結合なし	結合なし	n／a
A3 IgG4	Hu TSLP	2.7 x 10^{-4}	170	6−24
	Cyno TSLP	Nd	nd	Nd
	Mu TSLP	Nd	nd	Nd
A4 IgG4	Hu TSLP	3.30 x 10^{-4}	340	30−59
	Cyno TSLP	Nd	nd	Nd
	Mu TSLP	Nd	nd	Nd

実施例７：抗体の組換え発現および精製

抗体を発現する安定細胞株の開発

センスおよびアンチセンス鎖の両方の軽鎖および重鎖可変ドメインの一次配列に対応するように、重複するオリゴヌクレオチドを合成した。このオリゴヌクレオチドプールを標準的なＰＣＲにおいて用いた。この第一の反応からの生成物を、第二のＰＣＲ増幅における鋳型として用いた。増幅した可変重鎖断片および可変軽鎖断片を、中間的なベクター中にサブクローニングし、そして誤りのない生成物を同定するために配列決定した。可変重鎖断片を、シグナルペプチドおよびヒトＩｇＧ２定常領域を含む一過性発現ベクター中にクローニングした。可変軽鎖断片を、シグナルペプチドおよびヒトラムダ定常領域を含む一過性発現ベクター中にクローニングした。完全な重鎖遺伝子をベクターｐＤＣ３２４中に移した。完全な軽鎖遺伝子を発現ベクターｐＤＣ３２３中に移した。

【０２６６】

抗ＴＳＬＰ発現プラスミドのトランスフェクションのために用いたＣＳ－９宿主細胞は、無血清培地への適応をとおしてＤＸＢ－１１細胞から得られたＣＨＯ細胞株（Ｒａｓｍｕｓｓｅｎら、Ｃｙｔｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２８：３１～４２，　１９９８）である。抗ＴＳＬＰ細胞株は、標準的なエレクトロポレーションまたはリポフェクション手順を用いて発現プラスミドのｐＤＣ３２３－ａｎｔｉ－ＴＳＬＰ－ｌａｍｂｄａおよびｐＤＣ３２４－ａｎｔｉ－ＴＳＬＰ－ＩｇＧ２でＣＳ－９宿主細胞をトランスフェクトすることにより作成した。発現プラスミドでの宿主細胞株のトランスフェクション後、その細胞を選択培地中で２～３週間増殖させ、プラスミドの選択および細胞の回復を可能にした。いくつかの事例において、培地は、３％の透析した牛胎仔血清（ｄｓまたはｄＦＢＳ）で補充した。血清を用いた場合、選択期間の後に、血清は培地から除去した。細胞は、８５％より大きい生存度を達成するまで、選択培地中で増殖させた。トランスフェクトした細胞のこのプールを、その後、培養培地中で培養した。

【０２６７】
細胞株のクローニング
以下の手順により、選択したクローンの細胞バンクを作成した。クローニングステップは、商業的な製造における再現可能な実行を可能にするクローン集団および細胞バンクが生成されたことを確実にする。抗体発現細胞の増幅されたプールを、９６穴プレートでの限界希釈下で播種し、そして候補クローンを小規模研究において増殖および生産性の能力について評価した。
【０２６８】
実施例８：抗体の交差競合
エピトープを規定するための一般的な方法は、競合実験を介する。互いに競合する抗体は、標的上の同じ部位に結合することが考えられ得る。この実施例は、ＴＳＬＰへの結合についての競合を決定する方法、および本明細書に記載された多くの抗体に適用した場合のこの方法の結果を記載する。
【０２６９】
ビニング（Ｂｉｎｎｉｎｇ）実験は、多くの方法で実行され得、使用される方法は、アッセイ結果に一定の効力を有し得る。これらの方法に共通していることは、代表的に、ＴＳＬＰが、一方の参照抗体によって結合され、他方によってプローブ（ｐｒｏｂｅ）されることである。この参照抗体がこのプローブ抗体の結合を妨害する場合、これらの抗体は、同じビン（ｂｉｎ）にあると言われる。これらの抗体が使用される順序は重要である。抗体Ａが参照抗体として使用され、それが抗体Ｂの結合をブロックするとき、その逆は常に真ではない：参照抗体として使用される抗体Ｂは、必ずしも抗体Ａをブロックしない。そこで活動している多くの要因が存在する：抗体の結合は、標的内にコンフォメーション変化を引き起こし得、それは、第二の抗体の結合を妨害するか、重複しているが、完全には互いに閉塞しないエピトープは、第二の抗体が、結合を可能にするのに十分な、標的との高親和性の相互作用を依然として有することを可能にし得る。はるかにより高い親和性を有する抗体は、じゃまにならずにブロッキング抗体にぶつかる（ｂｕｍｐ）より高い能力を有し得る。一般的に、いずれかの順序で競合が観察される場合、抗体は、一緒のビンに入る（ｂｉｎ）と言われ、両方の抗体が互いにブロックし得る場合、そのエピトープはより完全に重複する可能性がある。
【０２７０】
この実施例のために、Ｊｉａら（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ、２８８（２００４）９１～９８）によって記載される多重化ビニング法（Ｍｕｌｔｉｐｌｅｘｅｄ Ｂｉｎｎｉｎｇ ｍｅｔｈｏｄ）の改変を使用した。ＴＳＬＰ内のフューリン切断部位の存在がＴＳＬＰタンパク質調製物（ｐｒｅｐｓ）の不均質性をもたらし得るため、フューリン切断部位内のアルギニンをアラニンに変異させたＴＳＬＰを使用した。米国特許第７，２８８，６３３号を参照のこと。各ビーズコード（ｂｅａｄ ｃｏｄｅ）のストレプトアビジンコーティングされたＬｕｍｉｎｅｘビーズ（Ｌｕｍｉｎｅｘ、＃Ｌ１００－Ｌ１ＸＸ－０１、ＸＸはビーズのコードを指定する）を、暗所、室温で１時間、１００ｕｌの６ｐｇ／ビーズ ビオチン化一価マウス抗ヒトＩｇＧ捕捉抗体（ＢＤ Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ、＃５５５７８５）中でインキュベートし、次に、ＰＢＳＡ（リン酸緩衝化生理食塩水（ＰＢＳ）＋１％ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ））で３回洗浄した。各ビーズコードを、１時間、１００ｕｌの１：１０希釈の抗ＴＳＬＰ抗体（Ｃｏａｔｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｙ）で別々にインキュベートし、その後洗浄した。これらのビーズをプールし、その後９６ウェルフィルタープレート（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、＃ＭＳＢＶＮ１２５０）に分配した。１００ｕｌの２ｕｇ／ｍｌの親ＴＳＬＰを、ウェルの半分に加え、緩衝液を、他方の半分に加え、１時間インキュベートし、その後洗浄した。１００ｕｌの１：１０希釈の抗ＴＳＬＰ抗体（検出Ａｂ）を、ＴＳＬＰを含む一つのウェルおよびＴＳＬＰを含まない一つのウェルに加え１時間インキュベートし、その後洗浄した。無関係なヒトＩｇＧ（Ｊａｃｋｓｏｎ、＃００９－０００－００３）および抗体の無い条件（ブランク）を、ネガティブコントロールとして試行（ｒｕｎ）した。２０ｕｌのＰＥ結合体化一価マ

ウス抗ヒトＩｇＧ（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ、＃５５５７８７）を、各ウェルに加え、１時間インキュベートし、その後洗浄した。ビーズを、７５ｕｌ　ＰＢＳＡ中に再懸濁し、ビーズコードあたり、少なくとも１００個の事象を、ＢｉｏＰｌｅｘ装置（ＢｉｏＲａｄ）上で収集した。

【０２７１】

ＴＳＬＰなしでの抗体対のメジアン蛍光強度（ＭＦＩ）を、ＴＳＬＰを含む対応する反応のシグナルから差し引いた。同時に結合し、したがって異なるビンにあると考えられる抗体について、反応の値は、２つの基準を満たすはずであった：１）これらの値は、いずれか最も高い、それ自体で対形成したコーティング抗体、無関係な抗体またはブランクの二倍であるはずであり、２）これらの値は、無関係またはブランクのコーティングされたビーズとともに存在する検出抗体のシグナルよりも大きいはずであった。

【０２７２】

上記の抗体の間での競合の分析は、プローブとしての抗体の性能対ブロッカー（ｂｌｏｃｋｅｒ）としてのそれらの性能の間の不一致が存在するという事実によって複雑になった。しかしながら、明確である抗体のビン（すなわち、各抗体が、参照として使用される場合に他方をブロックする）のみを考慮する場合に、８個のビンのうちの最小値が、以下の表４に示されるように見出された。

【０２７３】

【表４－２】

表４

ビン１	２	３	４	５	６	７	８
A5	A6	A27	A24	A10	A4	A2	A23
A17	A7	A11	A12	A26	A23	A21	A6
A6	A11	A24	A10	A4		A23	
			A26				

一部の抗体（Ａ２３およびＡ６など）が複数のビンにあることが見出されることが注記される。他のビニング関連性を決定することが可能であり、これらのビンからの抗体の包含または排除は、排除に偏っていた。

【０２７４】

このアッセイの結果は、どの他の抗体が、参照抗体との結合について交差競合するかを決定した。「結合について交差競合すること」によって、ブロッキング抗体として使用した場合に、参照抗体が、プローブとして使用した場合の他の抗体の結合をブロックすることができ、またその逆も成り立つことを意味する。言い換えると、参照抗体が他の抗体をブロックすることができたが、その他の抗体がその参照抗体をブロックすることができなかった場合、これらの抗体は交差競合するとは言わなかった。交差競合する抗体のリストは表５に提供される。

【０２７５】

【表５】

表５

参照抗体	例示的な交差競合する抗体
A2	A21, A23
A4	A10, A23, A26
A5	A6, A8, A11, A17
A6	A5, A7, A8, A11, A17, A23
A7	A6, A8, A11, A17
A8	A5, A6, A7, A17, A23
A10	A4, A12, A24, A26
A11	A5, A6, A7, A17, A24, A27
A12	A10, A24, A26
A17	A5, A6, A7, A8, A11
A21	A2, A23, A27
A23	A2, A4, A6, A8, A21
A24	A10, A11, A12, A26, A27
A26	A4, A10, A12, A24
A27	A11, A21, A24

実施例９：エピトープマッピング

エピトープはしばしば線形配列であると考えられているが、抗体が、不連続なアミノ酸から構成される標的の表面を認識する場合がより多い。これらのアミノ酸は、線形配列からはかけ離れているが、標的の折りたたみを介して共に近接し得、このようなエピトープを認識する抗体は、コンフォメーション感受性抗体または単なるコンフォメーション性抗体（ｃｏｎｆｏｒｍａｔｉｏｎａｌ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）として知られている。この種類の結合は、変性ウェスタンブロットの使用によって規定され得、変性ウェスタンブロットにおいて、ゲル上で泳動する前に、標的を洗剤および還元剤の存在下で加熱し、標的を展開する（ｕｎｆｏｌｄ）する。次に、このゲルからのブロットを、抗体によってプローブし得、この処理の後に標的を認識することができる抗体は、おそらく線形エピトープを認識する。線形配列を結合する抗体のエピトープはペプチドへの結合によって規定され得る（例えば、ＰｅｐＳｐｏｔ）が、コンフォメーション性抗体は、高い親和性で標準的なペプチドを結合しないと予測される。

【０２７６】

還元、熱変性、精製された親ＴＳＬＰタンパク質を、ＭＥＳ　ＳＤＳ泳動緩衝液中の１０％ビストリスＮｕｐａｇｅゲルにロードした。タンパク質を、ＰＢＳ＋０．０５％　Ｔｗｅｅｎ（ＰＢＳＴ）中５％脱脂乾燥ミルク（ＮＦＤＭ）でブロックしたＰＶＤＦメンブレンに移し、ＲＴで１時間、ＴＳＬＰ抗体とともにインキュベートした。これらのブロットを、ＰＢＳＴで３回洗浄し、次に、ＲＴで１時間、ヤギ抗ｈｕＩｇＧ二次抗体とともにインキュベートした。これらのブロットを再度洗浄し、抗ヤギＩｇＧ：Ａｌｅｘａ　６８０でインキュベートした。ＰＢＳＴで３回洗浄した後、これらのブロットを、バンドを可視化するために、ＬｉＣｏ上でスキャンした。

【０２７７】

抗体Ａ２、Ａ４、Ａ５、Ａ６、Ａ７、Ａ１０、Ａ２１、Ａ２３およびＡ２６を、この方法を使用して特徴づけた。抗体Ａ２、Ａ４およびＡ５は、ウェスタンブロットでの強力なバンドによって証明されるように線形エピトープに結合した。全ての他の抗体は、ウェスタンブロットでのバンドがないこと、または極めて弱いバンドに起因してコンフォメーション性であった。

【０２７８】

エピトープはさらに、構造的または機能的に規定され得る。機能的なエピトープは、一般的に、構造的なエピトープのサブセットであり、相互作用（例えば、水素結合、イオン

性相互作用）の親和性に直接寄与する残基から構成される。構造的なエピトープは、抗体によってカバーされる標的のパッチと考えられ得る。

【０２７９】

系統的変異導入法（ｓｃａｎｎｉｎｇ　ｍｕｔａｇｅｎｅｓｉｓ）を使用して、抗体によって結合されるエピトープをさらに規定する。しばしばアラニン系統的変異導入法を使用して、機能的なエピトープを規定し；アラニン（メチル側鎖）の置換は、本質的に野生型のアミノ酸側鎖の切断であり、極めてかすかなものである。タンパク質バックボーンとの相互作用（アミド連結への水素結合など）は、アラニンスキャニング（ａｌａｎｉｎｅ　ｓｃａｎｎｉｎｇ）によって明らかにされない可能性がある。その代わり、アルギニンおよびグルタミン酸の系統的変異導入法を使用した。これらの２つの側鎖を、構造的なエピトープに生じ、抗体結合に対してより大きな影響を有する変異を可能にする、それらの大きな立体容積および電荷のために選択した。ＷＴ残基がアルギニンまたはリジンであった場合（これらの場合において、この残基を、電荷を切り替えるためにグルタミン酸に変異させた）以外は、一般的にアルギニンを使用した。少数の場合において、ＷＴの残基を、アルギニンおよびグルタミン酸の両方に変異させた。

【０２８０】

ＴＳＬＰ全体にわたって分布した９５個のアミノ酸を、アルギニンまたはグルタミン酸への変異のために選択した。疎水性残基は一般的にタンパク質の折りたたまれたコアの内部に見出されるので、誤って折りたたまれたタンパク質をもたらす変異の可能性を低減するために、選択は、荷電アミノ酸または極性アミノ酸に偏らせた。結晶構造が存在しないため、これらの残基を、本質的に無作為に選択し、かつこれらはＴＳＬＰ全体にわたって分布した。実施例８に記載されるように、変異したフューリン切断部位を含むＴＳＬＰを使用した。

【０２８１】

ＢＩＯＰＬＥＸ^{TM}結合アッセイは、変異体ＴＳＬＰへの抗ＴＳＬＰ抗体の結合を測定するために使用された。ビオチン化Ｐｅｎｔａ－Ｈｉｓ　Ａｂ（Ｑｉａｇｅｎ、ロット番号：１３０１６３３３９）を、１００個のビーズコードのストレプトアビジンコーティングされたビーズ（Ｌｕｍｉｎｅｘ、＃Ｌ１００－Ｌ１ＸＸ－０１、ＸＸはビーズコードを指定する）に結合させた。これらを、ｈｉｓタグ付きタンパク質を捕捉するために使用した。１００個のビーズコードは、８５個全ての変異体、３個の親コントロール、無関係なタンパク質および１２個のブランクの多重化を可能にした。変異体タンパク質への抗体の結合を、親への抗体の結合と比較した。

【０２８２】

上清中の１００ｕｌの１：５希釈のＴＳＬＰ変異体および親、ならびに１ｕｇ／ｍＬ精製ＴＳＬＰ　ＷＴ、１ｕｇ／ｍＬの無関係なタンパク質またはタンパク質なしを、激しく振とうしながら、ＲＴで１時間、コーティングされたビーズに結合させた。これらのビーズを洗浄し、９６ウェルフィルタープレート（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）に等分した。４倍希釈の１００ｕｌの抗ＴＳＬＰ抗体を、三連のウェルに添加し、ＲＴで０．５時間インキュベートし、そして洗浄した。１００ｕｌの１：２５０希釈のＰＥ結合体化抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ（Ｊａｃｋｓｏｎ、＃１０９－１１６－１７０）を各ウェルに添加し、ＲＴで０．５時間インキュベートし、そして洗浄した。ビーズを、７５ｕＬ中に再懸濁し、少なくとも３分間振とうし、ＢＩＯＰＬＥＸ^{TM}上で読み取った。

【０２８３】

残基をアルギニンまたはグルタミン酸へ変異させることが抗体の結合を破壊したとき、その残基を、構造的なエピトープの一部とみなした（「ヒット（ｈｉｔ）」）。このことは、親のＴＳＬＰへの抗体の結合と比較した、ＥＣ５０のシフトまたは最大シグナルの低減として見られた。

【０２８４】

親および変異体への抗体の結合の曲線の統計分析を使用して、統計的に有意なＥＣ５０シフトを同定した。この分析は、アッセイおよびカーブフィッティングでの変動を考慮に

入れた。

【０２８５】

変異体の結合曲線および親の結合曲線のＥＣ５０を比較した。統計的に有意な差を、さらなる考察のためにヒットとして同定した。「フィットしない（ｎｏｆｉｔ）」のフラッグ（ｆｌａｇ）または「フィット不良（ｂａｄｆｉｔ）」のフラッグを有する曲線は、この分析から排除した。

【０２８６】

変動の２つの源を、ＥＣ５０推定値の比較において考慮した（カーブフィットからの変動およびビーズ－ビーズの変動）。親および変異体は、異なるビーズに連結されていたので、それらの差は、ビーズ－ビーズの差によって複雑にされた。カーブフィットの変動を、対数ＥＣ５０推定値の標準誤差によって推定した。ビーズ－ビーズの変動を、親のコントロールを各々一つのビーズに連結させた実験を使用して実験的に決定した。親の結合曲線のＥＣ５０推定値におけるビーズの変動を使用して、ビーズ－ビーズの変動を推定した。

【０２８７】

２つのＥＣ５０（対数スケールで）の比較を、Ｓｔｕｄｅｎｔのｔ検定を使用して実行した。ｔ統計値（ｓｔａｔｉｓｔｉｃ）を、δ（ＥＣ５０推定値間の絶対的な差）およびδの標準偏差の間の比として計算する。δの分散を、３つの成分（非線形回帰における変異体および親の曲線についてのＥＣ５０の分散推定値、ならびに別個の実験から推定したビーズ－ビーズの分散の二倍）の合計によって推定する。複数の、２つについてのビーズ－ビーズの分散は、変異体および親のビーズの両方が同じ分散を有するという前提に起因する。

【０２８８】

δの標準偏差の自由度を、Ｓａｔｔｅｒｔｈｗａｉｔｅ（１９４６）の近似を使用して計算した。個々のｐ値および信頼区間（９５％および９９％）を、各比較についてのＳｔｕｄｅｎｔのｔ分布に基づいて取得した。複数の親コントロールの場合には、変異体に最も類似した親コントロールを選択する（すなわち、最大のｐ値を有するものを選択する）ことによって、控えめなアプローチを実行した。

【０２８９】

多数の試験を同時に実行する間、擬陽性を制御するために、多重度補正（ｍｕｌｔｉｐｌｉｃｉｔｙ　ａｄｊｕｓｔｍｅｎｔ）が重要であった。２つの形態の多重度補正を、この分析のために実行した：ｆａｍｉｌｙ　ｗｉｓｅ　ｅｒｒｏｒ（ＦＷＥ）制御（ｃｏｎｔｒｏｌ）およびｆａｌｓｅ　ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ　ｒａｔｅ（ＦＤＲ）制御。ＦＷＥアプローチは、１つ以上のヒットが存在しない確率を制御し；ＦＤＲアプローチは、選択されたヒットの中での擬陽性の期待される割合を制御する。前者のアプローチはより控えめであり、後者のアプローチよりも強力ではない。この分析のために、両方のアプローチについて多くの方法が利用可能であり、Ｈｏｃｈｂｅｒｇ（１９８８）の方法をＦＷＥ分析に選択し、Ｂｅｎｊａｍｉｎｉ－Ｈｏｃｈｂｅｒｇ（１９９５）のＦＤＲ法をＦＤＲ分析に選択した。両方のアプローチについて補正したｐ値を、各抗体またはアッセイ全体のいずれかについて計算した。

【０２９０】

そのＥＣ５０が親から有意に異なった（すなわち、０．０１未満の、各抗体についてのＦＷＥ補正したｐ値、または親の５０％未満の最大シグナルを有する）の変異を、構造的なエピトープの一部とみなした（表６）。ＥＣ５０のシフト（ｓｈｉｒｔ）または全ての抗体に対しての最大シグナルの低減のいずれかによって有意だった変異を、誤って折りたたまれたとみなした。これらの変異は、Ｙ１５Ｒ、Ｔ５５Ｒ、Ｔ７４ＲおよびＡ７７Ｒであった。

【０２９１】

【表６】

表6. BIOPLEXにおいて抗体の結合に影響を与え、かつ構造的なエピトープの一部である、変異の要約

抗体	線形	増大した結合親和性	低下した結合親和性
A2	有	K67E, K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	K21E, T25R, S28R, S64R, K73E
A4	有	K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	K10E, A14R, K21E, D22R, K73E, K75E, A76R
A5	有		K12E, D22R, S40R, R122E, N124E, R125E, K129E
A6	無		S40R, S42R, H46R, R122E, K129E
A7	無	K101E	D2R, T4R, D7R, S42R, H46R, T49R, E50R, Q112R, R122E, R125E, K129E
A10	無	K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	N5R, S17R, T18R, K21E, D22R, T25R, T33R, H46R, A63R, S64R, A66R, E68R, K73E, K75E, A76R, A92R, T93R, Q94R, A95R
A21	無	K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	K21E, K21R, D22R, T25R, T33R, S64R, K73E, K75E, E111R, S114R
A23	無	K67E, K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	E9R, K10E, K12E, A13R, S17R, S20R, K21E, K21R, K73E, K75E, N124E, R125E
A26	無	K97E, K98E, R100E, K101E, K103E	A14R, K21E, D22R, A63R, S64R, K67E, K73E, A76R, A92R, A95R

複数の抗体の結合を破壊したいくつかの変異（特に、Ｋ７３Ｅ、Ｋ２１ＥおよびＤ２２Ｒ）が存在した。変異誘発は、ビニングによって生成されたデータを検証し、エピトープの空間上でさらに絞り込むのに役立つ。ＴＳＬＰ内の変異は、一緒にビンに入る抗体のクラスターに影響を与えるようである。

【０２９２】

実施例１０：毒物学

ヒトＴＳＬＰを依然として結合し、また他の種のＴＳＬＰと交差反応する抗体は、これらの種において毒物学試験を可能にする。この実施例において、カニクイザルＴＳＬＰと交差反応する抗体を、カニクイザルに投与した。その後、これらのサルを、毒性作用について観察した。

【０２９３】

カニクイザルでの単回用量の安全性薬理学試験は、抗体の単一の３００ｍｇ／ｋｇの静脈内用量が、心血管の影響も、呼吸の影響も、体温の影響も、神経行動学的な影響もなかったことを示した。

【０２９４】

カニクイザル（５／性別／群）に、３０、１００または３００ｍｇ／ｋｇの用量を、週に一回、４週間にわたって皮下に与えた。いかなる用量においても、何ら有害な毒物学も観察されなかった。上記の抗体は、臨床所見にも、体重にも、眼科学にも、ＥＣＧにも、臨床病理学にも、解剖病理学にも影響を与えなかった。

【０２９５】

別個の研究において、４頭の遠隔測定した（ｔｅｌｅｍｅｔｅｒｉｚｅｄ）カニクイザルに、ビヒクル（１日目）および３００ｍｇ／ｋｇの抗体（３日目）の単一の静脈内用量を与えた。４日間の観察期間にわたって、心血管機能に対しても、呼吸機能に対しても、神経学的機能に対しても何ら影響も観察されなかった。

【０２９６】

上記の抗体をさらに試験して、ＦＤＡガイドライン「Ｐｏｉｎｔｓ ｔｏ Ｃｏｎｓｉｄｅｒ ｉｎ ｔｈｅ Ｍａｎｕｆａｃｔｕｒｅ ａｎｄ Ｔｅｓｔｉｎｇ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｄｕｃｔｓ ｆｏｒ Ｈｕｍａｎ Ｕｓｅ」（ＦＤＡ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ ａｎｄ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、１９９７年２月２８日）に推奨されるように、正常なヒトおよびカニクイザルの組織との交差反応性を決定した。１ｕｇ／ｍＬでも５０ｕｇ／ｍＬでも正常な組織の染色は観察されなかった。

【０２９７】

上記の結果は、この抗体がヒトにおいて毒性作用を生成しないと予測されることを示唆する。

【図１Ａ】

Ab	可変軽鎖CDR		
	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A1 NA	CAAGGAGACAGCCTCAGAAGCTATTA TGCAAGC (配列番号 5)	GGTAAAAACTACCGGCCCTCA (配列番号 52)	AACTCCCGGGACAGAAGTGGTAACCATCTGGGTG TT (配列番号 97)
AA	QGDSLRSYYAS (配列番号 6)	GKNYRPS (配列番号 53)	NSRDRSGNHLV (配列番号 98)
A2 NA	CAAGGAGACAGCCTCAGAACCTATTA TGCAAGC (配列番号 7)	GATAAAAACAACCGGCCCTCA (配列番号 54)	AACTCCCGGGACAGCAGTGATAACCATCTAGTG GTAT (配列番号 99)
AA	QGDSLRTYYAS (配列番号 8)	DKNNRPS (配列番号 55)	NSRDSSDNHLVV (配列番号 100)
A3 NA	ACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGC AGGTTTTGATGTACAC (配列番号 9)	GATAACAACAATCGGCCCTCA (配列番号 56)	CAGTCCTATGACAGCAACCTGAGTGGTTCGATT GTGGTTTT (配列番号 101)
AA	TGSSSNIGAGFDVH (配列番号 10)	DNNNRPS (配列番号 57)	QSYDSNLSGSIVV (配列番号 102)
A4 NA	ACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGC AGGTTTTGATGTGCAC (配列番号 119)	GATAACAACAATCGGCCCTCA (配列番号 58)	CAGTCCTATGACAGCAACCTGAGTGGTTCGATT GTGGTAT (配列番号 103)
AA	TGSSSNIGAGFDVH (配列番号 10)	DNNNRPS (配列番号 57)	QSYDSNLSGSIVV (配列番号 102)
A5 NA	GGGGGAAACAACCTTGGAAGTAAAA GTGTGCAC (配列番号 +112)	GATGATAGCGACCGGCCCTCA (配列番号 59)	CAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGATCATGTGGTA T (配列番号 104)
AA	GGNNLGSKSVH (配列番号 +213)	DDSDRPS (配列番号 60)	QVWDSSSDHVV (配列番号 105)

FIGURE 1A

【図１Ｂ】

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A6 NA	TCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATA TGCTTGC (配列番号 +314)	CAAGATAAGAAGCGGCCCTC A (配列番号 61)	CAGGCGTGGGACAGCAGCACTGTGGTAT (配列番号 106)
AA	SGDKLGDKYAC (配列番号 +415)	QDKKRPS (配列番号 62)	QAWDSSTVV (配列番号 107)
A7 NA	TCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATA TGCTTGC (配列番号 +314)	CAAGATAACAAGCGGCCCTCA (配列番号 63)	CAGGCGTGGGACAGCACCACTGCGATAT (配列番号 108)
AA	SGDKLGDKYAC (配列番号 +415)	QKNKPRPS (配列番号 64)	QAWDSTTAI (配列番号 109)
A8 NA	TCTGGAGATAAATTGGGGGATAAATA TGCTTGC (配列番号 +314)	CAAGATAACAAGCGGCCCTCA (配列番号 63)	CAGGCGTGGGACAGCAGCACTGTGGTAT (配列番号 106)
AA	SGDKLGDKYAC (配列番号 +415)	QDNKRPS (配列番号 65)	QAWDSSTVV (配列番号 107)
A9 NA	CAAGGAGACAGCCTCAGAATCTTTTA TGCAAAC (配列番号 +516)	GGTAAAAACAACCGGCCCTCA (配列番号 66)	AACTCCCGGGACAGCAGTGGTAACCATGTGGTA T (配列番号 110)
AA	QGDSLRIFYAN (配列番号 +617)	GKNNRPS (配列番号 67)	NSRDSSGNHVV (配列番号 111)
A10 NA	CGGGCAAATCAGTACATTAGCACCTA TTTAAAT (配列番号 +218)	GCTGCATCCAGTTTGCAAAGT (配列番号 68)	CAGCAGAGCTACACTACCCCGATCACCT (配列番号 112)
AA	RANQYISTYLN (配列番号 +819)	AASSLQS (配列番号 69)	QQSYTTPIT (配列番号 113)
A11 NA	AAGTCCAGCCAGAGTGTTTTAAACAG CTCCAACAATAAGAACTACTTAGCT (配列番号 +920)	TGGACATCCACCCGGGAAGGC (配列番号 70)	CAGCAGTATTTTACTACTCCGTGGACGT (配列番号 114)
AA	KSSQSVLNSSNNKNYLA (配列番号 2021)	WTSTRES (配列番号 71)	QQYFTTPWT (配列番号 115)

FIGURE 1B

【図１Ｅ】

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A19.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGCCTCGTCTACAG TGATGGAGACACCTACTTGAAT （配列番号 3738）	AAGGTTTCTAACTGGGACTCT （配列番号 74）	ATGCAAGGTACACACTGGCCTCCGGCCT （配列番号 118）
AA	RSSQSLVYSDGDTYLN （配列番号 3839）	KVSNWDS （配列番号 75）	MQGTHWPPA （配列番号 119）
A19.2 NA	CGGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTG GTTAGCC （配列番号 2526）	AACACATCCAGTTTGCAAAGT （配列番号 76）	CAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTT （配列番号 120）
AA	RASQGLSSWLA （配列番号 2627）	NTSSLQS （配列番号 77）	QQANSFPLT （配列番号 121）
A20.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGCCTCGTCTACAG TGATGGAGACACCTACTTGAAT （配列番号 3738）	AAGGTTTCTAACTGGGACTCT （配列番号 74）	ATGCAAGGTACACACTGGCCTCCGGCCT （配列番号 118）
AA	RSSQSLVYSDGDTYLN （配列番号 3839）	KVSNWDS （配列番号 75）	MQGTHWPPA （配列番号 119）
A20.2 NA	CGGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTG GTTAGCC （配列番号 2526）	AACACATCCAGTTTGCAAAGT （配列番号 76）	CAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTT （配列番号 120）
AA	RASQGLSSWLA （配列番号 2627）	NTSSKQS （配列番号 86）	QQANSFPLT （配列番号 121）
A21 NA	ACTGGGAGCAGCTCCAACATTGGGGC GGGTTATGTTGTACAT （配列番号 40）	GGTAACAGCAATCGGCCCTCA （配列番号 87）	AAAGCATGGGATAACAGCCTGAATGCTCAAGG GGTAT （配列番号 126）
AA	TGSSSNIGAGYVVH （配列番号 41）	GNSNRPS （配列番号 88）	KAWDNSLNAQGV （配列番号 127）
A22 NA	AAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAA CTCCAACAATAAGAACTACTTAGCT （配列番号 42）	TGGGCTTCTACCCGGGAATCC （配列番号 89）	CAGCAATTTTATGGTCCTCCTCTCACTT （配列番号 128）
AA	KSSQSVLYNSNNKNYLA （配列番号 43）	WASTRES （配列番号 90）	QQFYGPPLT （配列番号 129）

FIGURE 1E

【図１Ｃ】

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A12 NA	CGGGCGAGTCAGGGTATTAGTAGCTG GTTAGCC （配列番号 2422）	ACTGCATCCAGTTTGCAAAGT （配列番号 72）	CAACAGGCTGACAGTTTCCCGCTCACTT （配列番号 116）
AA	RASQGISSWLA （配列番号 2223）	TASSLQS （配列番号 73）	QQADSFPLT （配列番号 117）
A13.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGCCTCGTCTACAG TGATGGAGACACCTACTTGAAT （配列番号 2324）	AAGGTTTCTAACTGGGACTCT （配列番号 74）	ATGCAAGGTACACACTGGCCTCCGGCCT （配列番号 118）
AA	RSSQSLVYSDGDTYLN （配列番号 2425）	KVSNWDS （配列番号 75）	MQGTHWPPA （配列番号 119）
A13.2 NA	CGGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTG GTTAGCC （配列番号 2526）	AACACATCCAGTTTGCAAAGT （配列番号 76）	CAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTT （配列番号 120）
AA	RASQGLSSWLA （配列番号 2627）	NTSSLQS （配列番号 77）	QQANSFPLT （配列番号 121）
A14.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGCCTCGTCTACAG TGATGGAAACACCTACTTGAAT （配列番号 2728）	AAGGTTTCTAACTGGGACTCT （配列番号 74）	ATGCAAGGTACACACTGGCCTCCGGCC （配列番号 122）
AA	RSSQSLVYSDGNTYLN （配列番号 2829）	KVSNWDS （配列番号 75）	MQGTHWPPA （配列番号 119）
A14.2 NA	CGGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTG GTTAGCC （配列番号 2526）	AACACATCCAGTTTGCAAAGT （配列番号 76）	CAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTT （配列番号 120）
AA	RASQGLSSWLA （配列番号 2627）	NTSSLQS （配列番号 77）	QQANSFPLT （配列番号 121）
A15.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGCCTCATATACAG TGATGGAAACACTTACTTGAAT （配列番号 2930）	AAGGTTTCTAACTGGGACTCT （配列番号 74）	ATGCAAGGTACACACTGGCCTCCGGCC （配列番号 122）
AA	RSSQSLIYSDGNTYLN （配列番号 3031）	KVSNWDS （配列番号 75）	MQGTHWPPA （配列番号 119）

FIGURE 1C

【図１Ｆ】

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A23 NA	TCTGGTGATAAATTGGGGGATAAATT TGCTTTC （配列番号 44）	CAAGATAGCAAGCGGCCCTCA （配列番号 91）	CAGGCGTGGGACAGCAGCGCCGGGGGGGTA （配列番号 130）
AA	SGDKLGDKFAF （配列番号 45）	QDSKRPS （配列番号 92）	QAWDSSAGGV （配列番号 131）
A24 NA	CAAGGAGACAGCCTCAGAAGCTATCA TGCAAGC （配列番号 46）	GGTGAAAACAACCGGCCCTCA （配列番号 93）	AATTATCGGGACAACAGTGGTAACCATCTGGTG T （配列番号 132）
AA	OGDSLRSYHAS （配列番号 47）	GENNRPS （配列番号 94）	NYRDNSGNHLV （配列番号 133）
A25 NA	AAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATACAA CTCCAACAATAAGAACTACTTAGCT （配列番号 42）	TGGGCTTCTACCCGGGAATCC （配列番号 89）	CAGCAATTTTATGGTCCTCCTCTCACTT （配列番号 128）
AA	KSSQSVLYNSNNKNYLA （配列番号 43）	WASTRES （配列番号 90）	QQFYGPPLT （配列番号 129）
A26 NA	TCTGGAGATAATTTGGGGGATAAATA TATTTGC （配列番号 48）	CAAGATAACAAGCGGCCCTCA （配列番号 63）	CAGGCGTGGGACAGCAGCACTGTGGTAT （配列番号 106）
AA	SGDNLGDKYIC （配列番号 49）	QDNKRPS （配列番号 65）	QAWDSSTVV （配列番号 107）
A27 NA	TCTGGAGATAAATTGGGGGAAAGCTA TGCTTGC （配列番号 50）	CAAGATTACAAGCGGCCCTCA （配列番号 95）	CAGGCGTGGGACAGAAGTACTGTACTAT （配列番号 134）
AA	SGDKLGESYAC （配列番号 51）	QDYKRPS （配列番号 96）	QAWDRSTVL （配列番号 135）

FIGURE 1F

【図１Ｄ】

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A15.2 NA	CGGGCGAGTCAGGGTCTTAGCAGCTG GTTAGCC （配列番号 2526）	ACTACATCCAGTTTGCAAAGT （配列番号 78）	CAACAGGCTGACAGTTTCCCTCTCACTT （配列番号 123）
AA	RASQGLSSWLA （配列番号 2627）	TTSSLQS （配列番号 79）	QQADSFPLT （配列番号 117）
A16.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGCCTCGTATACAG TGATGGAAACACCTACTTGAAT （配列番号 3132）	AAGGTTTCTTACTGGGACTCT （配列番号 80）	ATGCAAGGTACACACTGGCCTCCGGCCT （配列番号 118）
AA	RSSQSLVYSDGNTYLN （配列番号 3233）	KVSYWDS （配列番号 81）	MQGTHWPPA （配列番号 119）
A16.2 NA	CGGGCGAGTCAGAGTCTTAGCAGCTG GTTAGCC （配列番号 3334）	AATGCATCCAGTTTGCAAAGT （配列番号 82）	CAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTT （配列番号 120）
AA	RASQSLSSWLA （配列番号 3435）	NASSLQS （配列番号 83）	QQANSFPLT （配列番号 121）
A-17 NA	GGCTTGAACTCTGGCTCAGTCTCTACT AGTTACTTCCCCAGC （配列番号 3536）	AGCACAAACAGTCGCTCTTCT （配列番号 84）	GTGCTGTATATGGGTAGAGGCATTTGGGTGT （配列番号 124）
AA	GLNSGSVSTSYFPS （配列番号 3637）	STNSPSS （配列番号 85）	VLYMGRGIWV （配列番号 125）
A18.1 NA	AGGTCTAGTCAAAGCCTCGTATACAG TGATGGAAACACCTACTTGAAT （配列番号 3132）	AAGGTTTCTTACTGGGACTCT （配列番号 80）	ATGCAAGGTACACACTGGCCTCCGGCCT （配列番号 118）
AA	RSSQSLVYSDGNTYLN （配列番号 3233）	KVSYWDS （配列番号 81）	MQGTHWPPA （配列番号 119）
A18.2 NA	CGGGCGAGTCAGAGTCTTAGCAGCTG GTTAGCC （配列番号 3334）	AATGCATCCAGTTTGCAAAGT （配列番号 82）	CAACAGGCTAACAGTTTCCCTCTCACTT （配列番号 120）
AA	RASQSLSSWLA （配列番号 3435）	NASSLQS （配列番号 83）	QQANSFPLT （配列番号 121）

FIGURE 1D

(92) JP 2010-538608 A 2010.12.16

【図２Ａ】

可変重鎖CDR

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A1 NA	AACTATGGCATGCAC （配列番号：136）	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 164）	CTAGTGGGAGCTACCAACTACTACGGTATGGACGTC （配列番号 203）
AA	NYGMH （配列番号：137）	VIWYDGSNKYYADSVKG （配列番号 165）	LVGATNYYGMDV （配列番号 204）
A2 NA	GATTTTACCATGCAC （配列番号：138）	CTTATTAGTTGGGATGGTGGTAG CACATACTATGCAGACTCTGTGA AGGGC （配列番号 166）	CCTTACTACTACTTCTACGGTATGGACGTC （配列番号 205）
AA	DFTMH （配列番号 139）	LISWDGGSTYYADSVKG （配列番号：167）	PYYYFYGMDV （配列番号：206）
A3 NA	GACTACTATATGTAC （配列番号 140）	TGGATCAACCCTAACAGTGGTGG CACAAACTATGTACAGAAGTTTC AGGGC （配列番号 168）	GATGGGGGTAGCAGTGGCTGGCCCCTCTTTGCCTAC （配列番号：207）
AA	DYYMY （配列番号 141）	WINPNSGGTNYVQKFQG （配列番号 169）	DGGSSGWPLFAY （配列番号 208）
A4 NA	GGCGACTATATGCAC （配列番号 142）	TGGATCAACCCTAACAGTGGTGG CACAAACCATGCACGGAAGTTTC AGGGC （配列番号 170）	GATAGGGGTACCAGTGGCTGGCCACTCTTTGACTAT （配列番号 209）
AA	GDYMH （配列番号 143）	WINPNSGGTNHARKFQG （配列番号 171）	DRGTSGWPLFDY （配列番号 210）

FIGURE 2A

【図２Ｂ】

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A5 NA	ACCTATGGCATGCAC （配列番号 144）	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TAAACACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 172）	GCCCCTCAGTGGGAGCTAGTTCATGAAGCTTTTGATATC （配列番号 211）
AA	TYGMH （配列番号 145）	VIWYDGSNKHYADSVKG （配列番号 173）	APQWELVHEAFDI （配列番号 212）
A6 NA	AGCTATGGCATTCAC （配列番号 146）	GTTATATCATATGATGGAAGTTA TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 174）	GGGGACTCCTGGAACGACAGATTAAACTACTACTTCTACG ATATGGACGTC （配列番号 213）
AA	SYGIH （配列番号 147）	VISYDGSYKYYADSVKG （配列番号 175）	GDSWNDRLNYYFYDMDV （配列番号 214）
A7 NA	AGTGGTGGTTACTACTG GAGC （配列番号 148）	TTCATCCATTACAGTGGGACCAC CTACTACAACCCGTCCCTCAAGA GT （配列番号 176）	GAAGTTGGCAGCTCGTCGGGTAACTGGTTCGACCCC （配列番号 215）
AA	SGGYYWS （配列番号 149）	FIHYSGTTYYNPSLKS（配列番号 177）	EVGSSSGNWFDP （配列番号 216）
A8 NA	AGCTATGGCATTCAC （配列番号 146）	GTTATATCATATGATGGAAGTAA TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 178）	GGGGACTCCTGGAACGACAGATTAAACTACTACTTCTACG ATATGGACGTC （配列番号 213）
AA	SYGIH （配列番号 147）	VISYDGSNKYYADSVKG （配列番号 179）	GDSWNDRLNYYFYDMDV （配列番号 214）
A9 NA	AGCTATGGCATGCAC （配列番号 150）	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TACATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 180）	GAGGTCCGGGCGTATAGCAGTGGCTGGTACGCCGCCTTTG ACTAC （配列番号 217）
AA	SYGMH （配列番号 151）	VIWYDGSNTYYADSVKG （配列番号 181）	EVRAYSSGWYAAFDY （配列番号 218）

FIGURE 2B

【図２Ｃ】

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A10 NA	AGTTATGGCATGCAC （配列番号 152）	GTTATATGGTATGATGGAAGTAG TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 182）	GTAAGAAGTGGGAGCTACTACGAACAGTATTACTACGGTA TGGACGTC （配列番号 219）
AA	SYGMH （配列番号 151）	VIWYDGSSKYYADSVKG （配列番号 183）	VRSGSYYEQYYYGMDV （配列番号 220）
A11 NA	AGTTATAGCATGAAC （配列番号 153）	TACATTAGTGGTCGTACTAGTAG CGTATACTACGCAGACTCTGTGA AGGGC （配列番号 184）	AGTGGGATCTACTACGACTACTACGGTATGGACGTC （配列番号 221）
AA	SYSMN （配列番号 154）	YISGRTSSVYYADSVKG （配列番号 185）	SGIYYDYYGMDV （配列番号 222）
A12 NA	AGCTATGGCATGCAC （配列番号 150）	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 164）	GGGGCAGCCACTGCTATAGATTACTACTACTCCTACGGTA TGGACGTC （配列番号 223）
AA	SYGMH （配列番号 151）	VIWYDGSNKYYADSVKG （配列番号 165）	GAATAIDYYYSYGMDV （配列番号：224）
A13 NA	AGCTATGGCATGCAC （配列番号 150）	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 164）	GGGGGGGGTATACCAGTAGCTGACTACTACTACTACGGTA TGGACGTC （配列番号 225）
AA	SYGMH （配列番号 151）	VIWYDGSNKYYADSVKG （配列番号 165）	GGGIPVADYYYYGMDV （配列番号 226）
A14 NA	AGCTATGGCATGCAC （配列番号 150）	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 164）	GGGGGGGGTATACCAGTAGCTGACTACTACTACTACGGTA TGGACGTC （配列番号 225）
AA	SYGMH （配列番号 151）	VIWYDGSNKYYADSVKG （配列番号 165）	GGGIPVADYYYYGMDV （配列番号 226）

FIGURE 2C

【図２Ｄ】

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A15 NA	AACTATGGCATGCAC （配列番号 136）	GTTATATGGTTTGATGGAAGTAA TAAATACTATGCGGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 186）	GGGGGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTTCTACGGTA TGGACGTC （配列番号 227）
AA	NYGMH （配列番号 137）	VIWFDGSNKYYADSVKG （配列番号 187）	GGGIAVADYYFYGMDV （配列番号 228）
A16 NA	AACTATGGCATGCAC （配列番号 136）	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 164）	GGGGGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTACTACGGTA TGGACGTC （配列番号 229）
AA	NYGMH （配列番号 137）	VIWYDGSNKYYADSVKG （配列番号 165）	GGGIAVADYYYYGMDV （配列番号 230）
A17 NA	AGTTATGGCATGCTC （配列番号 155）	GTTTTATGGTTTGATGGAAGTTA TAAAAACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 188）	GATAGTACAACTATGGCCCACTTTGACTAC （配列番号 231）
AA	SYGML （配列番号 156）	VLWFDGSYKNYADSVKG （配列番号 189）	DSTTMAHFDY （配列番号 232）
A18 NA	AACTATGGCATGCAC （配列番号 136）	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 164）	GGGGGGGGTATAGCAGTGGCTGACTACTACTACTACGGTA TGGACGTC （配列番号 229）
AA	NYGMH （配列番号 137）	VIWYDGSNKYYADSVKG （配列番号 165）	GGGIAVADYYYYGMDV （配列番号 230）
A19 NA	AGCTATGGCATGCAC （配列番号 150）	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC （配列番号 164）	GGGGGGGGTATACCAGTAGCTGACTACTACTACTACGGTA TGGACGTC （配列番号 225）
AA	SYGMH （配列番号 151）	VIWYDGSNKYYADSVKG （配列番号 165）	GGGIPVADYYYYGMDV （配列番号 226）

FIGURE 2D

(93) JP 2010-538608 A 2010.12.16

【図２Ｅ】

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A20 NA	AGCTATGGCATGCAC (配列番号 150)	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TAAATACTATGCAGACTCCGTGA AGGGC (配列番号 164)	GGGGGGGGTATACCAGTAGCTGACTACTACTACTACGGTA TGGACGTC (配列番号 225)
AA	SYGMH (配列番号 151)	VIWYDGSNKYYADSVKG	GGGIPVADYYYYGMDV (配列番号 226)
A21 NA	AGCTATGCCATGAGC (配列番号 157)	GCAATTATGGTATGTGGTGGAA GTACACACTACGCAGACTCCGTG AAGGGC (配列番号 190)	GATCTCAACTGGGGAGCTTTTGATATC (配列番号 233)
AA	SYAMS (配列番号 158)	AISGSGGSTHYADSVKG (配列番号 191)	DLNWGAFDI (配列番号 234)
A22 NA	GGCTATGTCATGACT (配列番号 159)	GGAATTAGTGGTAGTGGTGGTA GCACATACTACGCAGACTCCGTG AAGGGC (配列番号 192)	GGAGACAGCTCGAACTACTACTCCGGTATGGACGTC (配列番号 235)
AA	GYVMT (配列番号 160)	GISGSGGSTYYADSVKG (配列番号 193)	GDSSNYYSGMDV (配列番号 236)
A23 NA	GGCTACTATATGCAC (配列番号 161)	TGGATCAACCCTAACAATGGTGG CACAAACTATGGACAGAAGTTTC AGGGC (配列番号 194)	GGGAACTGGAACGACGATGCTTTTGATATC (配列番号 237)
AA	GYYMH (配列番号 162)	WINPNNGGTNYGQKFQG (配列番号 195)	GNWNDDAFDI (配列番号 238)
A24 NA	AGCTATGGCATGCAC (配列番号 150)	GTTATATGGTATGATGGAAGTAA TAAATACTATGTAGACTCCGTGA AGGGC (配列番号 196)	ATGGGGTTTACTATGGTTCGGGGAGCCCTCTACTACGGTA TGGACGTC (配列番号 239)
AA	SYGMH (配列番号 151)	VIWYDGSNKYYVDSVKG (配列番号 197)	MGFTMVRGALYYGMDV (配列番号 240)

FIGURE 2E

【図２Ｆ】

Ab	CDR 1	CDR 2	CDR 3
A25 NA	AGCTATGCCATGAGC (配列番号 157)	GCTATTAGTCGTAGTGGTAGTAC CACATACTACGCAGACTCCGTGA AGGGC (配列番号 198)	CCGAGATATTTTGACTGGTTATTAGGCGAC (配列番号 241)
AA	SYAMS (配列番号 158)	AISRSGSTYYADSVKG (配列番号 199)	RPYFDWLLGD (配列番号 242)
A26 NA	AGCTATGGCATGCAC (配列番号 150)	GTTAAATGGTATGAAGGAAGTA ATAAATACTATGGAGACTCCGTG AAGGGC (配列番号 200)	GGCGCCCACGACTACGGTGACTTCTACTACGGTATGGACG TC (配列番号 243)
AA	DFTMH (配列番号 163)	LISWDGGSTYYADSVKG (配列番号 167)	PYYYFYGMDV (配列番号 206)
A27 NA	AGCTATGCCATGAGC (配列番号 157)	GCTATTAGTTATAGTGGCGGTAG CACATACTACGCAGGCTCCGTGA AGGGC (配列番号 201)	GATCGGGAGGGAGCGACTTGGTACTACGGTATGGACGTC (配列番号 244)
AA	SYAMS (配列番号 158)	AISYSGGSTYYAGSVKG (配列番号 202)	DREGATWYYGMDV (配列番号 245)

FIGURE 2F

【配列表】

2010538608000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/010510

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/24 A61K39/395

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)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/096149 A (NOVARTIS AG [CH]; NOVARTIS PHARMA GMBH [AT]; BARDROFF MICHAEL [DE]; ED) 30 August 2007 (2007-08-30) the whole document	1-21, 24-63
X	WO 2005/007186 A (SCHERING CORP [US]; OFT MARTIN [US]) 27 January 2005 (2005-01-27) page 8-, paragraph 33 - page 10, paragraph 39	1-21, 24-63

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] 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
"E" earlier document 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	Date of mailing of the international search report
26 January 2009	03/02/2009

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Kalsner, Inge

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/010510

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ALLAKHVERDI ZOULFIA ET AL: "Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potently activates mast cells" JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, vol. 204, no. 2, February 2007 (2007-02), pages 253-258, XP002511407 ISSN: 0022-1007 the whole document	
A	SOUMELIS ET AL: "Human epithelial cells trigger dendritic cell-mediated allergic inflammation by producing TSLP" NATURE IMMUNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 3, no. 7, 1 July 2002 (2002-07-01), pages 673-680, XP002979520 ISSN: 1529-2908 the whole document	

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2008/010510

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.: 22,23
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:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
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 additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.

2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an 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 reportcovers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 22,23

Claims 22 and 23 relate to antigen binding proteins which are defined by reference to a desirable characteristic or property (cross-competing with antibody A1-A27).

The claims thus cover a large number of products, whereas the application provides no support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT for any such products. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible.

Moreover, the claims also lack clarity (Article 6 PCT) insofar as the product is defined by reference to a result to be achieved. Furthermore, reference to antibodies by arbitrary numbers is meaningless and unclear. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible.

Consequently, no search has been carried out for claims 22 and 23.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.2), should the problems which led to the Article 17(2)PCT declaration be overcome.

International Application No. PCT/US2008/010510

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

The present set of claims is considered to lack unity because the various antigen binding proteins are not linked so as to f17orm a single and inventive concept. the common feature of the various antibodies/binding proteins claimed can be seen in the fact that all are binding to TSLP. Antibodies specific for TSLP are, however, known in the art (e.g. WO 07 096149). Such common feature is thus not novel and the present application falls apart in different inventions, each invention relating to groups of antibodies wherein each group is represented by one individual antibody A1-A27.
As search of the present application could be carried out without undue effort, the ISA chose not to invite the applicant to restrict or pay additional examination fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2008/010510

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007096149 A	30-08-2007	AR 059867 A1	07-05-2008
		AU 2007218165 A1	30-08-2007
		CA 2638851 A1	30-08-2007
		CL 4782007 A1	14-03-2008
		EP 1991583 A1	19-11-2008
WO 2005007186 A	27-01-2005	AT 407691 T	15-09-2008
		AU 2004257781 A1	27-01-2005
		CA 2532595 A1	27-01-2005
		DK 1651247 T3	12-01-2009
		EP 1651247 A1	03-05-2006
		JP 2007534623 T	29-11-2007
		JP 2007314547 A	06-12-2007
		MX PA06000659 A	30-03-2006

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		テーマコード（参考）
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N 5/00	101	
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12N 5/00	102	
A61K 39/395	*(2006.01)*	C12P 21/08		
A61P 11/06	*(2006.01)*	A61K 39/395	D	
A61P 11/02	*(2006.01)*	A61K 39/395	N	
A61P 27/02	*(2006.01)*	A61P 11/06		
A61P 37/08	*(2006.01)*	A61P 11/02		
A61P 17/04	*(2006.01)*	A61P 27/02		
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P 37/08		
A61P 11/00	*(2006.01)*	A61P 17/04		
A61P 1/16	*(2006.01)*	A61P 17/00		
		A61P 11/00		
		A61P 1/16		

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

(74)代理人 100107386
弁理士 泉谷 玲子
(72)発明者 カメオー, マイケル アール.
アメリカ合衆国 ワシントン ９８１１０, ベインブリッジ アイランド, ハイ スクール ロード エヌイー １０４４
(72)発明者 スモーザーズ, ジェームズ エフ.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１６９, クインシー, ヒルトップ ストリート ５０
(72)発明者 ヨン, ボーリン ピー.
アメリカ合衆国 ワシントン ９８１７７, シアトル, ３アールディー アベニュー ノース ウエスト １３７２８
(72)発明者 メーリン, クリストファー
アメリカ合衆国 ワシントン ９８１０７, シアトル, エヌダブリュー ６１エスティー ストリート ２８０６

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA56 CA04 DA02 EA04 GA13 GA14 HA14
4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA01
4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA90X AA92X AA93Y AB01 AC14 BA02 BA03 BA05 BB08 BB12 BB25 BB37 CA25 CA44
4C085 AA13 AA14 AA16 BB17 BB41 BB43 CC02 CC22 DD33 DD62 DD88 EE01
4H045 AA11 DA76 EA20 FA74