

(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2017-510285

(P2017-510285A)

(43) 公表日 平成29年4月13日 (2017.4.13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
AO 1 K 67/027 (2006.01)	AO 1 K 67/027	4 B O 6 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 N 5/0735 (2010.01)	C 1 2 N 5/0735	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	
C 1 2 N 15/00 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 44 頁)		

(21) 出願番号 特願2016-561676 (P2016-561676)
 (86) (22) 出願日 平成27年4月8日 (2015.4.8)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年10月7日 (2016.10.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/024920
 (87) 国際公開番号 W02015/157415
 (87) 国際公開日 平成27年10月15日 (2015.10.15)
 (31) 優先権主張番号 61/977,037
 (32) 優先日 平成26年4月8日 (2014.4.8)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 597160510
 リジェネロン・ファーマシューティカルズ
 ・インコーポレイテッド
 REGENERON PHARMACEU
 TICALS, INC.
 アメリカ合衆国10591-6707ニュ
 ヨーク州タリータウン、オールド・ソー
 ・ミル・リバー・ロード777番
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト化Fcγ受容体を有する非ヒト動物

(57) 【要約】

遺伝子組み換えマウス、並びに、それを作製し使用する方法及び構成が提供され、このとき遺伝子改変は、FcγRIタンパク質のヒト化を含む。ヒトFcγRIα鎖の細胞外部分と、マウスFcγRIα鎖の細胞内部分と、を含む、FcγRIタンパク質を発現するマウス。マウスFcγRIタンパク質の細胞内部分をコードするマウスFcγRI遺伝子の少なくとも1つのエクソンに機能的に連結される、ヒトFcγRIタンパク質の細胞外部分をコードするヒトFcγRI遺伝子の少なくとも1つのエクソンを含む、FcγRI遺伝子を含むマウス。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒト F c γ R I α 鎖の細胞外部分と、マウス F c γ R I α 鎖の細胞内部分と、を含む、F c γ R I タンパク質を発現するマウス。

【請求項 2】

前記ヒト F c γ R I α 鎖の細胞外部分が、E C 1 ドメイン、E C 2 ドメイン、E C 3 ドメイン、又はこれらの組み合わせを含む、請求項 1 に記載のマウス。

【請求項 3】

前記 E C 1 ドメインが、配列番号 3 のエクソン 3 と少なくとも 90 % 同一であるエクソンによってコードされている、請求項 2 に記載のマウス。

【請求項 4】

前記 E C 2 ドメインが、配列番号 3 のエクソン 4 と少なくとも 90 % 同一であるエクソンによってコードされている、請求項 2 に記載のマウス。

【請求項 5】

前記 E C 3 ドメインが、配列番号 3 のエクソン 5 と少なくとも 90 % 同一であるエクソンによってコードされている、請求項 2 に記載のマウス。

【請求項 6】

前記マウスが、全長マウス F c γ R I α 鎖を検出可能に発現しない、請求項 1 に記載のマウス。

【請求項 7】

前記 F c γ R I α 鎖の細胞内部分が、マウス F c γ R I α 鎖の細胞質ドメインの全体又は一部を含む、請求項 1 に記載のマウス。

【請求項 8】

前記 F c γ R I タンパク質が、マウス F c γ R I α 鎖膜貫通ドメインの全体又は一部を更に含む、請求項 1 に記載のマウス。

【請求項 9】

前記 F c γ R I タンパク質が、配列番号 5 と少なくとも 90 % 同一である F c γ R I α 鎖のアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載のマウス。

【請求項 10】

前記 F c γ R I タンパク質が、単球、マクロファージ、好中球、又は樹状細胞に発現されている、請求項 1 に記載のマウス。

【請求項 11】

前記 F c γ R I タンパク質の発現が、マウス顆粒球コロニー刺激因子 (m G - C S F) を前記マウスに投与すると上昇する、請求項 10 に記載のマウス。

【請求項 12】

マウス F c γ R I タンパク質の細胞内部分をコードするマウス F c γ R I 遺伝子の少なくとも 1 つのエクソンに機能的に連結される、ヒト F c γ R I タンパク質の細胞外部分をコードするヒト F c γ R I 遺伝子の少なくとも 1 つのエクソンを含む、F c γ R I 遺伝子を含むマウス。

【請求項 13】

前記ヒト F c γ R I 遺伝子のエクソンがエクソン 3、4、及び 5 からなる群から選択される、請求項 12 に記載のマウス。

【請求項 14】

前記マウスが機能性マウス F c γ R I 遺伝子を発現しない、請求項 12 に記載のマウス。

【請求項 15】

そのゲノムが、ヒト F c γ R I タンパク質の細胞外部分及びマウス F c γ R I タンパク質の細胞内部分をコードする F c γ R I 遺伝子を含む、胚幹細胞。

【請求項 16】

前記 F c γ R I 遺伝子が、ヒト F c γ R I 遺伝子のエクソン 3、4、及び 5 を含む、請

10

20

30

40

50

求項 15 に記載の細胞。

【請求項 17】

前記 F c y R I 遺伝子が、ヒトエクソン 1 に隣接する 1 つ又は 2 つ以上のヒト 5' 非翻訳領域を更に含む、請求項 15 に記載の細胞。

【請求項 18】

前記ヒト F c y R I タンパク質の細胞外部分が、E C 1、E C 2、及び E C 3 のうち 1 つ又は 2 つ以上を含む、請求項 15 に記載の細胞。

【請求項 19】

配列番号 5 と少なくとも 90 % 同一である F c y R I α 鎖のアミノ酸配列を含む、請求項 15 に記載の細胞。

10

【請求項 20】

前記 F c y R I 遺伝子が、マウス F c y R I 遺伝子のエクソン 6 を含む、請求項 15 に記載の細胞。

【請求項 21】

前記マウス F c y R I タンパク質の細胞内部分が、マウス F c y R I タンパク質の細胞質ドメインの全体又は一部を含む、請求項 15 に記載の細胞。

【請求項 22】

前記 F c y R I 遺伝子が、内在性 F c y R I 遺伝子座に位置される、請求項 15 に記載の細胞。

【請求項 23】

請求項 15 に記載の胚幹から発生する、マウス胚。

20

【請求項 24】

ヒト F c y R I タンパク質の細胞外部分と、マウス F c y R I タンパク質の細胞内部分と、を含む、F c y R I タンパク質を発現するマウスを作製する方法であって、

(a) 請求項 15 に記載のマウス胚幹細胞を得る工程と、

(b) (a) の胚細胞を用いてマウスを作製する工程と、を含む、方法。

【請求項 25】

ヒト F c y R I α 鎖の細胞外部分と、マウス F c y R I α 鎖の細胞内部分と、を含む、F c y R I タンパク質を発現するように、マウスを遺伝子組み換えすることを含む、マウスの作製方法。

30

【請求項 26】

前記ヒト F c y R I α 鎖の細胞外部分が、E C 1 ドメイン、E C 2 ドメイン、E C 3 ドメイン、又はこれらの組み合わせを含むように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記 E C 1 ドメインが、配列番号 3 のエクソン 3 と少なくとも 90 % 同一であるエクソンによってコードされるように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記 E C 2 ドメインが、配列番号 3 のエクソン 4 と少なくとも 90 % 同一であるエクソンによってコードされるように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 26 に記載の方法。

40

【請求項 29】

前記 E C 3 ドメインが、配列番号 3 のエクソン 5 と少なくとも 90 % 同一であるエクソンによってコードされるように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 30】

前記マウスが、全長マウス F c y R I α 鎖を検出可能に発現しないように、遺伝子組み換えされている、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 31】

50

前記 F c γ R I α 鎖の細胞内部分が、マウス F c γ R I α 鎖の細胞質ドメインの全体又は一部を含むように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 32】

前記 F c γ R I タンパク質が、マウス F c γ R I α 鎖膜貫通ドメインの全体又は一部を更に含むように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 33】

前記 F c γ R I タンパク質が、配列番号 5 と少なくとも 90 % 同一である F c γ R I α 鎖のアミノ酸配列を含むように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 25 に記載の方法。

10

【請求項 34】

前記 F c γ R I タンパク質が、単球、マクロファージ、好中球、又は樹状細胞に発現されるように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 35】

前記 F c γ R I タンパク質の発現が、マウス顆粒球コロニー刺激因子 (m G - C S F) を前記マウスに投与すると上昇するように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

マウスが、マウス F c γ R I タンパク質の細胞内部分をコードするマウス F c γ R I 遺伝子の少なくとも 1 つのエクソンに機能的に連結される、ヒト F c γ R I タンパク質の細胞外部分をコードするヒト F c γ R I 遺伝子の少なくとも 1 つのエクソンを含む、 F c γ R I 遺伝子を前記マウスのゲノムに含ませるために遺伝子組み換えされている、マウスの作製方法。

20

【請求項 37】

前記ヒト F c γ R I 遺伝子のエクソンがエクソン 3、4、及び 5 からなる群から選択されるように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

前記マウスが機能性マウス F c γ R I 遺伝子を発現しないように、前記マウスが遺伝子組み換えされている、請求項 36 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

(関連出願)

本出願は、2014 年 4 月 8 日出願の米国特許仮出願第 61 / 977 , 037 号の利益と優先権を主張するものであり、その全体を参照することによって本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

F c 受容体 (F c R) は、哺乳類において免疫系の様々な機能を実行する、免疫系細胞の表面にあるタンパク質である。F c R は、様々な種類の様々な細胞上に存在し、例えば、感染細胞又は侵入病原体に付いている抗体への結合、抗体媒介性食作用又は抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 (A D C C) によって、微生物又は感染細胞を破壊するための食細胞又は細胞傷害性細胞の刺激といった、様々な免疫機能を媒介する。

40

【0003】

A D C C は、免疫系のエフェクター細胞が、抗体によって結合された標的細胞を溶解するプロセスである。このプロセスは、外来抗原又は細胞に事前に曝露された結果、抗体反応が生じることによるものである。A D C C は、外来抗原又は細胞に結合される抗体自身の F c 領域に、エフェクター細胞の表面に発現する F c R が結合することにより、例えば、ナチュラルキラー (N K) 細胞などのエフェクター細胞を介して媒介され得る。高親和性 F c γ R 1 受容体シグナルは、免疫系の制御及びエフェクター細胞の機能において重要

50

な役割を果たしている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明は、ヒトでは実施できなかったヒト免疫エフェクター応答に対する実験を可能にするため、マウスなど非ヒト動物を遺伝子操作し、ヒト又はハイブリッドFcγRIタンパク質を発現させるのに望ましい、認識を包含する。

【0005】

また本発明は、内在性マウスFcγRI遺伝子をヒト化（ヒト又はハイブリッド）FcγRI遺伝子と置換するのに望ましい、認識も包含する。

10

【0006】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヒトFcγRIα鎖の細胞外部分と、マウスFcγRIα鎖の細胞内部分と、を含む、FcγRIタンパク質を発現するマウスを提供する。いくつかの実施形態では、ヒトFcγRIα鎖の細胞外部分は、EC1ドメイン、EC2ドメイン、EC3ドメイン、又はこれらの組み合わせを含む。

【0007】

いくつかの実施形態では、EC1ドメインは、配列番号3のエクソン3に、少なくとも50%、70%、85%、90%又は95%同一であるエクソンによってコードされる。

【0008】

いくつかの実施形態では、EC2ドメインは、配列番号3のエクソン4に、少なくとも50%、70%、85%、90%又は95%同一であるエクソンによってコードされる。

20

【0009】

いくつかの実施形態では、EC3ドメインは、配列番号3のエクソン5に、少なくとも50%、70%、85%、90%又は95%同一であるエクソンによってコードされる。

【0010】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヒトFcγRIα鎖の細胞外部分と、マウスFcγRIα鎖の細胞内部分と、を含む、FcγRIタンパク質を発現するマウスを提供し、このときマウスは、全長マウスFcγRIα鎖を検出可能に発現しない。いくつかの実施形態では、FcγRIα鎖の細胞内部分は、マウスFcγRIα鎖の細胞質ドメインの全体又は一部を含む。いくつかの実施形態では、マウスは、マウスFcγRIα鎖の膜貫通ドメインの全体又は一部を含む、FcγRIα鎖を更に発現する。

30

【0011】

いくつかの実施形態では、本発明は、配列番号5に、少なくとも70%、85%、90%、又は95%同一であるFcγRIα鎖アミノ酸配列を発現するマウスを提供する。いくつかの実施形態では、ヒト又はハイブリッドFcγRIタンパク質は、単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、及び/又はこれらの組み合わせ上に検出可能に発現する。

【0012】

いくつかの実施形態では、ヒトFcγRIタンパク質レベルは、マウス顆粒球コロニー刺激因子（mG-CSF）の投与によって上昇する。いくつかの実施形態では、マウスFcγRIタンパク質レベルは、マウス顆粒球コロニー刺激因子（mG-CSF）の投与によって、単球、好中球、又は樹状細胞中で上昇しない。

40

【0013】

いくつかの実施形態では、本発明は、マウスFcγRI遺伝子の1つ又は2つ以上のエクソンに機能的に連結されるヒトFcγRI遺伝子の1つ又は2つ以上のエクソンを含む、FcγRI遺伝子を発現するマウスを提供する。いくつかの実施形態では、ヒトFcγRI遺伝子のエクソンは、ヒトFcγRIタンパク質の1つ又は2つ以上の細胞外部分をコードする。いくつかの実施形態では、マウスFcγRI遺伝子のエクソンは、マウスFcγRIタンパク質の1つ又は2つ以上の細胞内部分をコードする。いくつかの実施形態では、ヒトFcγRIのエクソンは、エクソン3、4、5、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。

50

【 0 0 1 4 】

いくつかの実施形態では、マウス F c y R I の細胞内部分は、1 つ又は 2 つ以上のマウス細胞内シグナルカスケードに機能的に連結される。

【 0 0 1 5 】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヒト F c y R I を発現するマウスを提供し、このときマウスの生殖系細胞は、機能性マウス F c y R I 遺伝子を欠く。いくつかの実施形態では、本発明は、ヒト F c y R I を発現するマウスを提供し、このときマウスの生殖系細胞は、全てのマウス F c y R I 遺伝子を欠く。

【 0 0 1 6 】

いくつかの実施形態では、本発明は、そのゲノムが、ヒト F c y R I タンパク質の細胞外部分及びマウス F c y R I タンパク質の細胞内部分をコードする F c y R I 遺伝子を含む、胚幹細胞を提供する。いくつかの実施形態では、F c y R I 遺伝子は、ヒト F c y R I 遺伝子のエクソン 3、4、及び 5 を含む。いくつかの実施形態では、F c y R I 遺伝子は、1 つ又は 2 つ以上のヒト 5' 非翻訳領域に隣接するヒトエクソン 1 を更に含む。いくつかの実施形態では、ヒト F c y R I タンパク質の細胞外部分は、E C 1、E C 2、及び E C 3 のうち 1 つ又は 2 つ以上を含む。

10

【 0 0 1 7 】

いくつかの実施形態では、本発明は、そのゲノムが、配列番号 5 に、少なくとも 7 0 %、8 5 %、9 0 %、又は 9 5 % 同一である F c y R I α 鎖アミノ酸配列を含む、胚幹細胞を提供する。

20

【 0 0 1 8 】

いくつかの実施形態では、胚幹細胞は、マウス F c y R I 遺伝子のエクソン 6 のアミノ酸残基を含む、F c y R I 遺伝子を含む。いくつかの実施形態では、マウス F c y R I タンパク質の細胞内部分は、マウス F c y R I タンパク質の細胞質ドメインの全体又は一部を含む。

【 0 0 1 9 】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヒト F c y R I 遺伝子を含む胚幹細胞を提供し、このときヒト F c y R I 遺伝子は、自然界で見られるマウスゲノム中に現れる、内在性 F c y R I の座に位置する。

【 0 0 2 0 】

いくつかの実施形態では、本発明は、本明細書に記載されるように胚幹から発生する、マウス胚を提供する。

30

【 0 0 2 1 】

いくつかの実施形態では、本発明は、トランスジェニックマウスの作製のための、本明細書に記載されるマウス胚幹細胞の使用を提供する。

【 0 0 2 2 】

いくつかの実施形態では、ヒト F c y R I タンパク質の細胞外部分と、マウス F c y R I タンパク質の細胞内部分と、を含む、F c y R I タンパク質を発現するマウスの作製方法が開示され、この方法は、(a) マウス胚幹細胞を得る工程と、(b) 胚細胞において、内在性マウス F c y R I 遺伝子を、ヒト細胞外領域を有するヒト F c y R I タンパク質の一部をコードする核酸分子を含むゲノム断片で置換する工程と、(c) (b) の胚細胞を用いてマウスを作製する工程と、を含む。

40

【 0 0 2 3 】

いくつかの実施形態では、本発明は、ヒト細胞外領域を有するヒト F c y R I タンパク質の一部をコードする核酸分子と、マウス F c y R I タンパク質の細胞内部分をコードする核酸分子と、を含む、ゲノム断片を提供する。

【 0 0 2 4 】

本出願において使用されるとき、用語「約」及び「およそ」は、同じ意味で使用される。本出願において使用される、約 / およそを伴う、又は伴わない任意の数値は、当業者によって理解される任意の通常の変化を対象とすることを意味する。

50

【 0 0 2 5 】

本発明のその他の特徴、目的、及び利点は、以下の発明を実施するための形態に明らかとなっている。しかしながら、発明を実施するための形態は、本発明の実施形態を示しているが、限定ではなく、実例としてのみ与えられるものであることを理解されたい。発明を実施するための形態から、本発明の範囲内において様々な変更や修正が当業者に明らかとなるであろう。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 2 6 】

本明細書に含まれる図面は、限定するためではなく例示目的のみのためである。

【図 1】図 1 は、実験用マウス及び野生型対照における F c y R I マウス対立遺伝子の遺伝子型を示す。 10

【図 2】図 2 は、実験用マウス及び野生型対照におけるヒト F c y R I 遺伝子の相対コピー数を示す。

【図 3】図 3 は、ヒト F c y R I を 1 コピー有する H e t (+ / -) マウスを基準とし、平均 $\Delta C t$ によって校正された、遺伝子コピー数の形質転換データを示す。

【図 4】図 4 は、ヒト供血者の細胞中の F c y R I 受容体の発現を示す。

【図 5】図 5 は、ヒト F c y R I 遺伝子、マウス F c y R I 遺伝子、及びヒト化 F c y R I 遺伝子の概略図（正確な縮尺ではない）を示す。

【図 6】図 6 は、M A I D 6 0 7 4 カセットの調製プロセスの概略図（正確な縮尺ではない）を示す。 20

【図 7】図 7 は、脾臓及び血液中で正常な細胞頻度を示す、ヒト化 F c y R I 遺伝子を有するマウスを示す。

【図 8】図 8 は、ヒト化 F c y R I 遺伝子を有するマウスにおける骨髓系脾臓系集団を示す。

【図 9】図 9 は、ヒト化 F c y R I 遺伝子を有するマウスの脾臓のマクロファージ上での、マウス F c y R I 発現の欠損を示す。

【図 1 0】図 1 0 は、ヒト化 F c y R I 遺伝子を有するマウスの脾臓の単球上での、ヒト F c y R I 発現の獲得を示す。

【図 1 1】図 1 1 は、内在性マウス F c y R I 遺伝子を有するマウス（M A I D 6 0 7 4 W T）、及び、ヒト化 F c y R I 遺伝子に関してホモ接合であるマウス（M A I D 6 0 7 4 H O）の腹腔から精製したマクロファージの、F A C S 分析中のゲーティング戦略を示す。 30

【図 1 2】図 1 2 は、内在性マウス F c y R I 遺伝子を有するマウス（M A I D 6 0 7 4 W T）、及び、ヒト化 F c y R I 遺伝子に関してホモ接合であるマウス（M A I D 6 0 7 4 H O）の腹腔のマクロファージ中の、ヒト F c y R I 及びマウス F c y R I の発現を示す。

【図 1 3】図 1 3 は、内在性マウス F c y R I 遺伝子を有するマウス（M A I D 6 0 7 4 W T）、及び、ヒト化 F c y R I 遺伝子に関してホモ接合であるマウス（M A I D 6 0 7 4 H O）の骨髓由来マクロファージの、F A C S 分析中のゲーティング戦略を示す。

【図 1 4】図 1 4 は、内在性マウス F c y R I 遺伝子を有するマウス（M A I D 6 0 7 4 W T）、及び、ヒト化 F c y R I 遺伝子に関してホモ接合であるマウス（M A I D 6 0 7 4 H O）の骨髓由来マクロファージ中の、ヒト F c y R I 及びマウス F c y R I の発現を示す。 40

【図 1 5】図 1 5 は、内在性マウス F c y R I 遺伝子を有するマウス（対照 7 5 / 2 5）、及び、ヒト化 F c y R I 遺伝子に関してヘテロ接合であるマウス（M A I D 6 0 7 4 H E T）の骨髓由来マクロファージの、F A C S 分析中のゲーティング戦略を示す。

【図 1 6】図 1 6 は、内在性マウス F c y R I 遺伝子を有する真得る（対照 7 5 / 2 5）、及び、ヒト化 F c y R I 遺伝子に関してヘテロ接合であるマウス（M A I D 6 0 7 4 H E T）の、骨髓由来マクロファージ中の、ヒト F c y R I 及びマウス F c y R I の発現を示す。 50

【図17】図17は、PBS処理48時間後の、MAID 6074WTと比較した、MAID 6074HOマウスにおける、骨髓系血液集団を示す。

【図18】図18は、mG-CSF処理48時間後の、MAID 6074WTマウスと比較した、MAID 6074HOマウスにおける、骨髓系血液集団を示す。

【図19】図19は、PBS処理48時間後の、MAID 6074WTマウス及びMAID 6074HOマウスの血液における、ヒトFcγRI発現の欠損を示す。

【図20】図20は、mG-CSF処理48時間後の、MAID 6074WTマウスと比較した、MAID 6074HOマウスの血液における、ヒトFcγRI発現を示す。

【図21】図21は、PBS処理48時間後の、MAID 6074WT及びMAID 6074HOマウスの血液における、マウスFcγRI発現の欠損を示す。

10

【図22】図22は、mG-CSF処理48時間後の、MAID 6074HOマウスと比較した、MAID 6074WTの血液における、マウスFcγRI発現を示す。

【図23】図23は、PBS処理48時間後の、MAID 6074WTマウスと比較した、MAID 6074HOにおける、骨髓系脾臓系集団を示す。

【図24】図24は、mG-CSF処理48時間後の、MAID 6074WTマウスと比較した、MAID 6074HOマウスにおける、骨髓系脾臓系集団を示す。

【図25】図25は、PBS処理48時間後の、MAID 6074HOマウス及び6074WTマウスの脾臓系単球における、ヒトFcγRI発現の欠損を示す。

【図26】図26は、mG-CSF処理48時間後の、MAID 6074WTマウスと比較した、MAID 6074HOマウスの脾臓における、ヒトFcγRI発現を示す。

20

【図27】図27は、PBS処理48時間後の、MAID 6074HOマウスと比較した、MAID 6074WTマウスの脾臓における、マウスFcγRI発現を示す。

【図28】図28は、mG-CSF処理48時間後の、MAID 6074HOマウスと比較した、MAID 6074WTマウスの脾臓における、マウスFcγRI発現を示す。

【図29】図29は、PBS又はmG-CSF処理後の、MAID 6074WT及びMAID 6074HOマウスの細胞集団における、ヒトFcγRI発現の要約を示す。

【図30】図30は、mHPR1で補正された、MAID 6074HOマウスの血液及び脾臓における、mG-CSFによって誘発されたヒトFcγRIのmRNAの上方制御を示す。

30

【図31】図31は、MAID 6074HOマウスの血液及び脾臓における、mG-CSFによって誘発されたヒトFcγRIのmRNAの上方制御を示す。

【図32】図32は、マウスFcγRIのヒト化のための、模式的かつ代表的な戦略を示す。

【発明を実施するための形態】

【0027】

定義

本発明は、記載される特定の方法及び実験条件に限定されず、したがって、方法及び条件は変わり得る。本明細書で使用される専門用語は、具体的な実施形態を記載するという目的でのみ使用されるものであり、制限を意図するものではなく、したがって、本発明の範囲は特許請求の範囲によって定義されることも理解されるであろう。

40

【0028】

別途記載のない限り、本明細書で使用される全ての用語及び語句は、矛盾するものが明確に示されない限り、又は、その用語又は語句が使用される文脈から明確に明らかでない限り、その用語及び語句が当該技術分野において示している意味を含む。本明細書に記載されるものと類似又は同等の任意の方法及び材料を、本発明の実践又は試験において使用できるものの、ここでは特定の方法及び材料を記載する。

【0029】

対象とする1つ又は2つ以上の値に対して本明細書において適用される、用語「およそ」は、示した参照値に類似する値を指す。特定の実施形態では、用語「およそ」又は「約

50

」は、別途記載のない限り、又は文脈から明らかでない限り（かかる数が可能値の100%を超える場合を除く）、示した参照値の、25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、又はそれ以下で、いずれかの方向（より大きい又はより小さい）に含まれる、値の範囲を指す。

【0030】

本明細書で使用されるとき、用語「生物活性のある」は、生体系内、*in vitro*、又は*in vivo*（例えば、生体内）において活性を有する、任意の剤の特徴を指す。例えば、生体内に存在するとき、その生体内で生物学的作用を有する剤を、生物活性があるとみなす。特定の実施形態では、タンパク質又はポリペプチドが生物活性である場合、そのタンパク質又はポリペプチドの少なくとも1つの生物活性を共有するタンパク質又はポリペプチドの部分を、典型的には「生物活性のある」部分と称する。

10

【0031】

本明細書で使用されるとき、用語「同等」は、観察された差異又は同等性に基づいて結論が容易に得られるように、それらの間の比較を可能にするための、互いに同一とは言えないが、十分に類似している、2つ又はそれ以上の剤、物質、状況、一連の条件などを指す。当業者は、文脈中で、同等であると考えられる2つ又はそれ以上のかかる剤、物質、状況、一連の条件などにおいて、任意の所与の状況において求められる同一性の程度を理解するであろう。

【0032】

20

用語「保存的」は、あるアミノ酸残基の、類似する化学的性質（例えば、電荷又は疎水性）を持つ側鎖R基を有する別のアミノ酸残基による置換を称する、保存的アミノ酸置換を説明するために本明細書で使用される。一般に、保存的アミノ酸置換は、タンパク質の所望の機能的特性、例えば、受容体のリガンドへの結合能を実質的に変化させない。類似する化学的性質を持つ側鎖を有するアミノ酸群の例として、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、及びイソロイシンなどの脂肪族側鎖、セリン及びスレオニンなどの脂肪族ヒドロキシル側鎖、アスパラギン及びグルタミンなどのアミド含有側鎖、フェニルアラニン、チロシン、及びトリプトファンなどの芳香族側鎖、例えばリシン、アルギニン、及びヒスチジンなどの塩基性側鎖、アスパラギン酸及びグルタミン酸などの酸性側鎖、並びに、システイン及びメチオニンなどのイオウ含有側鎖が挙げられる。保存的アミノ酸置換基として、例えば、バリン/ロイシン/イソロイシン、フェニルアラニン/チロシン、リシン/アルギニン、アラニン/バリン、グルタミン酸/アスパラギン酸、及びアスパラギン/グルタミンが挙げられる。いくつかの実施形態では、保存的アミノ酸置換は、例えばアラニンスキニング変異導入法で使用されるような、タンパク質中の任意の天然残基の、アラニンによる置換であってよい。いくつかの実施形態では、Gonnet et al. (1992) Exhaustive Matching of the Entire Protein Sequence Database, Science 256:1443~45（参照することにより本明細書に組み込まれる）に開示される、PAM250対数尤度マトリクス中で正の値を有する、保存的置換がなされる。いくつかの実施形態では、置換は、その置換がPAM250対数尤度マトリクス中で負でない値を有する、中程度 40の保存的置換である。

【0033】

本明細書で使用されるとき、用語「破壊」は、DNA分子による（例えば、遺伝子又は遺伝子座などの内在性相同性配列による）相同組み換え事象の結果を指す。いくつかの実施形態では、破壊により、挿入、欠失、置換（substitution）、置換（replacement）、ミスセンス変異、若しくはDNA配列のフレームシフト、又はこれらの任意の組み合わせになる、又はこれらを示すことがある。挿入は、内在性配列以外の起源であってもよい、遺伝子全体又は遺伝子フラグメント、例えばエクソンの挿入を含み得る。いくつかの実施形態では、破壊により、遺伝子又は遺伝子産物（例えば、遺伝子にコードされるタンパク質）の発現及び/又は活性が増加する場合がある。いくつかの実施形態では、破壊により 50

、遺伝子又は遺伝子産物の発現及び／又は活性が減少する場合がある。いくつかの実施形態では、破壊により、遺伝子又はコードされる遺伝子産物（例えば、コードされるタンパク質）の配列が変わる場合がある。いくつかの実施形態では、破壊により、遺伝子又はコードされる遺伝子産物（例えば、コードされるタンパク質）が切断される又は断片化される場合がある。いくつかの実施形態では、破壊により、遺伝子又はコードされる遺伝子産物が伸長する場合があり、いくつかのこのような実施形態では、破壊により、融合タンパク質の集合が達成される場合がある。いくつかの実施形態では、破壊により、遺伝子又は遺伝子産物の活性ではなくレベルに影響する場合がある。いくつかの実施形態では、破壊により、遺伝子又は遺伝子産物のレベルではなく活性に影響する場合がある。いくつかの実施形態では、破壊により、遺伝子又は遺伝子産物のレベルに顕著な影響を及ぼさない場合がある。いくつかの実施形態では、破壊により、遺伝子又は遺伝子産物の活性に顕著な影響を及ぼさない場合がある。いくつかの実施形態では、破壊により、遺伝子又は遺伝子産物のレベル又は活性のいずれにも顕著な影響を及ぼさない場合がある。

10

20

30

40

50

【0034】

本明細書で使用されるとき、語句「内在性遺伝子座」又は「内在性遺伝子」は、本明細書に記載される破壊、欠失、置換、変更、又は修飾が導入される前に、親又は参照生物にある遺伝子座を指す。いくつかの実施形態では、内在性遺伝子座は、天然に存在する配列を有する。いくつかの実施形態では、内在性遺伝子座は野生型である。いくつかの実施形態では、参照生物は野生型生物である。いくつかの実施形態では、参照生物は遺伝子組み換え生物である。いくつかの実施形態では、参照生物は、実験室で繁殖された生物（野生型又は遺伝子組み換えのいずれか）である。

【0035】

本明細書で使用されるとき、語句「内在性プロモーター」は、例えば、野生型生物において、天然で内在性遺伝子と関連しているプロモーターを指す。

【0036】

本明細書で使用されるとき、用語「FcγRIタンパク質」は、3つの細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを有するα鎖を含む、高親和性免疫グロブリンFc受容体を指す。

【0037】

実例として、マウス及びヒトFcγRIα遺伝子の代表的なヌクレオチド及びアミノ酸配列を表3に示す。当業者はこの開示を読むと、1つの（又は全ての）ゲノム中の1つ又は2つ以上の内在性FcγRI受容体遺伝子を、1つ又は2つ以上の異種FcγRI遺伝子（例えば、多型変異体、サブタイプ又は変異体、別の種の遺伝子など）で置換できることを認めるであろう。

【0038】

本明細書で使用されるとき、「FcγRI発現細胞」は、FcγRIを発現する細胞を指す。いくつかの実施形態では、FcγRI発現細胞は、FcγRI受容体をその表面に発現する。いくつかの実施形態では、FcγRI受容体は、細胞表面に発現したFcγRIタンパク質を介する、細胞間相互作用を媒介するのに十分な量で、細胞表面に発現する。代表的なFcγRI発現細胞として、リンパ球、骨髄細胞、マクロファージ、好中球、及びナチュラルキラー（NK）細胞が挙げられる。FcγRI発現細胞は、免疫細胞の相互作用を制御し、様々な外来抗原又は病原体に対する免疫反応を制御するための、いくつかの実施形態では、本発明の非ヒト動物は、非ヒト動物のもう1つの細胞表面に発現するヒトFcγRI受容体を介して、免疫細胞制御を示す。

【0039】

本明細書で使用されるとき、用語「異種」は、異なる起源由来の剤又は物質を指す。例えば、ポリペプチド、遺伝子、若しくは遺伝子産物に対して使用される、又は、特定の細胞若しくは生物中に存在するとき、この用語によって、関連するポリペプチド、遺伝子、又は遺伝子産物が、1）人の手で遺伝子組み換えされたこと、2）人の手で細胞若しくは生物（若しくはこれらの前駆体）に導入されたこと（例えば、遺伝子操作により）、及び

／又は、３）関連する細胞若しくは生物（例えば、関連する細胞種若しくは生物種）により天然に産生されない、若しくは天然に存在しないことが明確になる。

【００４０】

本明細書で使用されるとき、用語「宿主細胞」は、異種（例えば、外来性）核酸又はタンパク質が導入されている細胞を指す。当業者はこの開示を読むと、このような用語が、特定の対象細胞を指すだけでなく、かかる細胞の子孫を指すのに使用されることも理解するだろう。ある修飾は、変異又は環境の影響のいずれかによって後続の世代で生じ得るため、このような子孫は、実際に、親細胞と同一ではなく、本明細書で使用されるとき、用語「宿主細胞」の範囲内に依然として含まれる場合がある。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、原核若しくは真核細胞である、又はこれらを含む。一般に、宿主細胞は、細胞が指定されるその生物の界にかかわらず、異種核酸若しくはタンパク質を受容する及び／又は産生するのに好適な、任意の細胞である。代表的な細胞として、原核生物及び真核生物（単細胞又は多細胞）、細菌細胞（例えば、大腸菌、バチルス種、ソトレプトマイセス種の株など）、マイコバクテリア細胞、真菌細胞、酵母細胞（例えば、*S. cerevisiae*、*S. pombe*、*P. pastoris*、*P. methanolicus*など）、植物細胞、昆虫細胞（例えば、SF-9、SF-21、バキュロウイルス感染昆虫細胞、イラクサギンウワバなど）、非ヒト動物細胞、ヒト細胞、又は、例えば、ハイブリドーマ若しくはクアドローマなどの細胞融合体のものが挙げられる。いくつかの実施形態では、細胞は、ヒト、サル、類人猿、ハムスター、ラット、又はマウス細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は真核であり、CHO（例えば、CHO K1、DXB-11 CHO、Veggie-CHO）、COS（例えば、COS-7）、網膜細胞、Vero、CV1、腎（例えば、HEK293、293 EBNA、MSR 293、MDCK、HaK、BHK）、HeLa、HepG2、WI38、MRC 5、Colo205、HB 8065、HL-60、（例えば、BHK21）、Jurkat、Daudi、A431（上皮）、CV-1、U937、3T3、L細胞、C127細胞、SP2/0、NS-0、MMT 060562、セルトリ細胞、BRL 3A細胞、HT1080細胞、ミエローマ細胞、腫瘍細胞、及び前記細胞由来の細胞株から選択される。いくつかの実施形態では、細胞は、１つ又は２つ以上のウイルス遺伝子、例えば、ウイルス遺伝子（例えば、PER.C6（商標）細胞）を発現する網膜細胞を含む。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、単離された細胞である、又はこれらを含む。いくつかの実施形態では、宿主細胞は組織の一部である。いくつかの実施形態では、宿主細胞は生物の一部である。

【００４１】

本明細書で使用されるとき、語句「ヒトFcγRI遺伝子」は、文脈に応じて、完全ヒト、実質的ヒト、又はヒト化部分のFcγRIタンパク質をコードするヌクレオチド配列を指す。いくつかの実施形態では、「ヒトFcγRI」遺伝子は、完全マウスFcγRI遺伝子とは対照的に、ヒト化FcγRI遺伝子を指す。いくつかの実施形態では、ヒトFcγRI遺伝子は、１つ又は２つ以上の置換、付加、欠失、又は変異を含む。いくつかの実施形態では、ヒトFcγRI遺伝子は、FcγRI A（CD64A）、FcγRI B（CD64B）、FcγRI C（CD64C）、又はこれらの組み合わせを含む。

【００４２】

語句「ヒトFcγRIタンパク質」は、文脈に応じて、完全ヒト、実質的ヒト、又はヒト化FcγRI遺伝子にコードされるタンパク質を指す。いくつかの実施形態では、「ヒトFcγRI」タンパク質は、完全マウスFcγRIタンパク質とは対照的に、ヒト化FcγRIタンパク質を指す。いくつかの実施形態では、ヒトFcγRIタンパク質は、１つ又は２つ以上のアミノ酸置換、付加、欠失、又は変異を含む。いくつかの実施形態では、FcγRIタンパク質は、FcγRI A（CD64A）、FcγRI B（CD64B）、FcγRI C（CD64C）、又はこれらの組み合わせを含む。

【００４３】

語句「ハイブリッドFcγRI遺伝子」又は「ハイブリッドFcγRIタンパク質」は、少なくとも２種類の異なる動物種のFcγRI配列を含む、FcγRI遺伝子又はタン

10

20

30

40

50

パク質を指す。いくつかの実施形態では、ハイブリッドFcγRI遺伝子は、ヒト核酸配列の一部と、マウス核酸配列の一部と、を含む。いくつかの実施形態では、ハイブリッドFcγRIタンパク質は、ヒトアミノ酸配列の一部と、マウスアミノ酸配列の一部と、を含む。

【0044】

用語「ヒト化」は、当該技術により理解される意味に従って本明細書で使用され、その構造（すなわち、ヌクレオチド又はアミノ酸配列）が、非ヒト動物において天然に存在する特定の遺伝子又はタンパク質の構造と、実質的に又は同様に一致する部分を含み、関連する特定の非ヒト遺伝子又はタンパク質に存在するものとは異なる部分も含み、その代わりに、対応するヒト遺伝子又はタンパク質において存在する同等の構造とよりびったり一致する、核酸又はタンパク質を指す。いくつかの実施形態では、「ヒト化」遺伝子は、ヒトポリペプチド（例えば、ヒトタンパク質又はその一部、例えば、その特徴部）のそのようなアミノ酸配列を実質的に有する、ポリペプチドをコードするものである。一例を与えるにすぎないが、膜受容体の場合、「ヒト化」遺伝子は、ヒト細胞外部分のもののようなアミノ酸配列を有する細胞外部分、及び、非ヒト（例えば、マウス）ポリペプチドのもののような残りの配列を有するポリペプチドをコードしてよい。いくつかの実施形態では、ヒト化遺伝子は、ヒト遺伝子のDNA配列の少なくとも一部を含む。いくつかの実施形態では、ヒト化タンパク質は、ヒトタンパク質を表す部分を有する配列を含む。いくつかの実施形態では、ヒト化タンパク質は、ヒトタンパク質の全配列を含み、ヒト遺伝子のホモログ又はオルソログに相当する非ヒト動物の内在性遺伝子座から発現される。

10

20

【0045】

本明細書で使用されるとき、配列の比較に関する用語「同一性」は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列の同一性測定に使用できる、当該技術分野において既知である多くの異なるアルゴリズムによって判定される、同一性を指す。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される同一性は、開始ギャップペナルティに10.0、伸長ギャップペナルティに0.1を利用し、Gonnetの類似性マトリクス(MACVECTOR(商標)10.0.2、MacVector Inc.、2008)を使用して、ClustalW v.1.83(slow)アライメントを用いて判定される。

【0046】

本明細書で使用されるとき、用語「細胞内シグナルカスケード」又は「細胞内シグナル伝達」は、細胞表面から1つ又は2つ以上の細胞内標的へのシグナルの伝達を指す。いくつかの実施形態では、細胞内シグナル伝達は、標的分子（例えば、免疫グロブリンFc領域）のFcγR1受容体の細胞外コンポーネントへの結合により誘発される、細胞内の生理的反応を含む。

30

【0047】

本明細書で使用されるとき、用語「単離された」は、(1)当初産生されたとき（天然に、及び/若しくは、実験室において）、関連した成分の少なくとも一部から分離されている、並びに/又は、(2)人の手で設計され、産生され、調製され、及び/若しくは製造されている、物質及び/若しくは物体を指す。単離された物質及び/又は物体は、これらが当初関連した他の成分から、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、又は約99%超が分離されていてよい。いくつかの実施形態では、単離された剤は、約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、又は約99%超、純粋である。本明細書で使用されるとき、物質が実質的に他の成分を含まない場合、「純粋」である。いくつかの実施形態では、当業者によって理解されるように、物質は、例えば、1つ又は2つ以上のキャリア又は賦形剤（例えば、緩衝剤、溶媒、水など）などの他のある成分と混合された後でも、依然として「単離された」又は更には「純粋」であると考えてよく、かかる実施形態では、物質の単離割合又は純度は、

40

50

かかるキャリア又は賦形剤を含めずに計算される。一例を与えるにすぎないが、いくつかの実施形態では、天然に存在するポリペプチド又はポリヌクレオチドなどの生体高分子は、a) その起源又は誘導源に基づいて、自然界で天然の状態において伴われている成分の一部又は全てを伴わない場合、b) 自然界でそれを産生する種由来の同種の別のポリペプチド又は核酸を実質的に含まない場合、c) 自然界でそれを産生する種のものではない細胞又は他の発現系によって発現される、ないしは別の方法でこれら由来の成分を伴う場合に、「単離された」とみなす。したがって、例えば、いくつかの実施形態では、化学的に合成される、又は、自然界でそれを産生するものとは異なる細胞系で合成されるポリペプチドを、「単離された」ポリペプチドとみなす。あるいは又は追加的に、いくつかの実施形態では、1つ又は2つ以上の精製手法にかけられたポリペプチドを、a) 自然界において関連している、及び/又はb) 当初産生されたときに伴っていた、他の成分から分離されている限り、「単離された」ポリペプチドとみなしてもよい。

10

【0048】

本明細書で使用されるとき、語句「マウスFcγRI遺伝子」は、配列番号1に示される核分子、又は、配列番号1に示される分子と実質的な同一性を有する核酸分子を含む、遺伝子を指す。

【0049】

本明細書で使用されるとき、語句「マウスFcγRIタンパク質」は、配列番号2に示されるアミノ酸配列を含む、又は、配列番号2に示されるタンパク質と実質的な同一性を有するタンパク質を含む、タンパク質を指す。

20

【0050】

本明細書で使用されるとき、語句「非ヒト動物」は、ヒトではない任意の脊椎動物を指す。いくつかの実施形態では、非ヒト動物は、円口類、硬骨魚、軟骨魚（例えば、さめ又はエイ）、両生類、爬虫類、哺乳類、及び鳥類である。いくつかの実施形態では、非ヒト哺乳類は、霊長類、ヤギ、ヒツジ、ブタ、イヌ、雌ウシ、又は齧歯類である。いくつかの実施形態では、非ヒト動物は、ラット又はマウスなどの齧歯類である。

【0051】

本明細書で広義で使用されるとき、語句「核酸」は、オリゴヌクレオチド鎖中に組み込まれている、又は組み込むことができる、任意の化合物及び/又は物質を指す。いくつかの実施形態では、核酸は、ホスホジエステル結合によってオリゴヌクレオチド鎖中に組み込まれている、又は組み込むことができる、化合物及び/又は物質である。文脈から明らかであるように、いくつかの実施形態では、「核酸」は、個々の核酸残基（例えば、ヌクレオチド及び/又はヌクレオシド）を指し、いくつかの実施形態では、「核酸」は、個々の核酸残基を含むオリゴヌクレオチド鎖を指す。いくつかの実施形態では、「核酸」はRNAであり、又はこれを含み、いくつかの実施形態では、「核酸」はDNAであり、又はこれを含む。いくつかの実施形態では、核酸は、1つ又は2つ以上の天然核酸残基である、これらを含む、又はこれらからなる。いくつかの実施形態では、核酸は、1つ又は2つ以上の核酸アナログである、これらを含む、又はこれらからなる。いくつかの実施形態では、核酸アナログは、ホスホジエステル骨格を利用していない点で核酸とは異なる。例えば、いくつかの実施形態では、核酸は、当該技術分野において既知であり、骨格中でホスホジエステル結合の代わりにペプチド結合を有する1つ又は2つ以上の「ペプチド核酸」であり、これらを含み、又はこれらからなり、本発明の範囲内であるとみなされる。あるいは又は追加的に、いくつかの実施形態では、核酸は、ホスホジエステル結合よりも、1つ又は2つ以上のホスホロチオエート及び/又は5'-N-ホスホラミダイト結合を有する。いくつかの実施形態では、核酸は、1つ又は2つ以上の天然ヌクレオシド（例えば、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、ウリジン、デオキシアデノシン、デオキシチミジン、デオキシグアノシン、及びデオキシシチジン）である、これらを含む、又はこれらからなる。いくつかの実施形態では、核酸は、1つ又は2つ以上のヌクレオシドアナログ（例えば、2-アミノアデノシン、2-チオチミジン、イノシン、ピロロ-ピリミジン、3-メチルアデノシン、5-メチルシチジン、C-5プロピニル-シチジン、C-

30

40

50

5 プロピニル - ウリジン、2 - アミノアデノシン、C 5 - プロモウリジン、C 5 - フルオロウリジン、C 5 - ヨードウリジン、C 5 - プロピニル - ウリジン、C 5 - プロピニル - シチジン、C 5 - メチルシチジン、2 - アミノアデノシン、7 - デアザアデノシン、7 - デアザグアノシン、8 - オキソアデノシン、8 - オキソグアノシン、O (6) - メチルグアニン、2 - チオシチジン、メチル化塩基、介在塩基、及びこれらの組み合わせ) である、これらを含む、又はこれらからなる。いくつかの実施形態では、核酸は、天然核酸中のものと比較して、1つ又は2つ以上の変性糖(例えば、2' - フルオロリボース、リボース、2' - デオキシリボース、アラビノース、及びヘキソース)を含む。いくつかの実施形態では、核酸は、RNA又はタンパク質などの機能性遺伝子産物をコードする、ヌクレオチド配列を有する。いくつかの実施形態では、核酸は1つ又は2つ以上のイントロンを含む。いくつかの実施形態では、核酸は、天然源からの単離、相補的鋳型を基にした重合による酵素的合成(*in vivo* 又は *in vitro*)、組み換え細胞又は系での複製、及び化学合成のうち、1つ又は2つ以上によって調製される。いくつかの実施形態では、核酸は、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000以上の残基長である。いくつかの実施形態では、核酸は一本鎖であり、いくつかの実施形態では、核酸は二本鎖である。いくつかの実施形態では、核酸は、ポリペプチドをコードする少なくとも1つのエレメントを含むヌクレオチド配列を有し、又は、ポリペプチドをコードする配列の相補配列である。いくつかの実施形態では、核酸は酵素活性を有する。

10

20

30

40

50

【0052】

本明細書で使用されるとき、語句「機能的に連結」は、記載の構成要素が、意図された様式で機能させることができる関係にある、並列関係を指す。コード配列に「機能的に連結」しているコントロール配列を、コントロール配列に適した条件下でコード配列を発現させることのできるような方法でライゲーションする。「機能的に連結」された配列は、対象とする遺伝子に隣接する発現コントロール配列と、対象とする遺伝子を制御するためにトランスで、又は離れて作用する発現コントロール配列との両方を含む。本明細書で使用されるとき、用語「発現コントロール配列」は、ライゲーションされるコード配列の発現及びプロセッシングさせるのに必要なポリヌクレオチド配列を指す。発現コントロール配列として、適切な転写開始、終結、プロモーター、及びエンハンサー配列、スプライシング及びポリアデニル化シグナルなどの効率的なRNAプロセッシングシグナル、細胞質mRNAを安定化する配列、翻訳効率を高める配列(すなわち、コザックコンセンサス配列)、タンパク質の安定性を高める配列、及び所望により、タンパク質分泌を高める配列が挙げられる。かかるコントロール配列の性質は、宿主生物に応じて異なる。例えば、原核生物では、かかるコントロール配列は通常、プロモーター、リボソーム結合部位、及び転写終結配列を含み、一方真核生物では、典型的に、かかるコントロール配列は、プロモーター及び転写終結配列を含む。用語「コントロール配列」は、その存在が、発現及びプロセッシングに必須である要素を含むことを意図し、その存在が有利である追加の要素、例えば、リーダー配列及び融合パートナー配列も含んでよい。

【0053】

本明細書で使用されるとき、用語「ポリペプチド」は、アミノ酸の任意のポリマー鎖を指す。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、天然に存在するアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、天然に存在しないアミノ酸配列を有する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、人の手の作用により、設計され及び/又は産生された、遺伝子組み換えされているアミノ酸配列を有する。

【0054】

本明細書で使用されるとき、用語「組み換え」は、組み換え手段により、設計され、遺

伝子組み換えされ、調製され、発現され、作製され、若しくは単離されるポリペプチド（例えば、本明細書に記載されるシグナル調節タンパク質）、例えば、宿主細胞に形質移入された組み換え発現ベクターを用いて発現されるポリペプチド、組み換えコンビナトリアルヒトポリペプチドライブラリから単離されるポリペプチド（Hoogenboom H. R., (1997) *TIB Tech.* 15: 62~70; Azzazy H., and Highsmith W. E., (2002) *Clin. Biochem.* 35: 425~445; Gavilondo J. V., and Larrick J. W. (2002) *BioTechniques* 29: 128~145; Hoogenboom H., and Chames P. (2000) *Immunology Today* 21: 371~378）、ヒト免疫グロブリン遺伝子を導入された動物（例えば、マウス）から単離される抗体（例えば、Taylor, L. D., et al. (1992) *Nucl. Acids Res.* 20: 6287~6295; Kellermann S. A., and Green L. L. (2002) *Current Opinion in Biotechnology* 13: 593~597; Little M. et al (2000) *Immunology Today* 21: 364~370 参照）、又は、互いに対するスプライシング選択配列エレメントを含む、任意のその他手段によって調製され、発現され、作製され、若しくは単離されるポリペプチドを指すことを意図する。いくつかの実施形態では、1つ又は2つ以上のこのような選択配列エレメントは、天然に存在する。いくつかの実施形態では、1つ又は2つ以上のこのような選択配列エレメントは、*in silico*で設計される。いくつかの実施形態では、1つ又は2つ以上のこのような選択配列エレメントは、突然変異誘発（例えば、*in vivo*又は*in vitro*）を、例えば、天然源又は合成源由来の既知の配列エレメントに行った結果である。例えば、いくつかの実施形態では、組み換えポリペプチドは、対象とする起源生物（例えば、ヒト、マウスなど）のゲノムにある配列からなる。いくつかの実施形態では、組み換えポリペプチドは、突然変異誘発（例えば、*in vitro*又は*in vivo*、例えば非ヒト動物において）に起因するアミノ酸配列を有し、組み換えポリペプチドのアミノ酸配列は、ポリペプチド配列由来であり、かつ関連しているものの、非ヒト動物のゲノム内に *in vivo*で天然に存在し得ない配列である。

【0055】

用語「置換」は、「置換された」核酸配列（例えば、遺伝子）（宿主の座（例えば、ゲノム中）にある）が、その座から除かれ、異なる「置換」核酸がその場に位置するプロセスを指すために本明細書で使用する。いくつかの実施形態では、置換された核酸配列及び置換核酸配列は、例えば、互いに相同である、及び/又は対応するエレメント（例えば、タンパク質コードエレメント、調節エレメントなど）を含むという点で、互いに同等である。いくつかの実施形態では、置換された核酸配列は、プロモーター、エンハンサー、スプライスドナー部位、スプライスレシーバー部位、イントロン、エクソン、非翻訳領域（UTR）のうち1つ又は2つ以上を含み、いくつかの実施形態では、置換核酸配列は、1つ又は2つ以上のコード配列を含む。いくつかの実施形態では、置換核酸配列は、置換された核酸配列のホモログである。いくつかの実施形態では、置換核酸配列は、置換された配列のオルソログである。いくつかの実施形態では、置換核酸配列は、ヒト核酸配列である、又はこれを含む。いくつかの実施形態では、置換核酸配列がヒト核酸配列である、又はこれを含む場合、置換された核酸配列は、齧歯類配列（例えば、マウス配列）である、又はこれを含む。このように配置された核酸配列は、このように配置された配列（例えば、プロモーター、エンハンサー、5' - 又は 3' - 非翻訳領域など）を得るために使用された起源核酸配列の一部である、1つ又は2つ以上の制御配列を含んでよい。例えば、様々な実施形態では、置換は、内在性配列を異種配列と置換し、そのように配置された核酸配列（異種配列を含む）の遺伝子産物の産生をもたらすが、内在性配列を発現しないものであり、置換は、内在性配列（例えば、FcγRI タンパク質をコードする内在性ゲノム配列、及び1つ又は2つ以上のヒトFcγRI タンパク質をコードするDNAフラグメント）によってコードされるタンパク質と類似する機能を有するタンパク質をコードする、

核酸配列を有する内在性ゲノム配列のものである。様々な実施形態では、内在性遺伝子又はそのフラグメントは、対応するヒト遺伝子又はそのフラグメントと置換される。対応するヒト遺伝子又はそのフラグメントは、オルソログである、又は、置換される内在性遺伝子若しくはそのフラグメントと構造及び／若しくは機能が実質的に類似する、若しくは同一である、ヒト遺伝子又はフラグメントである。

【 0 0 5 6 】

本明細書で使用されるとき、用語「実質的に」は、対象とする特徴又は性質の全体、又はほぼ全体の範囲又は程度を示す、定性的状態を指す。生物学的分野における当業者は、生物学的及び化学的現象が、仮にあるとしてもめったに、完了しない及び／若しくは完了に向かわない、又は絶対的結果に達成しない若しくは回避しないことを理解するだろう。したがって、用語「実質的に」は、多くの生物学的及び化学的現象に固有の完全性を欠く可能性を捕捉するために本明細書で使用される。

10

【 0 0 5 7 】

本明細書で使用されるとき、語句「実質的な相同性」は、アミノ酸又は核酸配列間の比較を指す。当業者に理解されるように、2つの配列が対応する位置に相同残基を含有する場合に、通常は「実質的に相同」であるとみなされる。相同残基は同一残基であってよい。あるいは、相同残基は、構造的及び／又は機能的特徴が適切に類似する非同一残基であってよい。例えば、当業者に周知であるように、あるアミノ酸は、典型的には「疎水性」若しくは「親水性」アミノ酸として、及び／又は、「極性」若しくは「非極性」側鎖を有するものとして分類される。1つのアミノ酸を別の同じ種類のものとして置換すると、「相同」置換であるとみなされ得ることが多い。典型的なアミノ酸分類を表1及び2にまとめる。

20

【 0 0 5 8 】

【表1】

表1

アラニン	Ala	A	非極性	中性	1.8
アルギニン	Arg	R	極性	陽性	-4.5
アスパラギン	Asn	N	極性	中性	-3.5
アスパラギン酸	Asp	D	極性	陰性	-3.5
システイン	Cys	C	非極性	中性	2.5
グルタミン酸	Glu	E	極性	陰性	-3.5
グルタミン	Gln	Q	極性	中性	-3.5
グリシン	Gly	G	非極性	中性	-0.4
ヒスチジン	His	H	極性	陽性	-3.2
イソロイシン	Ile	I	非極性	中性	4.5
ロイシン	Leu	L	非極性	中性	3.8
リシン	Lys	K	極性	陽性	-3.9
メチオニン	Met	M	非極性	中性	1.9
フェニルアラニン	Phe	F	非極性	中性	2.8
プロリン	Pro	P	非極性	中性	-1.6
セリン	Ser	S	極性	中性	-0.8
スレオニン	Thr	T	極性	中性	-0.7
トリプトファン	Trp	W	非極性	中性	-0.9
チロシン	Tyr	Y	極性	中性	-1.3
バリン	Val	V	非極性	中性	4.2

30

40

【 0 0 5 9 】

50

【表 2】

表 2

多義アミノ酸	3文字	1文字
アスパラギン又はアスパラギン酸	Asx	B
グルタミン又はグルタミン酸	Glx	Z
ロイシン又はイソロイシン	Xle	J
未特定又は未知のアミノ酸	Xaa	X

【0060】

10

当該技術分野において周知であるように、アミノ酸又は核酸配列は、ヌクレオチド配列に対するBLASTN、並びにアミノ酸配列に対するBLASTP、gapped BLAST、及びPSI-BLASTなどの市販のコンピュータプログラムを含む、任意の様々なアルゴリズムを用いて比較してもよい。代表的なかかるプログラムは、Altschul, et al., Basic local alignment search tool, J. Mol. Biol., 215(3):403~410, 1990; Altschul, et al., Methods in Enzymology; Altschul, et al., 「Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs」, Nucleic Acids Res. 25:3389~3402, 1997; Baxevanis, et al., Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, Wiley, 1998; 及び、Misener, et al., (eds.), Bioinformatics Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999に記載されている。相同性配列の同定に加えて、上記プログラムは、典型的には、相同性の程度の指標を提供する。いくつかの実施形態では、対応する残基の少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又はそれ以上が、関連する残基長にわたって相同である場合、2つの配列が実質的に相同であるとみなす。いくつかの実施形態では、関連する残基長は完全配列である。いくつかの実施形態では、関連する残基長は少なくとも9、10、11、12、13、14、15、16、17、又はそれ以上の残基である。いくつかの実施形態では、関連する残基長は、完全配列に沿った近接残基を含む。いくつかの実施形態では、関連する残基長は、完全配列に沿った非連続残基を含む。いくつかの実施形態では、関連する残基長は、少なくとも10、15、20、25、30、35、40、45、50、又はそれ以上の残基である。

20

30

【0061】

本明細書で使用されるとき、語句「実質的な同一性」は、アミノ酸又は核酸配列間の比較を指す。当業者に理解されるように、2つの配列が対応する位置に同一残基を含有する場合に、通常は「実質的に同一」とであるとみなされる。当該技術分野において周知であるように、アミノ酸又は核酸配列は、ヌクレオチド配列に対するBLASTN、並びにアミノ酸配列に対するBLASTP、gapped BLAST、及びPSI-BLASTなどの市販のコンピュータプログラムを含む、任意の様々なアルゴリズムを用いて比較してもよい。代表的なかかるプログラムは、Altschul, et al., Basic local alignment search tool, J. Mol. Biol., 215(3):403~410, 1990; Altschul, et al., Methods in Enzymology; Altschul, et al., Nucleic Acids Res. 25:3389~3402, 1997; Baxevanis, et al., Bioinformatics: A Practical Guide

40

50

to the Analysis of Genes and Proteins, Wiley, 1998; 及び、Misener, et al., (eds.), Bioinformatics Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999 に記載されている。同一配列の同定に加えて、上記プログラムは、典型的には、同一性の程度の指標を提供する。いくつかの実施形態では、対応する残基の少なくとも 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 又はそれ以上が、関連する残基長にわたって同一である場合、2つの配列が実質的に同一であるとみなす。いくつかの実施形態では、関連する残基長は完全配列である。いくつかの実施形態では、関連する残基長は、少なくとも 10、15、20、25、30、35、40、45、50、又はそれ以上の残基である。

10

20

30

40

50

【0062】

本明細書で使用されるとき、語句「標的化ベクター」又は「標的化構築物」は、標的化領域を含むポリヌクレオチド分子を指す。標的化領域は、標的細胞、組織、又は動物中の配列に同一又は実質的に同一である配列を含み、相同組み換えによって、細胞、組織又は動物のゲノム内の位置への標的化構築物の組み込みをもたらす。部位特異的リコンビナーゼ認識部位（例えば、loxP 又は FRT 部位）を用いて標的化する標的化領域も含まれる。いくつかの実施形態では、本発明の標的化構築物は、特に対象とする核酸配列又は遺伝子、選択マーカー、コントロール及び又は制御配列、並びに、かかる配列に關与する組み換えを助ける、又は促進するタンパク質を外来的に付加することによって介在される、組み換えを可能とするその他核酸配列を更に含む。いくつかの実施形態では、本発明の標的化構築物は、対象とする遺伝子の全体又は一部を更に含む、このとき対象とする遺伝子は、内在性配列によってコードされるタンパク質と類似の機能を有する、タンパク質全体又は一部をコードする異種遺伝子である。

【0063】

本明細書で使用されるとき、用語「変異体」は、参照体との顕著な構造的同一性を示すが、参照体と比較して、1つ又は2つ以上の化学的部分の存在又はその程度において参照体と構造的に異なる、物体を指す。多くの実施形態では、変異体は参照体と機能的にも異なる。一般に、特定の物体が厳密に参照体の「変異体」であるとみなされるかどうかは、参照体との構造的同一性の程度に基づいている。当業者に理解されるように、任意の生物学的又は化学的参照体は、ある特徴的構造的エレメントを有する。変異体は、定義によると、1つ又は2つ以上のかかる特徴的構造的エレメントを共有する、異なる化学的物体である。少数の例を与えるにすぎないが、小分子は、特徴的コア構造的エレメント（例えば、大環状分子コア）及び/又は1つ若しくは2つ以上の特徴的ペンダント部分を有し、小分子の変異体は、コア構造的エレメント及び特徴的ペンダント部分を共有するが、別のペンダント部分、及び/又はコア内に存在する結合の種類（一重対二重、E 対 Z など）が異なるものであってよく、ポリペプチドは、線形若しくは三次元空間内に互いに相対的な指定位置を有する、及び/又は、特定の生物学的機能に寄与する、複数のアミノ酸からなる特徴的配列エレメントを有してよく、核酸は、線形又は三次元空間に互いに相対的な指定位置を有する、複数のヌクレオチド残基からなる特徴的配列エレメントを有してよい。例えば、変異体ポリペプチドは、アミノ酸配列中の1つ若しくは2つ以上の差異、及び/又は、ポリペプチド骨格に共有結合される化学的部分（例えば、炭水化物、脂質など）の1つ若しくは2つ以上の差異の結果、参照ポリペプチドと異なっている。いくつかの実施形態では、変異体ポリペプチドは、少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、又は99%である、参照ポリペプチドとの総配列同一性を示す。あるいは又は追加的に、いくつかの実施形態では、変異体ポリペプチドは、少なくとも1つの特徴的配列エレメントを参照ポリペプチドと共有しない。いくつかの実施形態では、参照ポリペプチドは、1つ又は2つ以上の生物学的活性を有する。いくつかの実施形態では、変異体ポリペプチドは、参照ポリ

ペプチドの1つ又は2つ以上の生物学的活性を共有する。いくつかの実施形態では、変異体ポリペプチドは、参照ポリペプチドの1つ又は2つ以上の生物学的活性を欠く。いくつかの実施形態では、変異体ポリペプチドは、参照ポリペプチドと比較して、低下したレベルの1つ又は2つ以上の生物学的活性を示す。多くの実施形態では、対象とするポリペプチドが、親の配列と同一であるアミノ酸配列を有しているが、特定の位置において少数の配列が変更している場合、対象とするポリペプチドが、親又は参照ポリペプチド「変異体」であるとみなされる。典型的に、変異体中の20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%未満の残基が、親と比べて置換されている。いくつかの実施形態では、変異体は、親と比べて10、9、8、7、6、5、4、3、2、又は1個の置換された残基を有する。多くの場合、変異体は、非常に小数（例えば、5、4、3、2、又は1未満）の数の置換された機能性残基（すなわち、特定の生物活性に關与する残基）を有する。更に、変異体は、親と比較して、典型的には5、4、3、2、又は1個以下の付加又は欠失を有し、多くの場合、付加又は欠失を有さない。その上、任意の付加又は欠失は、典型的には、約25、約20、約19、約18、約17、約16、約15、約14、約13、約10、約9、約8、約7、約6個未満であり、一般には約5、約4、約3、又は約2個未満の残基である。いくつかの実施形態では、親又は参照ポリペプチドは天然に存在するものである。当業者に理解されるように、対象とする特定のポリペプチドの複数の変異体は、特に対象とするポリペプチドが病原菌のポリペプチドであるとき、通常天然に存在し得る。

10

20

30

40

50

【0064】

本明細書で使用されるとき、用語「ベクター」は、付随する別の核酸を運搬可能な核酸分子を指す。いくつかの実施形態では、ベクターは、染色体外複製、並びにノ又は、真核及びノ若しくは原核細胞などの宿主細胞中で連結される核酸の発現が可能である。作動可能に連結される遺伝子の発現の方向付けが可能ベクターは、本明細書で「発現ベクター」と称する。

【0065】

本明細書で使用されるとき、用語「野生型」は、（変異体、病的、変更などとは対照的に）「正常」状態又は状況において、天然に存在する、構造及びノ又は活性を有する物体を指す、当該技術により理解される意味を有する。当業者は、野生型遺伝子及びポリペプチドは、多くの場合、多くの異なる形態で存在する（例えば、対立遺伝子）ことを理解するだろう。

【0066】

本発明の様々な態様を、以下の項で詳細に説明する。この項を利用して、本発明を制限することを意図しない。各項は、本発明の任意の態様に適用できる。本出願では、「又は」の使用は、別途明記しない限り、「及びノ又は」を意味する。

【0067】

（詳細な説明）

本発明は、特に、ヒト又はヒト様免疫エフェクター応答の実験のための、FcγRI受容体をコードするヒト化遺伝物質を有する、改善された及びノ又は遺伝子組み換えされた非ヒト動物を提供する。

【0068】

Fc受容体

免疫グロブリンのFc（すなわち、定常）領域に対する受容体（FcR）は、免疫反応の調節において重要な働きを担っている。FcRは、宿主免疫系のアクセサリ細胞上に存在し、抗体によって結合された外来抗原の排出を促進する。FcRは、免疫系のアクセサリ細胞の活性化及び抑制反応の両方のバランスを保つのに重要な働きを担っている。FcRは、マクロファージによる食作用、マスト細胞の脱顆粒、抗体-抗原複合体の取り込み、尾及び免疫反応の調節、並びにその他免疫系のプロセスに關与している。

【0069】

マウス及びヒトでは、異なるFcRが、それぞれ発現した抗体レパートリー中に存在す

る免疫グロブリンアイソタイプに特異的な、異なるアクセサリー細胞の表面上に別個に発現している。例えば、免疫グロブリン G (I g G) 抗体は、I g G 受容体 (F c γ R) を介してエフェクター機能を媒介する。F c γ R は、高親和性活性化 F c γ R I (C D 6 4)、低親和性抑制性 F c γ R I I b (C D 3 2 b)、低親和性活性化 F c γ R I I a / c (C D 3 2 a / c)、及び低親和性活性化 F c γ R I I I (C D 1 6) の 4 つのグループに分類されている。各グループはマウス及びヒトの両方で存在するが、アイソフォームの数、及びこれらが存在する免疫細胞のサブセットが異なっている。例えば、F c γ R I I A 及び F c γ R I I I B は、ヒトのアクセサリー細胞で発現されるが、マウスにはないと報告されている。更に、F c γ R それぞれに対する異なる I g G アイソタイプ (例えば、I g G 1) の親和性が、マウスとヒトとの間で異なっている。

10

【 0 0 7 0 】

高親和性ヒト F c γ R I

ヒト高親和性 F c γ R I (C D 6 4) は、単量体の I g G 型抗体と高い親和性 (典型的には、 K_a がおよそ $10^{-8} \sim 10^{-9} M$) で結合する、内在性膜糖タンパク質である。I g G が結合した後、C D 6 4 は、細胞活性化を引き起こす免疫受容体活性化チロシンモチーフ (I T A M) を持つ、共通 γ 鎖 (γ 鎖) として知られるアクセサリー鎖と相互作用する。ヒトでは、C D 6 4 は、マクロファージ及び単球に構成的に発現され、I F N γ 及び G - C S F などのサイトカインによって多形核白血球に誘導発現されることが報告されている。

【 0 0 7 1 】

20

F c γ R I 配列

ヒト、マウス、及びハイブリッド化 F c γ R I の代表的な配列を、表 3 に示す。c D N A 配列、後続エクソンを、交互に下線を引かれた文字で分離している。タンパク質配列では、細胞外配列に下線を引いている。参照配列は代表的なものであり、当業者は、追加のマウス及びヒト配列を区別するため、配列エレメント又は同一性の程度を判定し、比較することができる。

【 0 0 7 2 】

【表 3 - 1】

表3

マウスFcγRIのcDNA

NM_010186

ACATTACATG ATTCTTACCA GCTTTGGAGA TGACATGTGG CTTCTAACAA
 CTCTGCTACT TTGGGTCCA GTCGGTGGGG AAGTGTTAA TGCCACCAAG
 GCTGTGATCA CCTTGCAGCC TCCATGGGTC AGTATTTTCC AGAAGGAAAA
 TGTCACCTTA TGGTGTGAGG GGCCCTCACCT GCCTGGAGAC AGTTCCACAC
 AATGGTTTAT CAACGGAACA GCCGTTTCTAGA TCTCCACGCC TAGTTATAGC
 ATCCCAGAGG CCAGTTTTC A GACAGTGGC GAATACAGGT GTCAGATAGG
 TTCTCTCAATG CCAAGTGACC CTGTGCAGTT GCAAATCCAC AATGATTTGGC
 TGCTACTCCA GGCTCCCCG AGAGTCCTCA CAGAAGGAGA ACCCTGGCC
 TTGAGGTGTC ACGGATGGAA GAATAAACTG GTGTACAATG TGGTTTCTTA
 TAGAAATGGA AAATCCTTTC AGTTTTCTTC AGATTCCGAG GTCGCCATTC
 TGAACACCA CCTGAGTAC AGCGGCATCT ACCACTGCTC AGGCACGGGA
 AGACACCGCT ACACATCTGC AGGAGTGTCC ATCACGGTGA AAGAGCTGTT
 TACCACGCCA GTGCTGAGAG CATCCGTGTC ATCTCCCTTC CCGGAGGGGA
 GTCTGGTAC CCTGAACTGT GAGACGAATT TGCTCCTGCA GAGACCCGGC
 TTACAGCTTC ACTTCTCCTT CTACGTGGGC AGCAAGATCC TGGAGTACAG
 GAACACATCC TCAGAGTACC ATATAGCAAG GGCGGAAAGA GAAGATGCTG
 GATTCTACTG GTGTGAGGTA GCCACGGAGG ACAGCAGTGT CCTTAAGCGC
 AGCCCTGAGT TGGAGCTCCA AGTGCTTGGT CCCCAGTCAT CAGCTCCTGT
 CTGGTTTCAC ATCCTGTTTT ATCTGTCAGT GGAATAATG TTTTCGTTGA
 ACACGGTTCT CTATGTGAAA ATACACAGGC TGCAGAGAGA GAAGAAATAC
 AACTTAGAAG TCCCTTTGGT TTCTGAGCAG GGAAGAAAG CAAATTCCTT
 TCAGCAAGTT AGAAGCGATG GCGTGTATGA AGAAGTAAACA GCCACTGCGA
 GCCAGACCAC ACCAAAAGAA GCGCCCGATG GACCTCGAAG CTCAGTGGGT
 GACTGTGGAC CCGAGCAGCC TGAACCCCTT CCTCCAGTG ACAGTACTGG
 GGCACAACT TCCCAAAGTT GACCCTGAAA CTGTGGGACC ATGGCATGCA
 ACTCTTAAAT AAAGCAAATA TACAGACTGG ATCCGGCTGA GACAAGCTGG
 GTAATCAGAC ATTTGAAAGG AGACCTATAC CAAAGGGATC TTGCAACACA
 TGGAGTCAGG TCACAGCGGG GGTGTGCGAA TGTTTGACCT TATGGAGCAG
 GGAAACAGGA AGTGAATCCC ACAGGACTCC CCCCCCCCCT CCATCCCCCT
 CCAGGCCGCC CCGGACAGGA CCCAGCTCTG GAAGACTCCA GTCTGAGACT
 TGCGGAACCA GAGCAGGGGT GAGATTCTTG CCCAGAAGGG ACAGTGTGTC
 CATCCCCTCA CAGGGTGGAT GGGTTCAGGG AAAGGCCTCC CCAGGGACGG
 CCTGCGTGTC AGGGGAGCAG ACGCTGATAC AGACAGCTCC ATAGCTGGG
 CTAAAGCTGG CTAAGACCCG GTGGTCATCC TGAGAGCATC GGAATTTGTG
 CTCTCCTTCC TACCGTCTCT CTTCATGCAC CCTCCCCAGA TTTGCTGCCC
 ACGACCCTCA AAGGACATAG TGGCGGCAGC TAAAGAGTGA AGTGTACGCA
 GTAATCCATC CATCTAACCT CCTCAGGTC CAGATACCCC CACCCCCAAA
 CTCCCACACT CTAGGGGCCT TTTCAGGCAG CCTGCATGTG GTGCTTAGC
 AGAGCTATGG TACAAAGGCT TTTAGCTCTA TCATTATCTG ACAAGCAGAC
 AGCACCTCA GGTGCTCTCA TTGGGTGGTG AGAGCTTTCT CCAGCTGTGA
 CCACCTGTAA GCTGGAGTGT GGGGCGGGAA CACTGGCCCA AAGCGTCCCT
 ATTGGAAGGC ACGGCTTACA TGGGTGTCAC AAATGCCCTT AGACCACGCA
 GGAAGACCGA ATTCTAGAAA CAAGGAGTAG ATCATGTCTC CACTTACTGT
 CACTCCTAAG GATCCCCTGA AGGTCTTGGA GCTTCACATC CCTGGAACCTC
 TAGGGTCTGC CGTGCTAGAG GTCCCAGTCT GCAGAGTGGG TGTGGCATAG
 CCTGAGCCTC CCTGGATGTG AACATTAGCA AGGTATATTG GGACCTTTAT
 AACCAGGGAC CAATAGGCAT GAGAGGGACC GGGATAATTG ACCACTTCA
 CAGGAGGAGA TACACTCTGT TGTACAATGC ATGCAGAAAC TGTCAAAAAC
 AGTGTGGGAG CTGGAGAGAT GATCAGGGGT TAAGAACTACT TCCTGCTCTT
 CCAGAGGACC TGAGTTCAT TTTTGTAAGT GCTTGTAAGT CCAGATGTCTG
 TCTTCTGATC TCTTCAAGC ACCCACATGT GCAGGGCATG CAGACACAGA
 CATATGAACA AGAACAATTA AAAATAAAT TATAACTGC (配列番号1)

10

20

30

40

マウスFcγRIタンパク質

NP_034316.1

MILTSFGDDMWLLTLLLVVPVGGEVNVNATKAVITLQPPWVSIFQKENVTLWCE
 GPHLPGDSSTQWFINGTAVQISTPSYSIPEASFQDSGEYRCQIGSSMPSDPVOL
 QIHNDWLLLQASRRVLTEGEPLALRCHGWKNKLVYVVFYRNGKSFQSSDSEV
 AILKTNLSHSGIYHCSGTGRHRYTSAGVSIIVKELFTTPVLRASVSSPFPEGSL
 VTLNCETNLLLQRPGLQLHFSFYVGSKILEYRNTSSEYHIARAEREDAGFYWCE
 VATEDSSVLKRSPELELQVLGPQSSAPVWFHILFYLSVGIMFSLNTVLVYVKIHR
 LQREKKYNLEVPLVSEQGGKANSFQQVRSDGVYBEVTATASQTTPKEAPDGPRS
 SVGDCGPEQPEPLPPSDSTGAQTSQS (配列番号2)

【表 3 - 2】

ヒトFcγRIのcDNA
NC_000001.11

AATATCTTGC ATGTTACAGA TTTCACTGCT CCCACCAGCT TGGAGACAAC
 ATGTGGTTCT TGACAACTCT GCTCCTTTGG GTTCCAGTTG ATGGGCAAGT
 GGACACCACA AAGGCAGTGA TCACTTTGCA GCCTCCATGG GTCAGCGTGT
 TCCAAGAGGA AACCGTAACC TTGCACTGTG AGGTGCTCCA TCTGCCTGGG
 AGCAGCTCTA CACAGTGGTT TCTCAATGGC ACAGCCACTC AGACCTCGAC
 CCCCAGCTAC AGAATCACCT CTGCCAGTGT CAATGACAGT GGTGAATACA
 GGTGCCAGAG AGGTCTCTCA GGGCGAAGTG ACCCCATACA GCTGGAAATC
 CACAGAGGCT GGCTACTACT GCAGGTCTCC AGCAGAGTCT TCACGGAAGG
 AGAACCTCTG GCCTTGAGGT GTCATGCGTG GAAGGATAAG CTGGTGTACA
 ATGTGCTTTA CTATCGAAAT GGCAAAGCCT TTAAGTTTTT CCACTGGAAT
 TCTAACCTCA CCATTCTGAA AACCAACATA AGTCACAATG GCACCTACCA
 TTGCTCAGGC ATGGGAAAGC ATCGCTACAC ATCAGCAGGA ATATCTGTCA
 CTGTGAAAGA GCTATTTCCA GCTCCAGTGC TGAATGCATC TGTGACATCC
 CCACTCCTGG AGGGGAATCT GGTCACCCTG AGCTGTGAAA CAAAGTTGCT
 CTTGCAGAGG CCTGGTTTGC AGCTTTACTT CTCCTTCTAC ATGGGCAGCA
 AGACCCTGCG AGGCAGGAAC ACATCCTCTG AATACCAAAT ACTAAGTGT
 AGAAGAGAAG ACTCTGGGTT ATACTGGTGC GAGGCTGCCA CAGAGGATGG
 AAATGTCCCT AAGCGCAGCC CTGAGTTGGA GCTTCAAGTG CTGGCCCTCC
 AGTTACCAAC TCCTGTCTGG TTTTCATGTCC TTTTCTATCT GGCAGTGGGA
 ATAATGTTTT TAGTGAACAC TGTTCTCTGG GTGACAATAC GTAAAGAACT
 GAAAAGAAAG AAAAAGTGGG ATTTAGAAAT CTCTTTGGAT TCTGGTCATG
 AGAAGAAGGT AATTTCAGC CTTCAAGAAG ACAGACATTT AGAAGAAGAG
 CTGAAATGTC AGGAACAAAA AGAAGAACAG CTGCAGGAAG GGGTGCACCG
 GAAGGAGCCC CAGGGGGCCA CGTAGCAGCG GCTCAGTGGG TGGCCATCGA
 TCTGGACCGT CCCCTGCCCA CTTGCTCCCC GTGAGCACTG CGTACAAAAC
 TCCAAAAGTT CAACAACACC AGAACTGTGT GTCTCATGGT ATGTAAGTCT
 TAAAGCAAAT AAATGAACCTG ACTTCAACTG GGATACATTT GGAAATGTGG
 TCATCAAAGA TGACTTGAAG TGAGGCCTAC TCTAAAGAAT TCTTGAAAAA
 CTTACAAGTC AAGCCTAGCC TGATAATCCT ATTACATAGT TTGAAAAATA
 GTATTTTATT TCTCAGAAC AGGTAAAAAG GTGAGTGGGT GCATATGTAC
 AGAAGATTAA GACAGAGAAA CAGACAGAAA GAGACACACA CACAGCCAGG
 AGTGGGTAGA TTTCAGGGAG ACAAGAGGGA ATAGTATAGA CAATAAGGAA
 GGAAATAGTA CTTACAAATG ACTCCTAAGG GACTGTGAGA CTGAGAGGGC
 TCACGCCTCT GTGTTCAAG TACTTAGTTC ATGGCTTTTC TCTTTGACTT
 TACTAAAAGA GAATGTCTCC ATACGCGTTC TAGGCATACA AGGGGGTAACT
 TCATGATGAG AAATGGATGT GTTATTCTTG CCTCTCTTT TGAGGCTCTC
 TCATAACCCC TCTATTTCTA GAGACAACAA AAATGCTGCC AGTCCTAGGC
 CCCTGCCCTG TAGGAAGGCA GAATGTAAGT GTTCTGTTTG TTTAACGATT
 AAGTCCAAAT CTCCAAGTGC GGCAGTCAA AGAGACGCTT CAAGTGGGGA
 GAAGCGGCGA TACCATAGAG TCCAGATCTT GCCTCCAGAG ATTTGCTTTA
 CCTTCCTGAT TTTCTGGTTA CTAATTAGCT TCAGGATACG CTGCTCTCAT
 ACTTGGGCTG TAGTTTGGAG ACAAATATT TTCCTGCCAC TGTGTAACAT
 AGCTGAGGTA AAAACTGAAC TATGTAAATG ACTCTACTAA AAGTTTAGGG
 AAAAAAAAAA GGAGGAGTAT GACACAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
 AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA (配列番号3)

10

20

30

ヒトFcγRIタンパク質
AAI52384

MWFLTLTLLLVDPVDGQVDITKAVITLQPPWVSVFQEEVTTLHCEVLHLPSSSTQ
 WFLNGTATQTSTPSYRITSASVNDSEYRCQRGLSGRSDPIQLEIHRGWLLQVS
 SRVFTEGEPLALRCHAWKDKLVYNVLYYRNGKAFKFFHWNLSNLTILKTNISHNGT
 YHCSGMGKHRYTSAGISVTVKELFPAPVLNASVTSPLLEGNLVTLSCETKLLLQR
 PGLQLYFSFYMGSKTLRGRNTSSEYQILTARREDSGLYWCEAATEDGNVLKRSPE
 LELQVLGLQLPTPVWFHVLFFYLAVGIMFLVNTVLVWVTIRKELKRKKKWDLEISLD
 SGHEKKVISSLQEDRHLEELKCQEQKEEQLEQEGVHRKEPQGAT (配列番号4)

40

代表的なヒト化
FcγRIタンパク質

MWFLTLTLLLVDPVDGQVDITKAVITLQPPWVSVFQEEVTTLHCEVLHLPSSSTQ
 WFLNGTATQTSTPSYRITSASVNDSEYRCQRGLSGRSDPIQLEIHRGWLLQVS
 SRVFTEGEPLALRCHAWKDKLVYNVLYYRNGKAFKFFHWNLSNLTILKTNISHNGT
 YHCSGMGKHRYTSAGISVTVKELFPAPVLNASVTSPLLEGNLVTLSCETKLLLQR
 PGLQLYFSFYMGSKTLRGRNTSSEYQILTARREDSGLYWCEAATEDGNVLKRSPE
 LELQVLGLQLPTPVWGPQSSAPVWFHILFYLSVGIMFSLNVTLYVVKIHRQLREKK
 YNLEVPLVSEQGKKANSFQQRSDGVYEEVTATASQTTPKEAPDGPRS
 SVGDCGPEQPEPLPPSDSTGAQTSQS (配列番号5)

【0074】

ヒト化FcγRI非ヒト動物

50

発現する非ヒト動物の免疫細胞（例えば、骨髄細胞）の表面上にヒト化 F c y R I 受容体タンパク質を発現するが、これは、F c y R I タンパク質をコードする非ヒト動物の内在性遺伝子座の遺伝子改変の結果である、非ヒト動物が提供される。本明細書に記載される好適な例として、齧歯類、特にマウスが挙げられる。

【 0 0 7 5 】

いくつかの実施形態では、ヒト化内在性 F c y R I 遺伝子は、異種（例えば、ヒト）の遺伝物質を含み、このときヒト化内在性 F c y R I 遺伝子は、異種の遺伝物質をコードする部分を含む、F c y R I タンパク質をコードする。いくつかの実施形態では、本発明のヒト化内在性 F c y R I 遺伝子は、細胞の原形質膜上に発現する F c y R I タンパク質の細胞外部分に相当する、異種のゲノム DNA を含む。非ヒト動物、非ヒト胚、及びかかるヒト化内在性 F c y R I 遺伝子を含む細胞を作るための、非ヒト動物、胚、細胞及び標的化構築物も提供される。

10

【 0 0 7 6 】

いくつかの実施形態では、内在性 F c y R I 遺伝子座が欠失している。いくつかの実施形態では、内在性 F c y R I 遺伝子座が変化しており、このとき内在性 F c y R I 遺伝子座の一部は、異種配列（例えば、ヒト F c y R I 配列全体又は一部）で置換されている。いくつかの実施形態では、全て又は実質的に全ての内在性 F c y R I 遺伝子座は、異種遺伝子座（例えば、ヒト F c y R I 遺伝子座）で置換されている。いくつかの実施形態では、異種 F c y R I 遺伝子座の一部は、内在性非ヒト F c y R I 遺伝子座内に挿入されている。いくつかの実施形態では、異種遺伝子座はヒト遺伝子座である。

20

【 0 0 7 7 】

本発明の非ヒト動物は、ヒト F c y R I 遺伝子全体又は一部を、内在性非ヒト F c y R I 遺伝子座に含む。したがって、かかる非ヒト動物は、異種 F c y R I 遺伝子を有していると説明され得る。置換された、挿入された、又は修飾された内在性 F c y R I 遺伝子座は、例えば、PCR、ウエスタンブロット、サザンブロット、制限酵素切断片多型（RFLP）、又は、対立遺伝子獲得若しくは損失アッセイなどの、様々な方法を用いて検出できる。

【 0 0 7 8 】

様々な実施形態では、本発明によるヒト化 F c y R I 遺伝子は、配列番号 3 のヒト F c y R I 遺伝子中に現れる第 3、第 4、及び第 5 エクソンと、少なくとも 50 %（例えば、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又はそれ以上）同一である配列をそれぞれ有する、第 3、第 4、及び第 5 エクソンを持つ、F c y R I 遺伝子を含む。

30

【 0 0 7 9 】

様々な実施形態では、本発明によるヒト化 F c y R I 遺伝子は、ヌクレオチドコード配列（例えば、cDNA 配列）が、配列番号 5 中に現れるヌクレオチドと、少なくとも 50 %（例えば、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又はそれ以上）同一である、F c y R I 遺伝子を含む。

40

【 0 0 8 0 】

様々な実施形態では、本発明の非ヒト動物によって産生されるヒト化 F c y R I タンパク質は、表 3 中に現れるヒト F c y R I タンパク質の細胞外部分と、少なくとも 50 %（例えば、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又はそれ以上）同一である、配列を有する、細胞外部分を有する。

【 0 0 8 1 】

様々な実施形態では、本発明の非ヒト動物によって産生されるヒト化 F c y R I タンパク質は、配列番号 4 のヒト F c y R I タンパク質中に現れるアミノ酸残基 18 ~ 288 と、少なくとも 50 %（例えば、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80

50

%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれ以上)同一である、配列を有する、細胞外部分を有する。

【0082】

様々な実施形態では、本発明の非ヒト動物によって産生されるヒト化FcγRIタンパク質は、配列番号5に例示されるヒト化FcγRIタンパク質のアミノ酸配列と、少なくとも50%(例えば、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又はそれ以上)同一である、アミノ酸配列を有する。

【0083】

ヒトプロモーター及びヒト制御配列からこのようなタンパク質を発現する非ヒト動物を作製する構成及び方法などの、特定の多型体又は対立遺伝子多型(例えば、1アミノ酸の差異)を含む、ヒト化FcγRIタンパク質を発現する非ヒト動物を作製する構成及び方法が提供される。いくつかの実施形態では、内在性プロモーター及び内在性制御配列からこのようなタンパク質を発現する非ヒト動物を作製する構成及び方法も提供される。これらの方法は、ヒトFcγRIタンパク質全体又は一部をコードする遺伝物質を、内在性FcγRI遺伝子に相当する非ヒト動物のゲノム中の正確な位置に挿入することによって、全体又は一部がヒトであるFcγRIタンパク質を発現するヒト化FcγRI遺伝子を作製することを含む。いくつかの実施形態では、これらの方法は、挿入されたエクソンによってコードされるアミノ酸を含むヒト部分を含む、FcγRIタンパク質をコードするエクソン3~5ヒト化遺伝子に対応する、ゲノムDNAを挿入することを含む。

【0084】

ヒト化内在性FcγRI遺伝子による方法は、内在性遺伝子が比較的最小限で修飾されており、その結果、非ヒト動物において、天然のFcγRI媒介性エフェクター反応をもたらす結果となり、様々な実施形態では、FcγRI配列のゲノム配列が1つのフラグメント中で修飾されているため、必要な制御配列を含むことによって正常な機能を保持する。したがって、かかる実施形態では、FcγRI遺伝子の修飾は、他の周辺遺伝子又は他の内在性FcγRI遺伝子に影響しない。更に、様々な実施形態では、修飾は、原形質上の機能的受容体の集合に影響せず、結合、及び、修飾による影響が最小限又はない受容体の細胞質部分を介する後続するシグナル伝達によって、正常なエフェクター機能を維持する。

【0085】

内在性マウスFcγRI遺伝子及びヒト化内在性FcγRI遺伝子の概略図(正確な縮尺ではない)を、図5に示す。示されるように、ヒトFcγRI遺伝子のエクソン3~5を含むゲノムDNAが、標的化構築物によって内在性マウスFcγRI遺伝子座内に挿入される。このゲノムDNAは、Fc結合に関与する、ヒトFcγRIタンパク質の1つ又は2つ以上の細胞外ドメイン領域(例えば、アミノ酸残基28~362)をコードする遺伝子の一部を含む。

【0086】

ヒト化内在性FcγRI遺伝子を有する非ヒト動物(例えば、マウス)は、当該技術分野において既知である任意の方法によって作製できる。例えば、選択マーカー遺伝子を有するヒトFcγRI遺伝子の全体又は一部を導入する、標的化ベクターを作製できる。図5は、ヒトFcγRIのエクソン1~5の挿入部を含む、マウスゲノムを示す。示されるように、標的化構築物は、内在性マウスFcγRI遺伝子のエクソン1の上流の配列を含む5'相同性アーム、続いて、ヒトFcγRI遺伝子のエクソン1~5を含むゲノムDNAフラグメント、薬剤選択カセット(例えば、loxP配列の両側に隣接するネオマイシン耐性遺伝子)、及び内在性マウスFcγRI遺伝子のエクソン6の下流の配列を含む3'相同性アームを含む。相同組み換えが起こると、内在性マウスFcγRI遺伝子のエクソン1~5及びエクソン6の一部は、標的化ベクター中に含まれる配列によって置換される。ヒト化内在性FcγRI遺伝子は、ヒトFcγRI遺伝子のエクソン1~5によってコードされるアミノ酸を含む、ヒト化FcγRIタンパク質を発現する細胞又は非ヒト動

物によって作られる。薬剤選択カセットは、後に続くリコンビナーゼの付加により（例えば、Cre処理による）、所望により除去されてよい。

【0087】

本明細書に記載されるヒト化FcγRI遺伝子を有するマウスに加え、更に本明細書に提供されるのは、ヒト化FcγRI遺伝子を含む、別の遺伝子組み換え非ヒト動物である。いくつかの実施形態では、かかる非ヒト動物は、内在性FcγRIプロモーターに機能的に連結されるヒト化FcγRI遺伝子を含む。いくつかの実施形態では、かかる非ヒト動物は、内在性遺伝子座からヒト化FcγRIタンパク質を発現し、このときヒト化FcγRIタンパク質は、ヒトFcγRIタンパク質のアミノ酸残基16～290を含む。

【0088】

かかる非ヒト動物は、マウス、ラット、ウサギ、ブタ、ウシ（例えば、雌ウシ、雄ウシ、水牛）、シカ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ、ネコ、イヌ、フェレット、霊長類（例えば、マーモセット、アカゲザル）からなる群から選択されてよい。好適な遺伝子組み換え可能なES細胞が容易に入手できない非ヒト動物では、別の方法を利用して、本明細書に記載される遺伝子改変を含む非ヒト動物を作製する。かかる方法は、例えば、非ES細胞ゲノム（例えば、線維芽細胞又は誘導多能性細胞）を修飾すること、及び、修飾したゲノムを好適な細胞、例えば、卵母細胞に移す核移植を利用すること、及び、胚を形成する好適条件下で、修飾した細胞（例えば、修飾した卵母細胞）を非ヒト動物に懐胎させること、を含む。

【0089】

いくつかの実施形態では、本発明の非ヒト動物は哺乳類である。いくつかの実施形態では、本発明の非ヒト動物は、小型哺乳類、例えば、トビネズミ科又はネズミ上科のスーパーファミリーである。いくつかの実施形態では、本発明の遺伝子組み換え動物は齧歯類である。いくつかの実施形態では、本発明の齧歯類は、マウス、ラット、及びハムスターから選択される。いくつかの実施形態では、本発明の齧歯類は、ネズミ上科のスーパーファミリーから選択される。いくつかの実施形態では、本発明の遺伝子組み換え動物は、カンガルーハムスター科（例えば、マウス様ハムスター）、キヌゲネズミ科（例えば、ハムスター、新世界ラット及びマウス、ハタネズミ）、ネズミ科（真正マウス及びラット、スナネズミ、トゲマウス、タテガミネズミ）、アシナガマウス科（キノボリマウス、イワマウス、尾付きラット、マダガスカルラット及びマウス）、トゲヤマネ科（例えば、トゲヤマネ）、及びメクラネズミ科（例えば、デバネズミ、タケネズミ、及びモグラネズミ）から選択される科由来である。いくつかのある実施形態では、本発明の遺伝子組み換え齧歯類は、真正マウス又はラット（ネズミ科）、スナネズミ、トゲマウス、タテガミネズミから選択される。いくつかのある実施形態では、本発明の遺伝子組み換えマウスは、ネズミ科のメンバー由来である。いくつかの実施形態では、本発明の非ヒト動物は齧歯類である。いくつかのある実施形態では、本発明の齧歯類は、マウス及びラットから選択される。いくつかの実施形態では、本発明の非ヒト動物はマウスである。

【0090】

いくつかの実施形態では、本発明の非ヒト動物は、C57BL/A、C57BL/An、C57BL/GrFa、C57BL/KaLwN、C57BL/6、C57BL/6J、C57BL/6ByJ、C57BL/6NJ、C57BL/10、C57BL/10ScSn、C57BL/10Cr、及びC57BL/Olaから選択される、C57BL系統のマウスである齧歯類である。いくつかのある実施形態では、本発明のマウスは、129P1、129P2、129P3、129X1、129S1である系統からなる群から選択される、129系統（例えば、129S1/Sv、129S1/SvIm）、129S2、129S4、129S5、129S9/SvEvH、129/SvJae、129S6（129/SvEvTac）、129S7、129S8、129T1、129T2である（例えば、Festing et al., 1999, Mammalian Genome 10:836; Auerbach et al., 2000, Biotechniques 29(5):1024-1028, 1030, 1032 参照）。いくつかのあ

10

20

30

40

50

る実施形態では、本発明の遺伝子組み換えマウスは、前記 1 2 9 系統及び前記 C 5 7 B L / 6 系統の混合である。いくつかのある実施形態では、本発明のマウスは、前記 1 2 9 系統の混合、又は前記 B L / 6 系統の混合である。いくつかのある実施形態では、本明細書に記載される混合の 1 2 9 系統は、1 2 9 S 6 (1 2 9 / S v E v T a c) 系統である。いくつかの実施形態では、本発明のマウスは、B A L B 系統、例えば、B A L B / c 系統である。いくつかの実施形態では、本発明のマウスは、B A L B 系統及び別の前記系統の混合である。

【 0 0 9 1 】

いくつかの実施形態では、本発明の非ヒト動物はラットである。いくつかのある実施形態では、本発明のラットは、W i s t a r ラット、L E A 系統、S p r a g u e D a w l e y 系統、F i s c h e r 系統、F 3 4 4、F 6、及び D a r k A g o u t i から選択される。いくつかのある実施形態では、本明細書に記載されるラットの系統は、W i s t a r、L E A、S p r a g u e D a w l e y、F i s c h e r、F 3 4 4、F 6、及び D a r k A g o u t i からなる群から選択される、2 つ又はそれ以上の系統の混合である。

10

【 0 0 9 2 】

ヒト化 F c y R I 遺伝子を有する非ヒト動物

F c y R 変異体及び遺伝子導入非ヒト動物 (例えば、マウス) は、例えば、v a n d e W i n k e l らによって米国特許第 6 , 1 1 1 , 1 6 6 号で報告されている。

20

【 0 0 9 3 】

このような動物は、F c y R I の発現、機能、及び制御といった分子の特徴を評価するアッセイに使用されている。しかしながら、これらは制限がないわけではなく、不都合もある。例えば、' 1 6 6 特許に開示されるマウスは、ゲノム中に不規則に挿入されているヒト F c y R I を含有し、(1) 検出されてもされなくても、意図せずに、他の遺伝子の発現及び又は機能を破壊する場合があります、(2) 1 つの種類の F c y R の特定の実験を複雑にする、又は混乱させる、完全ヒト及び完全マウス F c y R I の両方の発現をもたらす。その上、シグナル伝達に關与する F c y R I α 鎖の細胞内領域がマウスというよりはヒトであるため、F c y R I α 鎖の細胞内シグナル領域は、混乱され、破壊され、ないしは別の方法で ' 1 1 6 特許に開示されるマウスの正常な F c y R I に従わない場合がある。

30

【 0 0 9 4 】

本発明は、これら及びその他の不都合に打ち勝つ手段を提供する。本発明は、特に、マウス F c y R I をヒト又はハイブリッド F c y R I 遺伝子で置換するために、内在性マウス遺伝子座に挿入されたヒト化 F c y R I 導入遺伝子を提供する。いくつかの実施形態では、ハイブリッド F c y R I 遺伝子は内在性マウス遺伝子座に挿入され、このとき細胞外ドメインはヒト配列を含み、細胞内ドメインはマウス配列を含む。いくつかの実施形態では、ハイブリッド F c y R I 遺伝子をマウス F c y R I 遺伝子の内在性遺伝子座に挿入すると、内在性マウス F c y R I タンパク質を追加的に発現するマウスの免疫細胞上の、ヒト F c y R I タンパク質発現の分布と比較して、ヒト免疫細胞上のヒト F c y R I タンパク質の分布により似ている、免疫細胞上の F c y R I タンパク質の発現をもたらす。いくつかの実施形態では、ハイブリッド F c y R I 遺伝子をマウス F c y R I 遺伝子の内在性遺伝子座に挿入すると、適当なシグナル及び刺激によって誘導され、制御される、免疫細胞上の F c y R I タンパク質の発現をもたらす。

40

【 0 0 9 5 】

いくつかの実施形態では、F c y R I α 鎖が介在する M H C クラス I I 抗原の提示は、ヒト化細胞外領域及びマウス F c y R I α 鎖細胞内領域を持つハイブリッド F c y R I タンパク質を有するマウス内で、機能的に維持される。いくつかの実施形態では、内部に取り入れられた F c y R I の細胞内プロセッシングは、完全ヒト F c y R I タンパク質又は非マウス細胞内領域を持つ F c y R I タンパク質を有するマウスと比較して、マウス細胞内領域を持つハイブリッド F c y R I タンパク質を有するマウスにおいて保たれている。

50

【 0 0 9 6 】

本発明の非ヒト動物は、様々なアッセイに有用なヒトFcγRIを発現する、改善されたin vivoシステム、及び生物由来物質（例えば、細胞）の供給源を提供する。様々な実施形態では、FcγRIを標的とする、並びに/又は、FcγRIシグナル及び免疫エフェクター応答を調節する、治療物質を開発するために、本発明の非ヒト動物を用いる。様々な実施形態では、FcγRIが結合する候補治療物質（例えば、抗体）をスクリーニングし、開発するために、本発明のマウスを用いる。様々な実施形態では、特定の治療用抗体に関連する免疫エフェクター応答を判定するために、本発明の非ヒト動物を用いる。

【0097】

内在性高親和性マウスFcγR遺伝子を発現しない遺伝子組み換え非ヒト動物は、例えば、免疫反応における個々の高親和性FcγR遺伝子の様々な機能を明らかにするため、細胞性免疫（例えば、ADCC）による、ヒト治療用抗体の有効性を測定するため、免疫疾患又は異常におけるFcγRの働きを判定するため、免疫疾患又は異常のモデルとして、1つ又は2つ以上のFcγRタンパク質に対する抗体を生成するため、及び、対照とする別の遺伝子組み換えマウスの産生用の交配相手として、有用である。

10

【0098】

一実施形態では、本発明によるマウスを用いて、（野生型マウスと比べて）マウスにある薬剤を投与することによって高親和性FcγR遺伝子を発現しないマウスによる、細胞毒性効果の損失を判定でき、このときこの薬剤は、野生型マウスにおいてFcγR依存性細胞毒性効果を引き起こすことが知られているものである。一実施形態では、本発明のマウスに腫瘍細胞を移植し、しばらくした後、腫瘍細胞の表面上に発現される抗原に特異的な抗体を注射する。注射に先だって抗体のアイソタイプが既知であり、野生型動物で見られるADCCと比較して、FcγR依存性ADCCの機能障害について動物を解析する。

20

【0099】

一態様では、内在性高親和性受容体を欠くマウスを、（例えば、交配により）別の免疫不全マウスと掛け合わせ、自己免疫疾患のin vivoモデルを作製できた。例えば、重症複合型免疫不全（SCID）マウスは、当該技術分野において、内部系の研究のモデル生物として通常使用される。Scmマウスは、T若しくはBリンパ球の産生能、又は補体系の構成要素の一部の活性化能が低下しており、効果的に感染症に対して抵抗、腫瘍を拒絶、及び移植を拒絶することができない。本発明の高親和性FcγRaサブユニット遺伝子を欠くマウスをSCIDマウスと交配し、抗体医薬（例えば、抗腫瘍抗体）の投与に反応した、宿主動物における細胞の枯渇を確認し、腫瘍細胞枯渇におけるADCC及び補体依存性細胞傷害（CDC）の役割をin vivoで検討できる。

30

【0100】

いくつかの実施形態では、内在性高親和性FcγR遺伝子の高親和性ヒトFcγR遺伝子での置換を含む、遺伝子組み換え非ヒト動物が提供される。かかる動物は、完全ヒト抗体の薬物動態及びFcγR-媒介性ADCCの研究に有用である。加えて、ヒトFcγR遺伝子は、疾患に関連する遺伝子多型又は対立遺伝子多型を呈することが示されている。したがって、内在性高親和性FcγR遺伝子の、特定の対立形質又は多型形質であるヒトFcγR遺伝子での置換を含む遺伝子組み換え非ヒト動物を用いて、動物において、ヒト自己免疫疾患、及び、遺伝子多型に関連する形質を研究できる。いくつかの実施形態では、ヒトFcγR遺伝子の対立形質は、ヒトIgGの効力の増強に関連している。

40

【0101】

いくつかの実施形態では、ヒト高親和性FcγR遺伝子多型のヒト抗体医薬の有効性に及ぼす影響が判定される。いくつかの実施形態では、抗腫瘍抗体を、ヒトFcγRの第1遺伝子多型を有する第1ヒト化マウスに、また、ヒトFcγRの第2遺伝子多型を有する第2ヒト化マウスにも投与し、このとき第1及び第2マウスのそれぞれがヒト腫瘍細胞を持っており、抗腫瘍抗体の抗腫瘍活性を第1マウス及び第2マウスにおいて評価する。

【0102】

いくつかの実施形態では、第1マウス及び第2マウスにおける抗腫瘍抗体の有効性の評

50

価に基づき、第1又は第2遺伝子多型を有し、ヒト腫瘍細胞に相当する腫瘍を有するヒトの治療に対して、治療オプションが医師によって選択される。

【0103】

内在性FcγRIα鎖置換法は、動物において、天然のFcγR-媒介性シグナル伝達を比較的最小限に破壊することを利用している。様々な実施形態では、FcγRIα鎖のゲノム配列を1つのフラグメント内で置換し、そのため、必要な制御配列を含めることによって正常な機能を保持する。したがって、かかる実施形態では、FcγRIα鎖の修飾は、機能性FcγR鎖分子に依存する、他の内在性FcγRを損なわない。更に、様々な実施形態では、この修飾は、FcγRIα鎖及び内在性FcγRI鎖が関与する機能性受容体複合体の集合に影響せず、これは、細胞表面上へのいくつかのFcγRIα鎖の適切な発現と、活性化受容体に起因する特定の下流シグナル伝達に重要であり得る。FcγRI鎖が欠失していないため、様々な実施形態では、内在性FcγRIα鎖遺伝子のヒトFcγRIα鎖遺伝子での置換を有する動物は、抗体が、IgG免疫グロブリンのFc領域の、アクセサリー細胞の表面上に存在するヒトFcγRIα鎖に結合することによる、正常なエフェクター機能を処理することができる。

10

【0104】

本発明の非ヒト動物はヒト化FcγRIタンパク質を発現するため、細胞、細胞株、及び細胞培養物を、結合及び機能性アッセイ、例えば、FcγRIの可能性のある治療用抗体に対する結合又は機能の評価に用いる、ヒト化FcγRIの供給源として生成することができる。様々な実施形態では、本明細書に記載される非ヒト動物によって発現されるヒト化FcγRIタンパク質は、変異体アミノ酸配列を含み得る。リガンド結合残基に関連する変異を有する変異体ヒトFcγRIタンパク質が報告されている。様々な実施形態では、本発明の非ヒト動物は、ヒト化FcγRIタンパク質変異体を発現する。様々な実施形態では、この変異体は、リガンド結合に関連するアミノ酸位置における多型である。様々な実施形態では、本発明の非ヒト動物を用いて、ヒトFcγRIの多型変異体との相互作用によって、治療用抗体の免疫エフェクター応答を判定する。

20

【0105】

本発明の非ヒト動物由来の細胞を単離し、ad hocで使用でき、又は多世代にわたって培養を維持できる。様々な実施形態では、本発明の非ヒト動物由来の細胞を不死化し、無制限に培養下で維持する(例えば、連続培養下)。

30

【0106】

本発明の非ヒト動物は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害のメカニズムを解明する、改善されたin vivo系を提供する。

【実施例】

【0107】

以下の実施例は、当業者に対し、本発明の方法及び構成を作製し、使用方法を記載するために提供され、発明者らが本発明であるとみなす範囲を制限することを意図しない。別途記載のない限り、温度は摂氏で示し、圧力は大気圧又はほぼ大気圧である。

【0108】

実施例1. 内在性FcγRI遺伝子のヒト化

40

この実施例は、齧歯類(例えば、マウス)などの非ヒト哺乳類において、高親和性FcγRIをコードする内在性遺伝子をヒト化する、代表的な方法を示す。

【0109】

ヒト化FcγRI標的化ベクター(MAID6074)の構築

大型標的化ベクター(LTVEC)を、マウス染色体3上のマウスの対応配列を置換するため、ヒトFcγ受容体1遺伝子(プロモーター領域、シグナル+エクドメイン領域)を用いることによって構築した。

【0110】

BAC系標的化ベクター(MAID6073)の産生

FcγRIの遺伝子を含むマウスBAC RP23-477p23及びヒトBAC C

50

T D - 2 3 3 9 o 2 2 を、N C B I 及び E n s e m b l e のデータベースに基づき、b l a s t 及び B A C e n d 配列を用いて同定した。

【 0 1 1 1 】

(5 ' 遠位端) F c y R I 遺伝子プロモーター (2 5 k b) から、ヒト F c y R I 遺伝子の遺伝子コドン W 2 9 0 (膜貫通ドメイン (T M) の前) における 3 ' 近位端までのヒト配列 (その後、マウス膜貫通ドメイン及び残りの遺伝子が続く) を含む、標的化ベクターである L T V E C を産生する方法は、次の工程を含む。

【 0 1 1 2 】

第 1 に、細菌における相同組み換えによって、ヒト B A C (C T D - 2 3 3 9 o 2 2) からヒト配列の 5 ' 端を除去し、I - C e u 1 部位及び F c y R I 遺伝子の 2 5 k b のプロモーター領域を残し、F c y R 1 遺伝子のイントロン 5 (T M ドメインの上流 4 0 4 b p) 内に位置する l o x p e d p g k - N e o カセットによってヒト配列の 3 ' 端を除去し、その後 A s i S 1 部位とした。

【 0 1 1 3 】

第 2 に、細菌における相同組み換えによって、マウス B A C R P 2 3 - 4 7 7 p 2 3 において、マウス F c y R I 遺伝子 (プロモーター (2 0 k b) から膜貫通ドメインまで) を S p e c カセット (マウス T M の前に追加された、ヒト F c y R I 配列 (コドン W 2 9 0) までの 8 A A の E C 3 ドメイン) によって除去し、I - C e u 1 及び A s i S 1 部位を隣接させた。

【 0 1 1 4 】

第 3 に、I - C e u 1 及び A s i S 1 部位で消化し、ライゲーションして、ヒト F c y R I の (5 ' 遠位端) F c y R I 遺伝子プロモーター (2 5 k b) からコドン W 2 9 0 (膜貫通ドメインの前) における 3 ' 近位端までのヒト配列、後続にマウス膜貫通ドメイン及び残りの遺伝子を含む、L T V E C (M A I D 6 0 7 3) を生じた。

【 0 1 1 5 】

図 3 2 は、マウス F c y R I のヒト化のための、模式的かつ代表的な戦略を示す。M A I D 6 0 7 4 は、M A I D 6 0 7 3 からカセットを除去したものである。接合部配列を図 6 に示す。

【 0 1 1 6 】

標的化マウス E S 細胞の選択

M A I D 6 0 7 4 L T V E C を、マウス E S 細胞株 F 1 H 4 内に電気穿孔法により導入した。

【 0 1 1 7 】

実施例 2 . 高親和性 F c y R I ヒト化マウスの発生

この実験は、マウスの形質転換及び交配について示す。h F c g R 1 エクトドメイン (M A I D 6 0 7 3) L T V E C を、親 F 1 H 4 マウス胚性幹 (E S) 細胞内に電気穿孔法により導入した。G 4 1 8 薬剤選択により生存したコロニーを採取し、F c y R I マウス遺伝子座内へのヒト F c y R I 配列の相同組み換えについてスクリーニングした。適切な修飾を有し、ヒト F c y R I エクトドメインがヘテロ接合されている 8 つのクローンを同定し、そのうちの 1 つをクローン 6 0 7 3 F - D 2 とした。これらのクローン全てが、n e o カセットを有していた。

【 0 1 1 8 】

クローン 6 0 7 3 F - D 2 を、2 μ g の C r e プラスミドと共に電気穿孔法を行い、n e o カセットを取り除いた。コロニーを採取した後、n e o カセットを含まないことについてスクリーニングした。n e o カセットが除かれていると確認できたクローンのうち、E S クローン 6 0 7 4 B - A 1 及び 6 0 7 4 B - A 1 0 を、V e l o c i M o u s e 法を用いて顕微注射した。

【 0 1 1 9 】

雄性及び雌性 (X Y 雌性) F 0 V e l o c i M o u s e を、クローン 6 0 7 4 B - A 1 及び 6 0 7 4 B - A 1 0 から発生させた。これらの F 0 マウスを、クローンペア及び非

10

20

30

40

50

クローンペアにおいて、互いに交配した。F 1 マウスを発生させると、これらのマウスが、ヒト F c y R I についてヘテロ接合及びホモ接合（及び野生型）であることが示された。F 1 マウスの外観は正常であり、H o m : H e t : W T マウスの比は、予想されたメンデル比である 1 : 2 : 1 に従った。ヒト F c y R I について野生型及びホモ接合である雄性及び雌性のコホートを、実験のために移した。

【0120】

実施例 3 . 高親和性 F c y R I ヒト化マウスの特徴

この実験は、内在性 F c y R I 遺伝子座に、実施例 1 に記載するヒト化 F c y R I 遺伝子構築物を含むように遺伝子組み換えされた非ヒト動物由来の細胞表面上の、高親和性 F c y R I タンパク質の特徴的発現を示す。

10

【0121】

高親和性 F c y R I ヒト化マウスの遺伝子型の特徴を図 1 ~ 3 に示す。マウス F c y R I の転写物は、ヒト化 F c y R I ホモ接合のマウスでは検出されない。

【0122】

表現型の特徴の結果を図 4、及び 7 ~ 16 に示す。

【0123】

実施例 4 . マウス顆粒球コロニー刺激因子 (m G - C S F) で処理した高親和性 F c y R I ヒト化マウスの表現型の特徴

マウス G - C S F (m G - C S F) 対リン酸緩衝生理食塩水 (P B S) 対照で処理した M A I D 6074 (h F c y R I) H O マウスについて、表現型解析を実施した。皮下注射 48 時間後にマウスを検査した。P B S (n = 2) 又は m G - C S F (n = 3) で処理した M A I D 6074 H O マウスに対する、P B S (n = 2) 又は m G - C S F (n = 2) で処理した 6 ~ 7 週齢の M A I D 6074 W T マウスのデータを示す。P B S (n = 1) 又は m G - C S F (n = 1) で処理した M A I D 6074 H O マウスに対する、P B S (n = 1) 又は m G - C S F (n = 1) で処理した 16 ~ 17 週齢の M A I D 6074 W T マウスの結果も同様であった。M A I D 6074 W T 及び M A I D 6074 H O マウスの、血液及び脾臓中の単球、マクロファージ、好中球、及び樹状細胞における、マウス又はハイブリッド F c y R I のベースライン (P B S) 及び m G - C S F 誘発発現を、図 17 ~ 31 に示す。

20

【0124】

未処理の M A I D 6074 H O マウスは、血液中に F c y R I (C D 64) m R N A を発現するが、F A C S によってタンパク質は検出されなかった。G - C S F (48 時間) は、F A C S によってタンパク質が検出されるように、血液及び脾臓中で F c y R I (C D 64) m R N A の上昇を誘導した。

30

【0125】

実施例 5 . ヒト化高及び低親和性 F c y 受容体を発現するマウスの表現型の特徴

標準的な交配手法を用いて、ヒト化高親和性及び低親和性 F c y 受容体を発現したマウスを発生させた。具体的には、実施例 1 及び 2 に記載されるように発生させたヒト化高親和性 F c y R I を発現するマウスを、米国特許出願公開第 2014 / 0154701 号 (参照することにより本明細書に組み込まれる) の実施例 1 ~ 6 及び図 1 ~ 6 に記載されるように発生させたヒト化低親和性 F c y R I I a、F c y R I I b、F c y R I I c、F c y R I I I a 及び F c y R I I I b を発現するマウスと掛け合わせた。得られたマウスをホモ接合となるように育てた。

40

【0126】

マウス G - C S F (m G - C S F) 又はリン酸緩衝生理食塩水 (P B S) 対照による処理後、ヒト化高及び低親和性 F c y R マウスについて表現型解析を実施した。マウスに、P B S 又は m G - C S F (62 µ g s . c .、単回投与) を皮下注射した。48 時間後、処理マウスから血液及び脾臓を採取し、実施例 4 に記載されるように F A C S によって表現型について特徴解析した。ヒト化高及び低親和性 F c y R マウスの細胞表面表現型は、高親和性 F c y R ヒト化マウスについて観察された表現型と類似していた。また高親和

50

性 F c y 受容体ヒト化マウスと同様に、高及び低親和性 F c y 受容体の両方がヒト化したマウスは、血液及び脾臓系の単球、マクロファージ及び好中球におけるヒト F c y R I の発現上昇が見られた。まとめると、F c y R I ヒト化マウスにおける低親和性 F c y 受容体のヒト化は、顕著な表現型の変化をもたらさなかった。

【 0 1 2 7 】

均等

本発明の少なくとも 1 つの実施形態のいくつかの態様についてこのように説明してきたが、様々な変更、改変、及び改良が当業者にとって容易に起こり得ることが、当業者によって理解される。かかる変更、改変、及び改良は、本開示の一部であると意図されており、本発明の趣旨及び範囲内であることが意図される。結果的に、前記説明及び図面は例示に過ぎず、本発明は、以下の特許請求の範囲によって詳細に記載される。

10

【 0 1 2 8 】

特許請求される要素を修飾するため、特許請求の範囲中で「第 1」、「第 2」、「第 3」などの順序を表す用語を使用することは、1 つの特許請求される要素の別のものに対する任意の優先的、優位的順序、又は、方法における動作が行われ得時間的順序をそれ自体が包含しないが、特許請求される要素を区別するため、ある名称を有する 1 つの特許請求される要素を、同じ名称を有する（ただし、順序を表す用語の使用に関して）別の要素と区別するための表示として使用するにすぎない。

【 0 1 2 9 】

本明細書で使用されるとき、明細書及び特許請求の範囲において冠詞「1 つの (a)」及び「1 つの (an)」は、それと反対の指示が明示されていない限り、複数の指示対象を含むと理解されたい。その群の 1 つ又は 2 つ以上の構成要素間に「又は (or)」を含む特許請求の範囲又は説明は、それと反対の指示がない限り、又は文脈から明らかでない限り、その群の構成要素のうち 1 つ、2 つ以上、又は全てが、ある製品又はプロセスに存在する、使用される、ないしは別の方法で関連する場合に、満たされると考えられる。本発明は、その群のちょうど 1 つの構成要素が、ある製品又はプロセスに存在する、使用される、ないしは別の方法で関連する実施形態を含む。本発明はまた、その群の構成要素の 2 つ以上、又は全体が、ある製品又はプロセスに存在する、使用される、ないしは別の方法で関連する実施形態も含む。更に、本発明は、特に断りのない限り、又は、矛盾若しくは不一致が起こり得ることが当業者に明らかでない限り、列挙される請求項のうち 1 つ又は 2 つ以上から、1 つ又は 2 つ以上の制限、要素、条項、記述用語などが、同じ規準の請求項（又は、関連するときは任意の他の請求項）に応じて、別の請求項内に組み込まれる、全ての変更例、組み合わせ、及び並べ替えを包含すると理解される。要素が（例えば、マーカッシュ群又は類似の形式に）リストとして存在する場合、要素内の各下位群も開示されており、任意の要素はその群から外される場合があると理解される。一般に、本発明、又は本発明の態様が、特定の要素、特徴などを含むと指定される場合、本発明のある実施形態又は本発明の態様は、かかる要素、特徴などからなる、又は本質的になると理解されたい。簡潔にするため、これらの実施形態は、全ての場合において、本明細書において多くの言葉で具体的に規定していない。本発明の任意の実施形態又は態様は、特定の除外について明細書中に示されたかどうかに関係なく、請求項から明確に除外できることも、理解されたい。

20

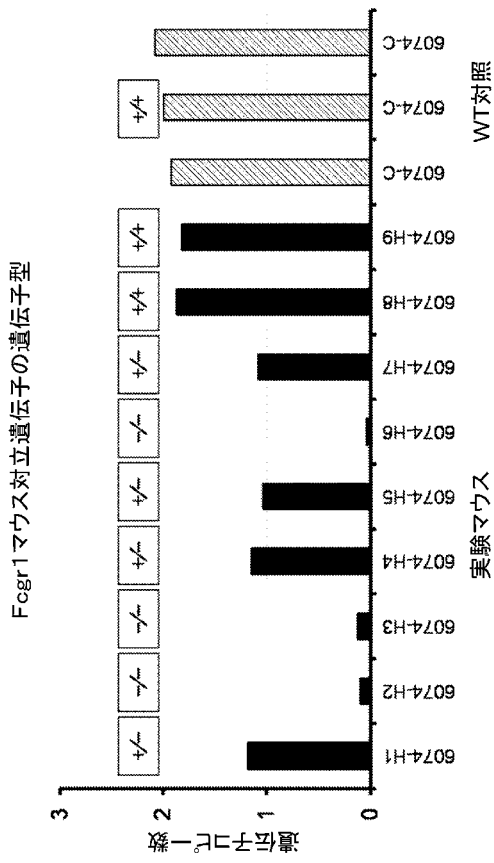
30

40

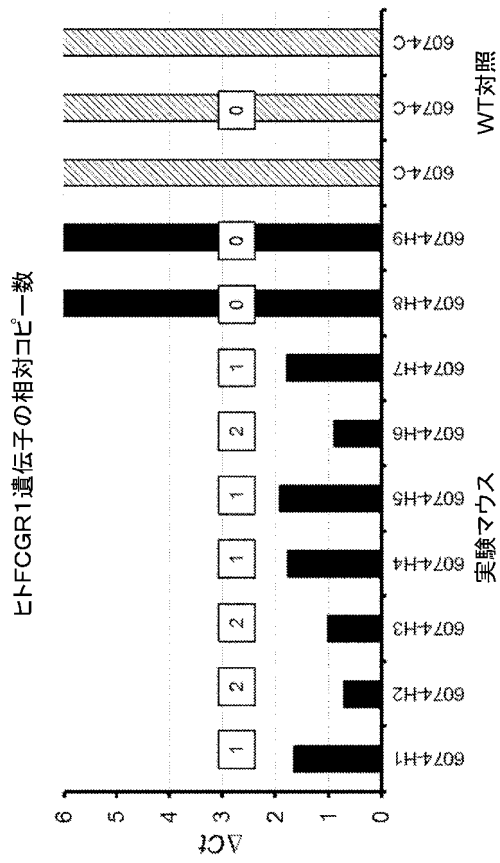
【 0 1 3 0 】

当業者は、本明細書に記載されるアッセイ又は他のプロセスで得られた値に寄与し得る、典型的な標準偏差又はエラーについて理解するであろう。

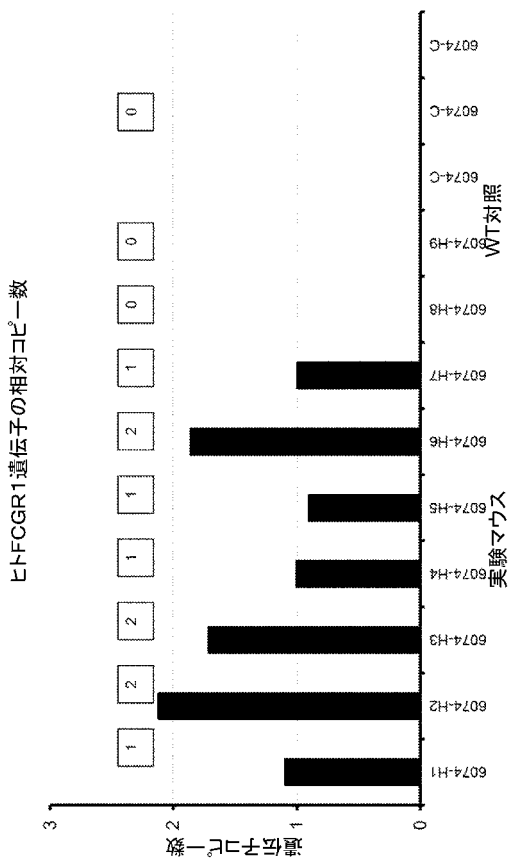
【図1】



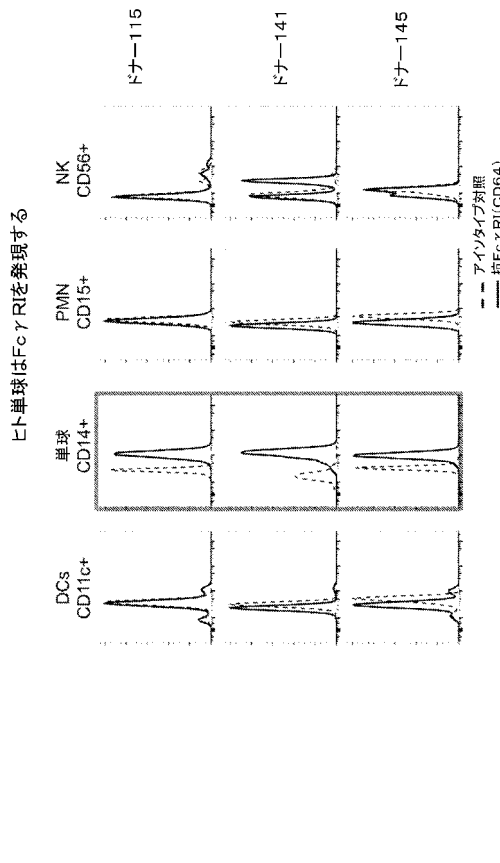
【図2】



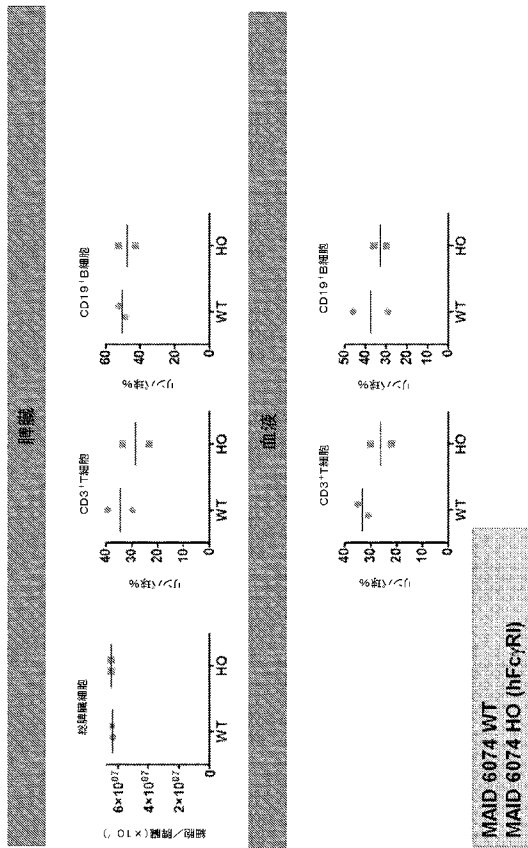
【図3】



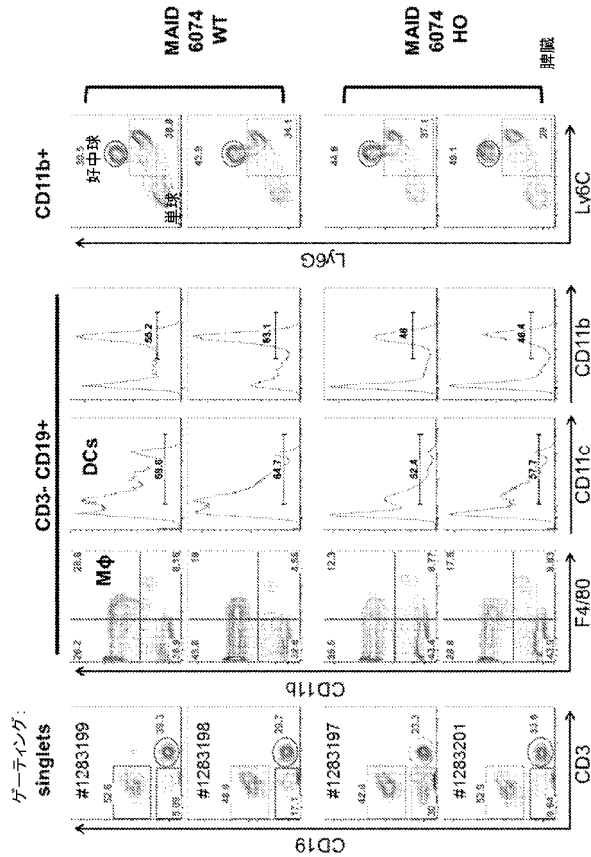
【図4】



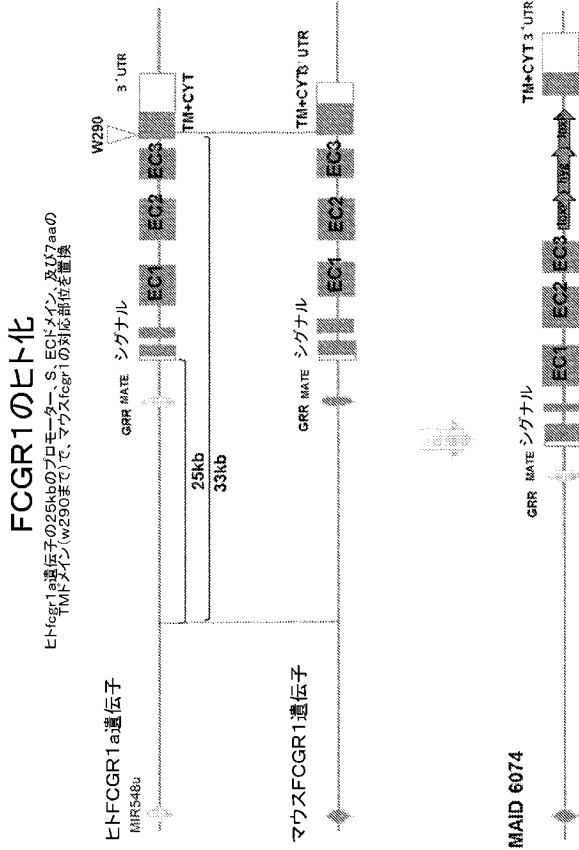
【図 7】



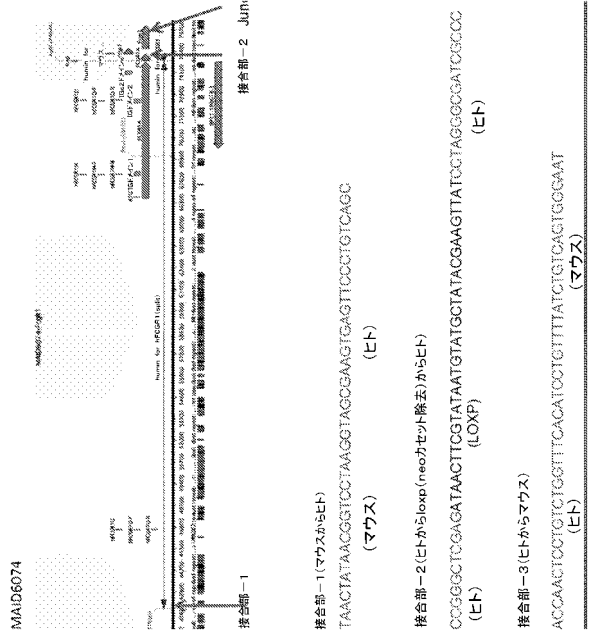
【図 8】



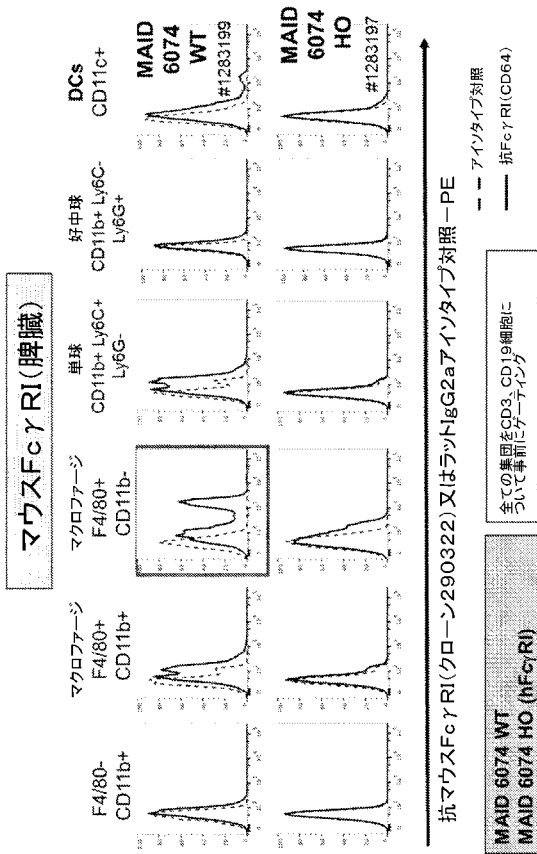
【図 5】



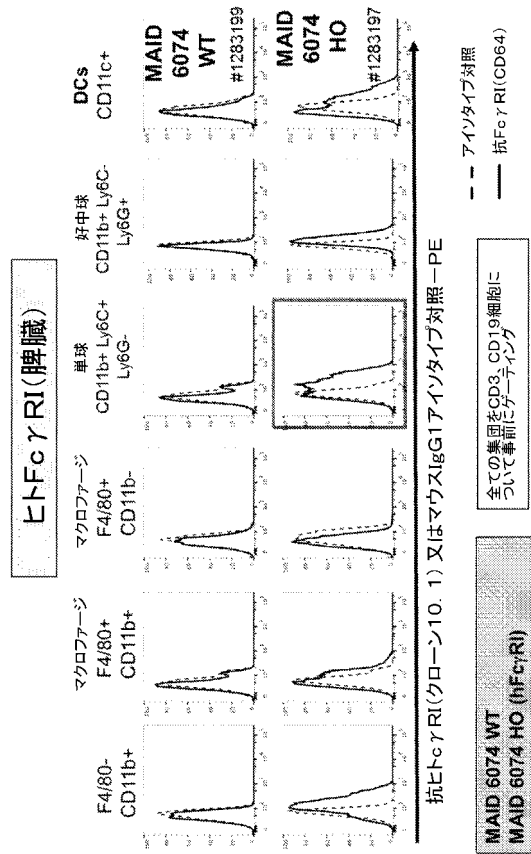
【図 6】



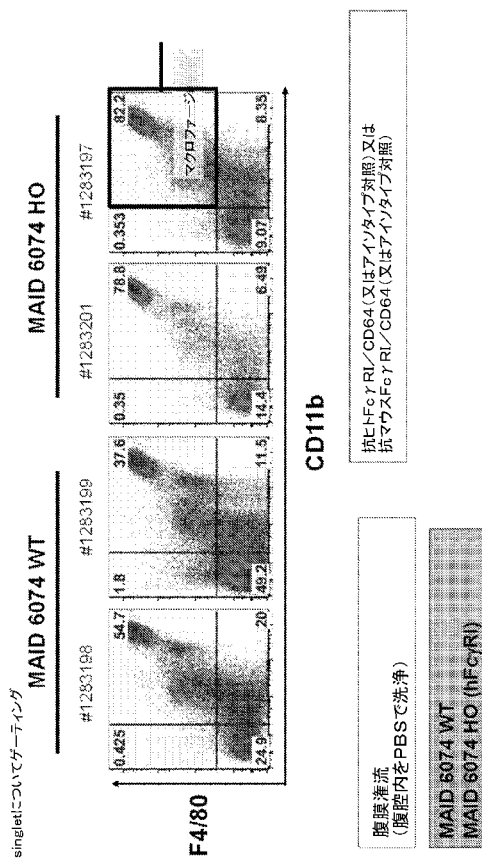
【 図 9 】



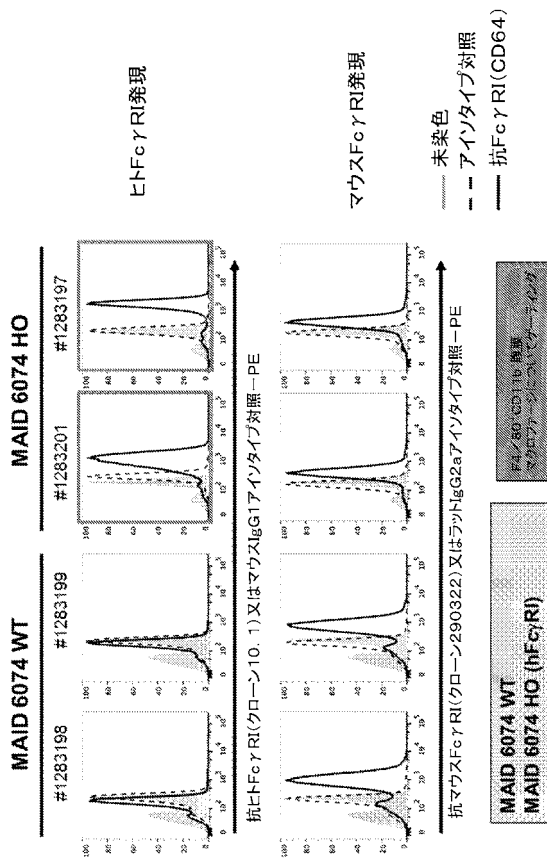
【 図 1 0 】



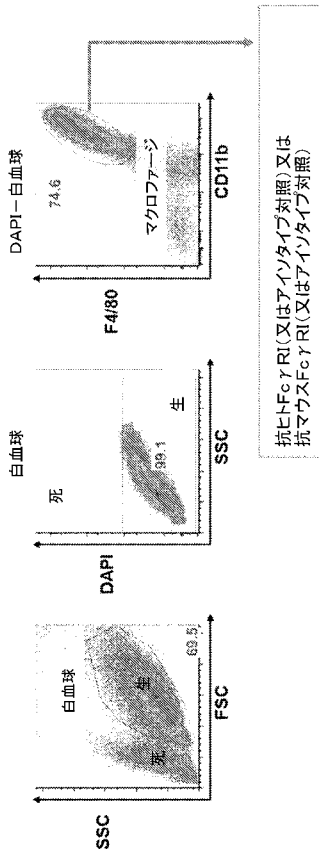
【 図 1 1 】



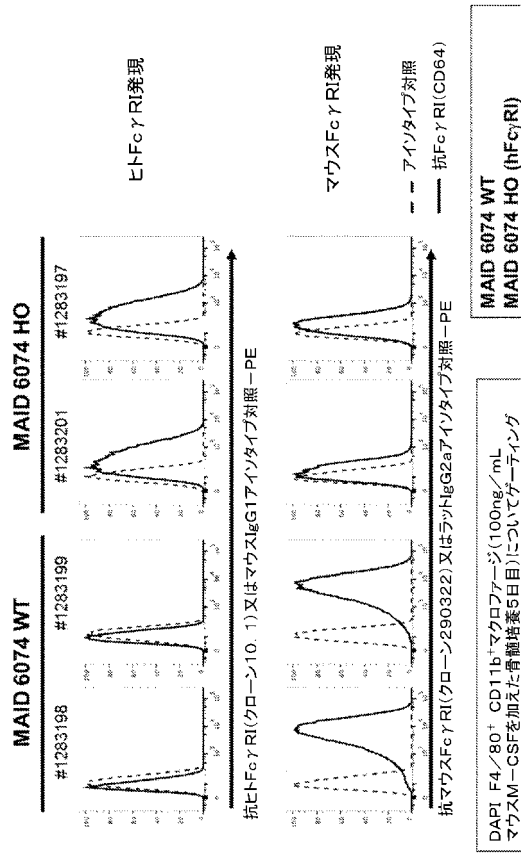
【 図 1 2 】



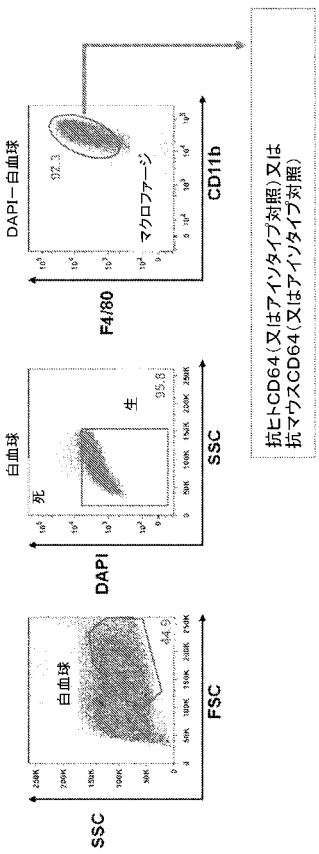
【図 13】



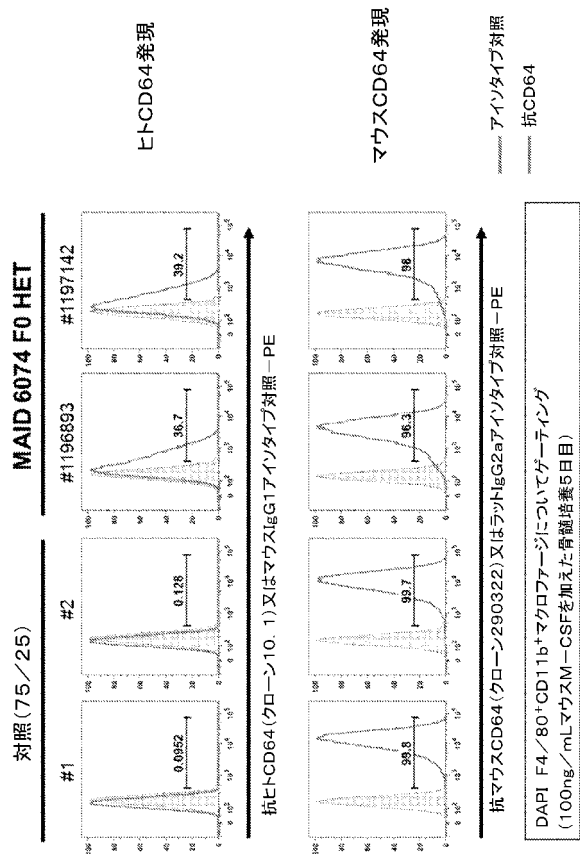
【図 14】



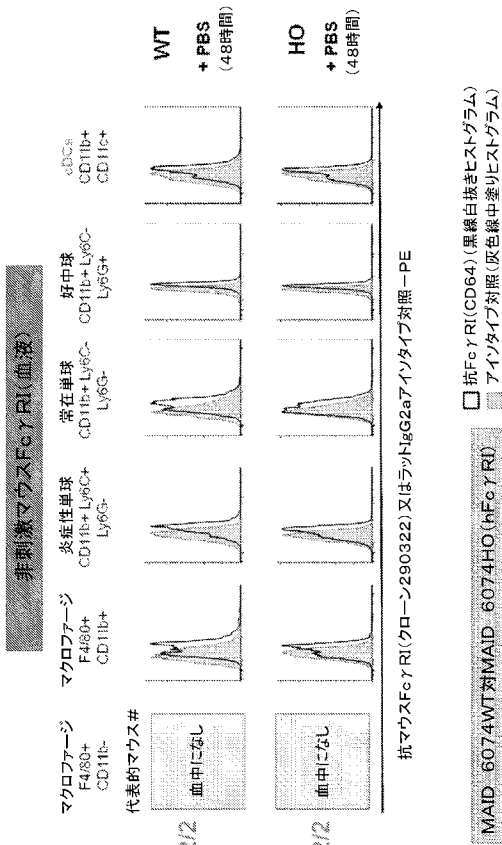
【図 15】



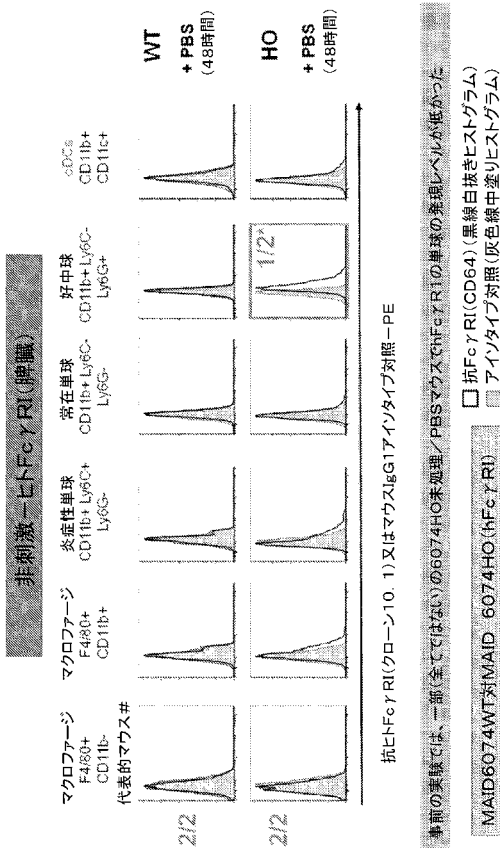
【図 16】



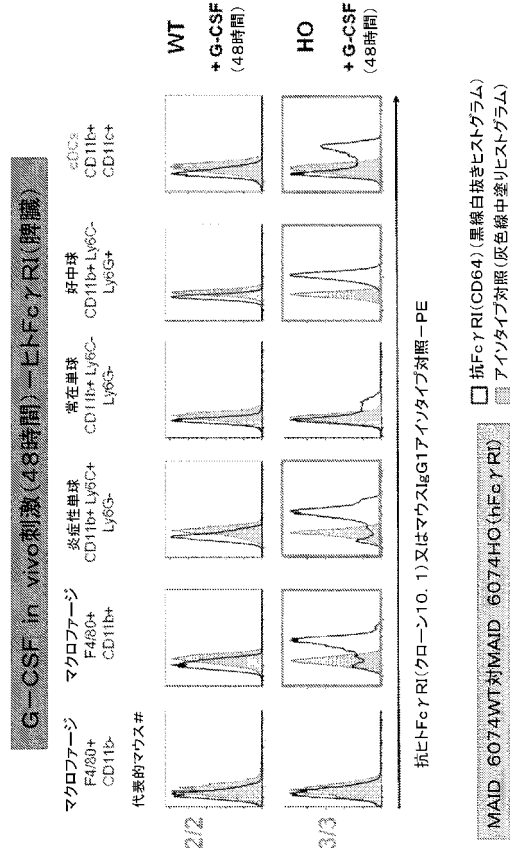
【 図 2 1 】



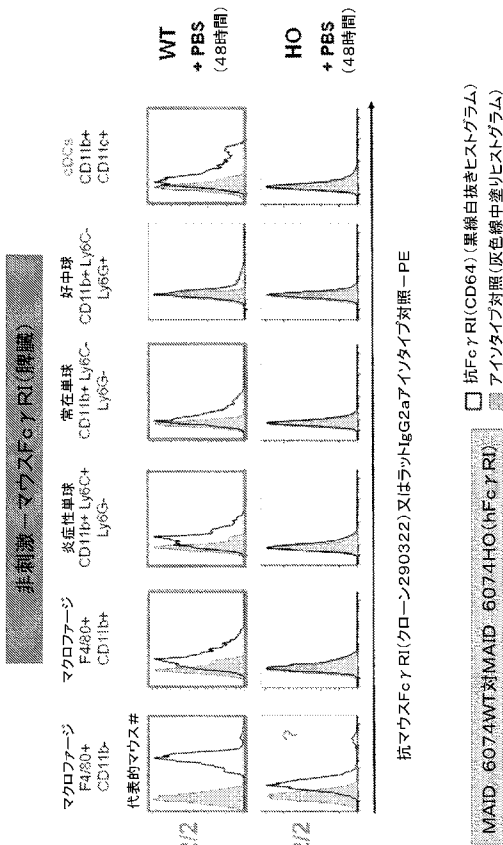
【図 25】



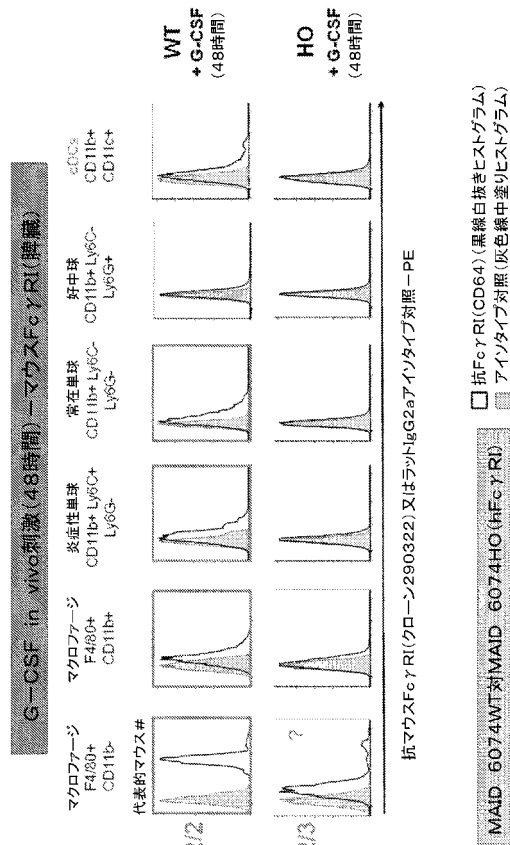
【図 26】



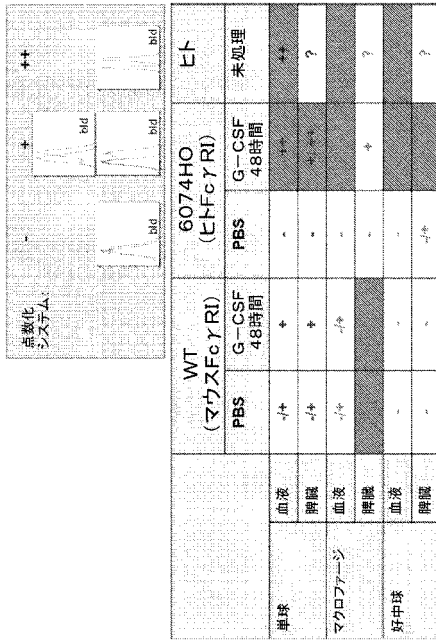
【図 27】



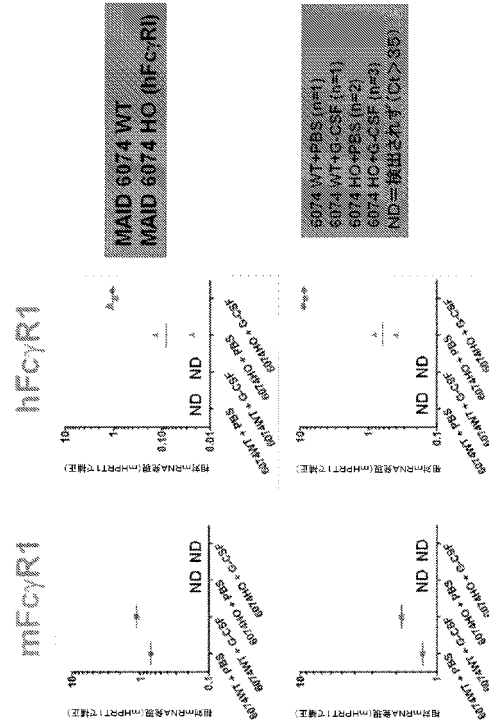
【図 28】



【図 29】

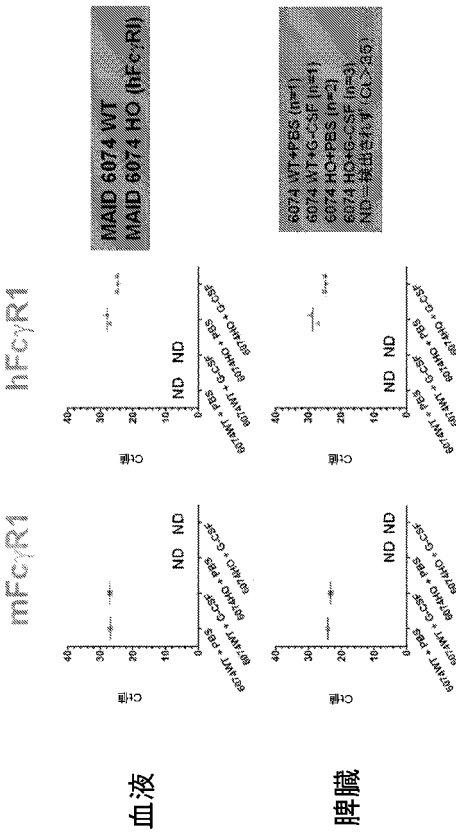


【図 30】



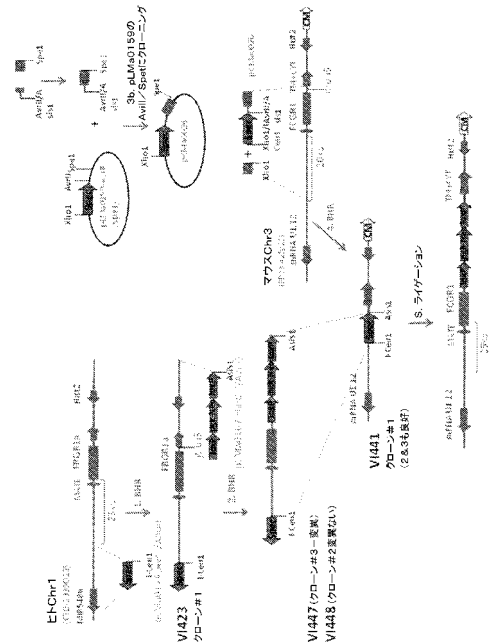
脾臓及び血液全体での相対mRNA発現 (mHPRT1で補正)

【図 31】



脾臓及び血液全体でのCt値

【図 32】



【手続補正書】

【提出日】平成28年10月13日(2016.10.13)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2017510285000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/024920

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K14/735 C07K14/00 C12N15/85
ADD.

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 C12N

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 practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99/00010 A2 (MEDAREX INC [US]) 7 January 1999 (1999-01-07) Whole doc., in particular p.3, 1.20-31; p.6, 1.11-19 -----	1-38
A	WO 2009/158696 A1 (ZYMOGENETICS INC [US]; BIRKS CARL W [US]; FOX BRIAN A [US]; RIXON MARK) 30 December 2009 (2009-12-30) Whole doc., in particular para. [346] -----	1-38
A	US 2010/035280 A1 (KAWAI SHIGETO [JP]) 11 February 2010 (2010-02-11) Whole doc., in particular para. [0049-0050, 0054], example 1 ----- -/--	1-38

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 July 2015

Date of mailing of the international search report

27/07/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Roscoe, Richard

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/024920

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	HONEYCHURCH J ET AL: "Therapeutic efficacy of Fc[gamma]RI/CD64-directed bispecific antibodies in B-cell lymphoma", BLOOD 20001115 US, vol. 96, no. 10, 15 November 2000 (2000-11-15), pages 3544-3552, XP002742216, ISSN: 0006-4971 Whole doc., in particular "Results" para. 1, Materials and Methods (Animals and cell lines)	1-38
A	----- ASAOKA YOSHIHARU ET AL: "The binding of soluble recombinant human Fc[gamma] receptor I for human immunoglobulin G is conferred by its first and second extracellular domains", MOLECULAR IMMUNOLOGY, PERGAMON, GB, vol. 54, no. 3, 9 February 2013 (2013-02-09), pages 403-407, XP028998725, ISSN: 0161-5890, DOI: 10.1016/J.MOLIMM.2013.01.007 Whole doc., in particular Fig.1	1-38
A	----- SYMONS D B A ET AL: "Genomic organisation and sequence of the extracellular domain exons of the bovine FcgammaRI receptor, and evidence for restricted binding of ruminant IgG to U937 cells", MOLECULAR IMMUNOLOGY, PERGAMON, GB, vol. 29, no. 11, 1 November 1992 (1992-11-01), pages 1407-1413, XP023682605, ISSN: 0161-5890, DOI: 10.1016/0161-5890(92)90178-Z [retrieved on 1992-11-01] Fig.3, Table 1	1-38
A	----- SIBERIL ET AL: "FcgammaR: The key to optimize therapeutic antibodies?", CRITICAL REVIEWS IN ONCOLOGY / HEMATOLOGY, ELSEVIER SCIENCE IRELAND LTD., LIMERICK, IE, vol. 62, no. 1, 7 March 2007 (2007-03-07), pages 26-33, XP005912443, ISSN: 1040-8428, DOI: 10.1016/J.CRITREVONC.2006.12.003 Whole review, in particular section 2.1 -----	1-38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2015/024920

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9900010	A2	07-01-1999	AU 745730 B2	28-03-2002
			AU 7987598 A	19-01-1999
			CA 2294604 A1	07-01-1999
			EP 0989801 A2	05-04-2000
			JP 2002510973 A	09-04-2002
			US 6111166 A	29-08-2000
			WO 9900010 A2	07-01-1999

WO 2009158696	A1	30-12-2009	CN 102131517 A	20-07-2011
			EP 2313105 A1	27-04-2011
			EP 2623112 A1	07-08-2013
			JP 2011526154 A	06-10-2011
			US 2011217291 A1	08-09-2011
			US 2014107034 A1	17-04-2014
			WO 2009158696 A1	30-12-2009

US 2010035280	A1	11-02-2010	AT 504647 T	15-04-2011
			EP 2123754 A1	25-11-2009
			JP 5299902 B2	25-09-2013
			US 2010035280 A1	11-02-2010
			US 2015079610 A1	19-03-2015
			WO 2008093688 A1	07-08-2008

フロントページの続き

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

(72)発明者 マーフィー, アンドリュー ジェイ.

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバー
ロード 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 マクドナルド, リン

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバー
ロード 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ギュラー, ケーガン

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバー
ロード 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ミーガー, カロリーナ エー.

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバー
ロード 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 トウ, ナキシン

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバー
ロード 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

F ターム(参考) 4B065 AA91X AB01 AC14 AC20 BA02 CA60