(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4309758号
(P4309758)

(45)発行日　平成21年8月5日(2009.8.5)　(24)登録日　平成21年5月15日(2009.5.15)

(51)Int.Cl.		F I		
C07K 16/30	(2006.01)	C07K	16/30	
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15	
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19	
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21	

請求項の数 50　(全 251 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願2003-500202 (P2003-500202)
(86)(22)出願日	平成14年5月7日 (2002.5.7)
(65)公表番号	特表2005-515963 (P2005-515963A)
(43)公表日	平成17年6月2日 (2005.6.2)
(86)国際出願番号	PCT/US2002/014268
(87)国際公開番号	WO2002/097033
(87)国際公開日	平成14年12月5日 (2002.12.5)
審査請求日	平成17年4月15日 (2005.4.15)
(31)優先権主張番号	60/293,473
(32)優先日	平成13年5月25日 (2001.5.25)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	60/294,981
(32)優先日	平成13年6月4日 (2001.6.4)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　597018381
ヒューマン　ジノーム　サイエンシーズ，インコーポレイテッド
Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｏｍｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，　Ｉｎｃ．
アメリカ合衆国　メリーランド　２０８５０，ロックビル，シャディー　グローブ　ロード　１４２００
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＴＲＡＩＬレセプターに免疫特異的に結合する抗体

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
第１のアミノ酸配列および第２のアミノ酸配列を含む抗体であって、以下：
ここで該第１のアミノ酸配列は、配列番号４３のＶＨＣＤＲ１、ＶＨＣＤＲ２およびＶＨＣＤＲ３を含み；およびここで、
該第２のアミノ酸配列は、配列番号４３のＶＬＣＤＲ１、ＶＬＣＤＲ２、またはＶＬＣＤＲ３を含み、
ここで該抗体が免疫特異的にＴＲ４に結合しかつ架橋剤の非存在下においてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、抗体。
【請求項２】
ＴＲ１、ＴＲ５、ＴＲ７、およびＴＲ１０に結合するその能力に比べ、ＴＲ４に優先的に結合する、請求項１に記載の抗体。
【請求項３】
細胞の表面で発現するＴＲ４に結合する、請求項１に記載の抗体。
【請求項４】
抗体であって、以下：
（ａ）配列番号４３のＶＨドメインのアミノ酸配列に対して同一であるアミノ酸配列；および
（ｂ）配列番号４３のアミノ酸配列のＶＬドメインのアミノ酸配列に対して同一であるアミノ酸配列、

を含み、ここで、該抗体が免疫特異的にＴＲ４に結合する、抗体。
【請求項５】
ＴＲ１、ＴＲ５、ＴＲ７、およびＴＲ１０に結合するその能力に比べ、ＴＲ４に優先的に結合する、請求項４に記載の抗体。
【請求項６】
細胞の表面で発現するＴＲ４に結合する、請求項４に記載の抗体。
【請求項７】
請求項４に記載の抗体であって、ここで、該抗体は、以下：
（ａ）免疫グロブリン分子全体；
（ｂ）モノクローナル抗体；
（ｃ）ヒト抗体；
（ｄ）キメラ抗体；
（ｅ）ヒト化抗体；
からなる群より選択される、抗体。
【請求項８】
請求項４に記載の抗体であって、以下：
（ａ）ＩｇＭ定常ドメイン；
（ｂ）ＩｇＧ定常ドメイン；および
（ｃ）ＩｇＡ定常ドメイン；
からなる群より選択される免疫グロブリン重鎖定常ドメインを含む、
抗体。
【請求項９】
前記免疫グロブリン重鎖定常ドメインが、ヒト免疫グロブリン重鎖定常ドメインである、請求項８に記載の抗体。
【請求項１０】
前記ヒト免疫グロブリン重鎖定常ドメインが、ＩｇＧ１定常ドメイン、ＩｇＧ２定常ドメイン、ＩｇＧ３定常ドメイン、またはＩｇＧ４定常ドメインである、請求項９に記載の抗体。
【請求項１１】
請求項４に記載の抗体であって、以下：
（ａ）κ定常ドメイン；および
（ｂ）λ定常ドメイン；
からなる群より選択される免疫グロブリン軽鎖定常ドメインを含む、
抗体。
【請求項１２】
前記免疫グロブリン軽鎖定常ドメインが、ヒト免疫グロブリン軽鎖定常ドメインである、請求項１１に記載の抗体。
【請求項１３】
ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－３５７０の細胞株によって発現される、抗体。
【請求項１４】
ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－３５７１の細胞株によって発現される、抗体。
【請求項１５】
ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－３６７５の細胞株によって発現される、抗体。
【請求項１６】
請求項４～１５のいずれか１項に記載の抗体をコードする核酸分子であって、該抗体は、以下：
（ａ）配列番号４３のＶＨドメインのアミノ酸配列に同一であるアミノ酸配列；および
（ｂ）配列番号４３のＶＬドメインのアミノ酸配列に同一であるアミノ酸配列；
を含む、核酸分子。
【請求項１７】

請求項１６に記載の核酸分子を含む、ベクター。
【請求項１８】
請求項１７に記載のベクターまたは請求項１６に記載の核酸分子を含む、宿主細胞。
【請求項１９】
請求項１～１５のいずれか１項に記載の抗体を発現するように操作される、細胞株。
【請求項２０】
前記細胞が、ＮＳＯ細胞またはＣＨＯ細胞である、請求項１９に記載の細胞株。
【請求項２１】
請求項１９または２０に記載の細胞株からの発現によって入手可能である、抗体。
【請求項２２】
抗体を作製する方法であって、該方法は、以下：
（ａ）請求項１６に記載の核酸分子によってコードされる抗体を発現する工程；および
（ｂ）該抗体を回収する工程、
を包含する、方法。
【請求項２３】
請求項２２に記載の方法によって入手可能である、抗体。
【請求項２４】
10^{-9}Ｍ以下の解離定数（ＫＤ）を有する、請求項４に記載の抗体。
【請求項２５】
前記抗体が標識されている、請求項４に記載の抗体。
【請求項２６】
放射性標識で標識されている、請求項２５に記載の抗体。
【請求項２７】
前記放射性標識が、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{111}Ｉｎ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{177}Ｌｕ、^{166}Ｈｏ、または^{153}Ｓｍである、請求項２６に記載の抗体。
【請求項２８】
酵素、蛍光標識、発光標識、または生物発光標識で標識されている、請求項２５に記載の抗体。
【請求項２９】
前記抗体がビオチン化されている、請求項４に記載の抗体。
【請求項３０】
治療剤または細胞傷害性剤に結合体化している、請求項４に記載の抗体。
【請求項３１】
請求項３０に記載の抗体であって、前記治療剤または細胞傷害性剤が、以下：
（ａ）抗代謝産物；
（ｂ）アルキル化剤；
（ｃ）抗生物質；
（ｄ）増殖因子；
（ｅ）サイトカイン；
（ｆ）抗脈管形成剤；
（ｇ）抗分裂剤；
（ｈ）アントラサイクリン；
（ｉ）トキシン；および
（ｊ）アポトーシス剤
からなる群より選択される、抗体。
【請求項３２】
固相支持体に結合している、請求項４に記載の抗体。
【請求項３３】
ウェスタンブロットまたはＥＬＩＳＡ、あるいは両方においてＴＲ４に免疫特異的に結合する、請求項４に記載の抗体。

【請求項３４】
ＴＲ４のアゴニストである、請求項４に記載の抗体。
【請求項３５】
ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、請求項４に記載の抗体。
【請求項３６】
前記抗体が、以下：
（ａ）それと同濃度のＴＲＡＩＬポリペプチドがＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激するよりも良好にか；
（ｂ）抗体架橋剤の非存在下において、等しく良好にか；または
（ｃ）（ａ）および（ｂ）の両方で、
ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、請求項３５に記載の抗体。
【請求項３７】
肝細胞毒素ではない、請求項３５に記載の抗体。
【請求項３８】
請求項１５、２１、２３～３３または３４～３７のいずれか１項に記載の抗体を含む、薬学的組成物。
【請求項３９】
癌を処置、予防または改善するための薬学的組成物の調製のための請求項１５、２１、２３～３３または３４～３７のいずれか１項に記載の抗体の使用であって、ここで、該組成物は、動物に投与される、使用。
【請求項４０】
前記動物がヒトである、請求項３９に記載の使用。
【請求項４１】
前記癌が、結腸癌、乳癌、子宮癌、膵臓癌、肺癌、胃腸の癌またはカポージ肉腫である、請求項３９に記載の使用。
【請求項４２】
前記癌が、中枢神経系の癌である。請求項３９に記載の使用。
【請求項４３】
前記中枢神経系の癌が、髄芽腫、神経芽腫または膠芽腫である、請求項４２に記載の使用。
【請求項４４】
前記抗体が、化学療法剤とともに併用されて投与される、請求項３９に記載の使用。
【請求項４５】
請求項４４に記載の使用であって、ここで、前記化学療法剤が、以下：
（ａ）イリノテカン；
（ｂ）パクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標））；および
（ｃ）ゲムシタビン
からなる群より選択される、使用。
【請求項４６】
ＴＲ４を発現する細胞の増殖を阻害するか、またはＴＲ４を発現する細胞を死滅させるための薬学的組成物の調製のための請求項１５、２１、２３～３３または３４～３７のいずれか１項に記載の抗体の使用であって、該組成物は、このようなＴＲ４レセプターを発現する細胞の増殖の阻害、またはＴＲ４レセプターを発現する細胞の死滅が所望される動物に投与される、使用。
【請求項４７】
ＴＲ４ポリペプチドの発現を検出する方法であって、該方法は、以下：
（ａ）請求項４に記載の抗体を使用して固体からの生物学的サンプルにおけるＴＲ４ポリペプチドの発現を発生する工程；および
（ｂ）ＴＲＡＩＬレセプターポリペプチドの標準レベルとＴＲ４ポリペプチドのレベルを比較する工程；

を包含する、方法。
【請求項４８】
請求項１５、２１、２３～３３または３４～３７に記載の抗体を備える、キット。
【請求項４９】
コントロール抗体を備える、請求項４８に記載のキット。
【請求項５０】
前記抗体またはそのフラグメントが、検出可能な標識に結合しているか、またはそれに結合体化している、請求項４８に記載のキット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
（発明の分野）
本発明は、ＴＲＡＩＬレセプターＴＲ４に免疫特異的に結合する抗体および関連分子に関する。このような抗体は、例えば、癌および他の増殖性障害の予防および処置における用途を有する。本発明はまた、抗ＴＲ４抗体をコードする核酸分子、これらの核酸を含むベクターおよび宿主細胞、ならびにこれらを作製するための方法に関する。本発明は、疾患または障害、特に、癌および他の過剰増殖性障害を、予防、検出、診断、処置または改善するための方法および組成物に関連し、これは、動物、好ましくは、ヒトに、ＴＲ４に免疫特異的に結合する、有効量の１つ以上の抗体またはこれらのフラグメントもしくは改変体、あるいは関連分子を投与することを包含する。
【背景技術】
【０００２】
（発明の背景）
多くの生物学的作用（例えば、特定の刺激および天然の生物学的プロセスに対する応答）は、サイトカインのような因子により制御される。多くのサイトカインは、レセプターと係合し、そして細胞内応答を生じることによりレセプターを介して作用する。
【０００３】
例えば、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）αおよび腫瘍壊死因子βは、ＴＮＦレセプターを介して作用して、多数の生物学的プロセス（ショックおよび炎症性疾患の感染および誘発に対する防御を含む）を制御するサイトカインである。ＴＮＦ分子は「ＴＮＦリガンド」スーパーファミリーに属し、そしてこれらのレセプターまたはカウンターリガンド（「ＴＮＦレセプター」スーパーファミリー）と共に作用する。現在までに、ＴＮＦリガンドスーパーファミリーの少なくとも１８種のメンバーが同定されており、そしてＴＮＦレセプタースーパーファミリーの少なくとも１９種のメンバーが特徴付けられている（例えば、Ｌｏｃｋｓｌｅｙら、Ｃｅｌｌ（２００１）１０４：４８７～５０１を参照のこと）。
【０００４】
リガンドの中には、ＴＮＦ－α、リンホトキシン－α（ＴＮＦ－βとしてまた公知であるＬＴ－α）、ＬＴ－β（複合体ヘテロトリマーＬＴ－α２－β中に見出される）、ＦａｓＬ、ＣＤ４０Ｌ、ＣＤ２７Ｌ、ＣＤ３０Ｌ、４－ｌＢＢＬ、ＯＸ４０Ｌ、および神経成長因子（ＮＧＦ）が含まれる。ＴＮＦレセプターのスーパーファミリーは、ｐ５５ＴＮＦレセプター、ｐ７５ＴＮＦレセプター、ＴＮＦレセプター関連タンパク質、ＦＡＳ抗原またはＡＰＯ－１、ＣＤ４０、ＣＤ２７、ＣＤ３０、４－ｌＢＢ、ＯＸ４０、低親和性ｐ７５およびＮＧＦレセプター（Ｍｅａｇｅｒ，Ａ．，Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ，２２：２９１－２９５（１９９４））を含む。
【０００５】
ＴＮＦリガンドスーパーファミリーの多くのメンバーは、活性化Ｔ細胞により発現される。これは、これらのメンバーが細胞個体発生および機能の根底にある、他の細胞型とのＴ細胞の相互作用に必要であることを意味する（Ｍｅａｇｅｒ，Ａ．、前出）。
【０００６】
ＴＮＦレセプターファミリーのいくつかのメンバーの不可欠な機能についてのかなりの

洞察が、これらのタンパク質の発現を無効にする変異体の同定および作製により得られている。例えば、ＦＡＳ抗原およびそのリガンド中の天然に存在する変異は、リンパ球増殖疾患を生じ（Ｗａｔａｎａｂｅ－Ｆｕｋｕｎａｇａ，Ｒ．ら、Ｎａｔｕｒｅ　３５６：３１４（１９９２））、これはおそらく、プログラムされた細胞死の不全を反映する。ＣＤ４０リガンドの変異は、血漿中の高レベルの免疫グロブリンMおよび低レベルの免疫グロブリンGにより特徴付けられるX連鎖免疫不全状態を生じる。これは、不完全なＴ細胞依存性Ｂ細胞活性化を示す（Ａｌｌｅｎ，Ｒ．Ｃ．ら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２５９：９９０（１９９３））。低親和性神経成長因子レセプターの標的化された変異は、末梢構造の不完全な知覚神経支配（ｉｎｎｏｖａｔｉｏｎ）により特徴付けられる障害を生じる（Ｌｅｅ，Ｋ．Ｆ．ら、Ｃｅｌｌ　６９：７３７（１９９２））。

【０００７】

ＴＮＦおよびＬＴ－αは、２つのＴＮＦレセプター（５５ｋｄおよび７５ｋｄのＴＮＦレセプター）へ結合し得る。それらのレセプターを通して作用するＴＮＦおよびＬＴ－αにより誘発される多くの生物学的影響は、移植された腫瘍の出血性壊死、細胞傷害性、エンドトキシンショックにおける役割、炎症、免疫調節、増殖および抗ウイルス応答、ならびに電離放射線の有害な影響に対する防御を含む。ＴＮＦおよびＬＴ－αは、エンドトキシンショック、大脳マラリア、腫瘍、自己免疫疾患、ＡＩＤＳおよび移植片－宿主拒絶を含む広範囲な疾患の病因に関与する（Ｂｅｕｔｌｅｒ，Ｂ．およびＶｏｎ　Ｈｕｆｆｅｌ，Ｃ．、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２６４：６６７－６６８（１９９４））。ｐ５５レセプター中の変異は、微生物感染に対する増大した感受性を生じる。

【０００８】

さらに、ＴＮＦＲ１（ｐ５５）およびＦａｓのＣ末端付近の約８０アミノ酸ドメインが、プログラムされた細胞死についてのシグナルを伝える原因である「デスドメイン（ｄｅａｔｈ　ｄｏｍａｉｎ）」として報告された（Ｔａｒｔａｇｌｉａら、Ｃｅｌｌ　７４：８４５（１９９３））。

【０００９】

アポトーシスすなわちプログラムされた細胞死は、多細胞生物の正常な発達およびホメオスタシスに不可欠である生理学的プロセスである（Ｈ．Ｓｔｅｌｌｅｒ、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２６７，１４４５－１４４９（１９９５））。アポトーシスの混乱は、ガン、神経変性障害、および後天性免疫不全症候群を含むいくつかのヒト疾患の病因に寄与する（Ｃ．Ｂ．Ｔｈｏｍｐｓｏｎ、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２６７，１４５６－１４６２（１９９５））。最近、多くの注目が、２つの細胞表面のデスレセプター（ｄｅａｔｈ　ｒｅｃｅｐｔｏｒ）（Ｆａｓ／ＡＰＯ－１およびＴＮＦＲ－１）のシグナル伝達および生物学的機能に集中している（Ｊ．Ｌ．Ｃｌｅｖｅｌａｎｄら、Ｃｅｌｌ　８１，４７９－４８２（１９９５）；Ａ．Ｆｒａｓｅｒら、Ｃｅｌｌ　８５，７８１－７８４（１９９６）；Ｓ．Ｎａｇａｔａら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２６７，１４４９－５６（１９９５））。両方は、とりわけ、ＴＮＦＲ－２、低親和性ＮＧＦＲ、ＣＤ４０、およびＣＤ３０もまた含むＴＮＦレセプターファミリーのメンバーである（Ｃ．Ａ．Ｓｍｉｔｈら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４８，１０１９－２３（１９９０）；Ｍ．Ｔｅｗａｒｉら、Ｍｏｄｕｌａｒ　Ｔｅｘｔｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ａｎｄ　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌｏｇｙ；Ｍ．Ｐｕｒｔｏｎ，Ｈｅｌｄｉｎ，Ｃａｒｌ編（Ｃｈａｐｍａｎ　ａｎｄ　Ｈａｌｌ，Ｌｏｎｄｏｎ，１９９５）。ファミリーのメンバーは、これらの細胞外ドメイン中のシステインリッチ反復の存在により定義されるが、Ｆａｓ／ＡＰＯ－１およびＴＮＦＲ－１はまた、Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ自殺遺伝子ｒｅａｐｅｒ（Ｐ．Ｇｏｌｓｔｅｉｎら、Ｃｅｌｌ　８１，１８５－６（１９９５）；Ｋ．Ｗｈｉｔｅら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２６４，６７７－８３（１９９４））の遠縁にあたる、細胞内相同性の領域である、適切に指定された「デスドメイン」を共有する。この共有されたデスドメインは、両レセプターが最近まで未同定のままであった関連する対のシグナル伝達分子と相互作用することを示唆する。Ｆａｓ／ＡＰＯ－１の活性化は、デスドメインを含むアダプター分子ＦＡＤＤ／ＭＯＲＴ１（Ａ．Ｍ．Ｃｈｉｎｎａｉｙａｎら、Ｃｅｌｌ　８１，５０５－５１２（１９９５）；Ｍ．Ｐ．Ｂｏｌｄｉｎら、Ｊ．Ｂｉ

ｏｌ Ｃｈｅｍ ２７０，７７９５－８（１９９５）；Ｆ．Ｃ．Ｋｉｓｃｈｋｅｌら、ＥＭＢＯ １４：５５７９－５５８８（１９９５））を動員し、デスドメインを含むアダプター分子ＦＡＤＤ／ＭＯＲＴ１は、次いで、プロアポトーシスプロテアーゼのＩＣＥ／ＣＥＤ－３ファミリーのメンバーであるＦＬＩＣＥ／ＭＡＣＨ１へ結合し、そしておそらくこれを活性化する（Ｍ．Ｍｕｚｉｏら、Ｃｅｌｌ ８５，８１７－８２７（１９９６）；Ｍ．Ｐ．Ｂｏｌｄｉｎら、Ｃｅｌｌ ８５，８０３－８１５（１９９６））。Ｆａｓ／ＡＰＯ－１の中心的役割は、細胞死を誘発することであるが、ＴＮＦＲ－１は、整然とした多様な生物学的活性（その多くは、ＮＦ－ｋＢを活性化する能力に由来する）のシグナルを送り得る（Ｌ．Ａ．Ｔａｒｔａｇｌｉａら、Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｔｏｄａｙ １３，１５１－３（１９９２））。従って、ＴＮＦＲ－１は、多価アダプター分子ＴＲＡＤＤを動員し、またＦＡＤＤと同様にデスドメインを含む（Ｈ．Ｈｓｕら、Ｃｅｌｌ ８１：４９５－５０４（１９９５）；Ｈ．Ｈｓｕら、Ｃｅｌｌ ８４：２９９－３０８（１９９６））。ＦＡＤＤ、ＴＲＡＦ２、およびＲＩＰを含む多くのシグナル伝達分子とのその会合を通して、ＴＲＡＤＤは、アポトーシスおよびＮＦ－ｋＢ活性化の両方へシグナルを送り得る（Ｈ．Ｈｓｕら、Ｃｅｌｌ ８４：２９９－３０８（１９９６）；Ｈ．Ｈｓｕら、Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ４，３８７－３９６（１９９６））。

【００１０】

リガンドを含む１つのＴＮＦ関連アポトーシスは、いくつかのグループによって報告され、そしてアポトーシス誘導性分子Ｉ（ＡＩＭ－Ｉ）（国際出願番号ＷＯ９７／３３８９９）およびＴＮＦ関連アポトーシス誘導性リガンド（すなわちＴＲＡＩＬ）（Ｗｉｌｅｙ，Ｓ．Ｒ．ら、Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ３：６７３～６８２（１９９５））と命名された。Ｐｉｔｔｉ，Ｒ．Ｍ．らは、この新規分子をＡｐｏ－２（すなわち「Ａｐｏ－２Ｌ」）と言及している。便宜上、本明細書中では、ＴＲＡＩＬとして言及される。ＴＲＡＩＬのアミノ酸配列は、配列番号６６に示される。

【００１１】

ＦＡＳリガンド（この転写物は、刺激されたＴ細胞に非常に制限されるようである）とは異なり、有意なレベルのＴＲＡＩＬが、多くの組織において見られ、そしていくつかの細胞株によって恒常的に転写される。ＴＲＡＩＬは、ＦＡＳリガンドから独立して作用することが示されている（Ｗｉｌｅｙ，Ｓ．Ｒ．ら、（１９９５）前出）。Ｍａｒｓｔｅｒｓ，Ｓ．Ａ．らによる研究は、ＴＲＡＩＬが、ＦＡＳ／Ａｐｏ－１Ｌによるデスシグナル伝達と同様の時間枠内で、迅速にアポトーシスを活性化するが、ＴＮＦ誘導性アポトーシスより速いことを示した（Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｂｉｏｌｏｇｙ，６：７５０－７５２（１９９６））。

【００１２】

５つのＴＲＡＩＬレセプターが同定されており、以下が挙げられる：ＴＲ４（ＴＲＡＩＬレセプター１（ＴＲＡＩＬ－Ｒ１）としても知られる）およびデスレセプター４（ＤＲ４）（Ｐａｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２７６：１１１～３（１９９７）、国際特許出願番号ＷＯ９８／３２８５６、ＷＯ００／６７７９３、ＷＯ９９／３７６８４、ＷＯ２０００／３４３５５、ＷＯ９９／０２６５３、配列番号１）；ＴＲ７（ＴＲＡＩＬレセプター２（ＴＲＡＩＬ－Ｒ２）としても言及される）、ＤＲ５、およびＫＩＬＬＥＲ（Ｐａｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２７７：８１５～８（１９９７）、Ｓｈｅｒｉｄａｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２７７：８１８～２１（１９９７）、Ｃｈａｕｄｈｕｒｙら、Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ７：８２１～３０（１９９７）、国際特許出願番号ＷＯ９８／４６６４３、ＷＯ９９／０９１６５、ＷＯ９９／１１７９１、ＷＯ９８／４１６２９、ＷＯ００／６６１５６、およびＷＯ９８／３５９８６、配列番号３）；ＴＲ１（オステオプロテグリン（ＯＰＧ）破骨細胞形成阻害因子（ＯＣＩＦ）、ＴＮＦＲＳＦ１１Ｂ、およびＦＴＨＭＡ－０９０としても言及される）（国際特許出願番号ＷＯ９８／１２３４４、ＷＯ２０００／５４６５１、ＷＯ２００１／０４１３７、ＷＯ６６／２６２１７、ＷＯ９８／０７８４０、ＷＯ２０００／２１５５４、ＷＯ９９／５３９４２、およびＷＯ２００１／０３７１９、配列番号５）；ＴＲ５（ＴＲＡＩＬレセプター３（ＴＲＡＩＬ－Ｒ３）、デコイレセプター１（ＤｃＲ１

）およびＴＲＩＤとしても言及される）（Ｄｅｇｌｉ－Ｅｓｐｏｓｔｉら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８６：１１６５～７０（１９９７）、国際特許出願番号ＷＯ９８／３０６９３、ＷＯ００／７１１５０、ＷＯ９９／００４２３、ＥＰ８６７５０９、ＷＯ９８／５８０６２、配列番号２）；ならびにＴＲ１０（ＴＲＡＩＬレセプター４（ＴＲＡＩＬ－Ｒ４）としても言及される）、ＤｃＲ２、およびＴＲＵＮＤＤ（Ｐａｎら、ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．４２４：４１～５（１９９８）、Ｄｅｇｌｉ－Ｅｐｏｓｔｉら、Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ７：８１３～２０（１９９７）、国際特許出願番号ＷＯ９８／５４２０２、ＷＯ００／７３３２１、ＷＯ２０００／０８１５５、ＷＯ９９／０３９９２、ＷＯ２０００／３４３５５およびＷＯ９９１０４８４、配列番号４）。ＴＲ４およびＴＲ７は、それらの細胞質テイルにおいてデスドメインを有し、そしてこれらのレセプターの誘発がアポトーシスを生じる。一方、ＴＲ１、ＴＲ５おおびＴＲ１０は、部分的に細胞性リガンドＴＲＡＩＬによって誘導されるアポトーシスを阻害し得る。なぜなら、それぞれ、細胞質性デスドメインが、存在しないかまたは短縮化されているからである。前掲の刊行物および特許のそれぞれは、特に、それらに開示されるＴＲＡＩＬレセプターのヌクレオチド配列およびアミノ酸配列に関して、それらの全体において本明細書によって参考として援用される。

【００１３】

ＴＮＦファミリーリガンドおよびＴＮＦファミリーレセプターの効果は多様であり、そして哺乳動物系の生物学的プロセスにおいて正常および異常の両方の多数の機能に影響する。それゆえ、正常状態および疾患状態の両方において、ＴＮＦレセプターの生物学的活性に影響するような組成物（例えば、抗体）の同定および特徴付けのための明確な必要性が存在する。特に、ＴＲＡＩＬレセプターの生物学的活性を調節する抗体を単離および特徴付ける必要性が存在する。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【００１４】

（発明の要旨）

本発明は、ＴＲ４ポリペプチドまたはＴＲ４のポリペプチドフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する抗体（その抗体フラグメントもしくは改変体を含む分子か、あるいはこれらからなる分子を含む）を包含する。特に、本発明は、ヒトＴＲ４（例えば、配列番号１のもの）のポリペプチドまたはこのポリペプチドフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する抗体（その抗体フラグメントもしくは改変体を含む分子か、あるいはこれらからなる分子を含む）を包含する。いくつかの実施形態において、ＴＲ４ポリペプチドに免疫特異的に結合する本発明の抗体は、ＴＲ７（例えば、配列番号３）にも結合するが、他のタンパク質（ＴＲ１、ＴＲ５およびＴＲ１０（配列番号５、配列番号２および配列番号４が挙げられる））に結合しない。

【００１５】

本発明は、疾患または障害を予防、処置または回復させるための方法および組成物に関し、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する、有効量の１つ以上の抗体またはそのフラグメントもしくは改変体、あるいは関連分子を、動物、好ましくは、ヒトに投与することを含む。特定の実施形態において、本発明は、ＴＲ４機能もしくはＴＲ４リガンド機能または異常なＴＲ４もしくはＴＲ４リガンドの発現に関連した疾患または障害を予防、処置または回復させるための方法および組成物に関し、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する、有効量の１つ以上の抗体またはそのフラグメントもしくは改変体、あるいは関連分子を、動物、好ましくは、ヒトに投与することを含む。非常に好ましい実施形態において、本発明は、癌および他の過剰増殖性障害（例えば、白血病、癌腫、およびリンパ腫）を予防、処置または回復させるための抗体ベースの方法および組成物に関する。本発明の抗体で処置、予防または回復され得る他の疾患および障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：神経変性障害（例えば、パーキンソン病、アルツハイマー病、およびハンティングトン病）、免疫障害（例えば、狼瘡、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、重症筋無力症、橋本病、およ

び免疫不全症候群）、炎症性障害（例えば、喘息、アレルギー性障害、および慢性関節リウマチ）、感染性疾患（例えば、ＡＩＤＳ、ヘルペスウイルス感染、および他のウイルス感染）および増殖性障害。

【００１６】

非常に好ましい実施形態において、本発明の抗体は、以下の型の癌を、予防、診断、予知、処置または回復するための方法および組成物において使用される：乳癌、肺癌（非小細胞肺癌を含む）、結腸癌、尿路の癌、膀胱癌、腎臓癌、膵臓癌、肝臓癌、胃癌、前立腺癌、白血病、非ホジキンリンパ腫、食道癌、脳癌、白血病、卵巣癌、精巣癌、黒色腫、子宮癌、子宮頸癌、喉頭の癌、直腸癌、および口腔の癌。特定の実施形態において、本発明の抗体は、化学療法剤（パクリタキセル（Ｔａｘｏｌ）、イリノテカン（Ｃａｍｐｔｏｓａｒ、ＣＰＴ－１１）、イリノテカンアナログ、およびゲムシタビン（ＧＥＭＺＡＲ^{TM}））と組み合わせて投与される。

【００１７】

本発明はまた、疾患または障害を、検出、診断、または予知するための方法および組成物を包含し、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する、有効量の１つ以上の抗体またはそのフラグメントもしくは改変体、あるいは関連分子を、動物、好ましくは、ヒトに投与することを含む。特定の実施形態において、本発明はまた、ＴＲ４機能もしくはＴＲ４リガンド機能または異常なＴＲ４もしくはＴＲ４リガンドの発現に関連した疾患または障害を、検出、診断、または予知するための方法および組成物を包含し、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する、有効量の１つ以上の抗体またはそのフラグメントもしくは改変体、あるいは関連分子を、動物、好ましくは、ヒトに投与することを含む。非常に好ましい実施形態において、本発明は、癌および他の過剰増殖性障害（例えば、白血病、癌腫、およびリンパ腫）を検出、診断、または予知するための抗体ベースの方法および組成物に関する。本発明の抗体で検出、診断または予知され得る、他の疾患および障害としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：神経変性障害（例えば、パーキンソン病、アルツハイマー病、およびハンティングトン病）、免疫障害（例えば、狼瘡、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、重症筋無力症、橋本病、および免疫不全症候群）、炎症性障害（例えば、喘息、アレルギー性障害、および慢性関節リウマチ）、感染性疾患（例えば、ＡＩＤＳ、ヘルペスウイルス感染、および他のウイルス感染）および増殖性障害。

【００１８】

本発明の別の実施形態は、細胞上でのＴＲ４発現の発現をモニターするための診断ツールとしての本発明の抗体の使用を含む。

【００１９】

本発明者らは、ＴＲ４ポリペプチド（例えば、配列番号１）に免疫特異的に結合する単鎖Ｆｖ’ｓ（ｓｃＦｖ）を作製した。従って、本発明は、表１に列挙される、これらのｓｃＦｖを包含する。さらに、本発明は、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（「ＡＴＣＣ」）に表１に列挙される日付で寄託され、そして表１に確認されるＡＴＣＣ受託番号を与えられた、これらのｓｃＦｖに対応する抗体を発現させるために操作される細胞株を含む。ＡＴＣＣは、１０８０１ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ ２０１１０－２２０９，ＵＳＡに位置する。ＡＴＣＣへの受託は、特許手続上の目的のための微生物の受託の国際的承認に関するブダペスト条約の条項に準拠させた。

【００２０】

さらに、本発明は、ｓｃＦｖをコードするポリヌクレオチド、ならびにｓｃＦｖをコードするアミノ酸配列を含む。ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する、これらのｓｃＦｖのフラグメントまたは改変体（例えば、表１に参照されるｓｃＦｖのいずれか１つのアミノ酸配列を有する、ＶＨドメイン、ＶＨ ＣＤＲ、ＶＬドメイン、またはＶＬ ＣＤＲ）を含む分子、あるいはこれらからなる分子もまた、これらの抗体および／または分子をコードする核酸分子と同様に、本発明によって包含される。

非常に好ましい実施形態において、本発明は、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体の細胞外領域／ドメインに結合する、抗体またはそのフラグメントもしくは改変体を包含する。

【００２１】

本発明はまた、ＴＲ４ポリペプチドに結合する抗体を提供し、この抗体は、検出可能な標識（例えば、酵素、蛍光標識、発光標識、または生物発光標識）に連結されている。本発明はまた、ＴＲ４ポリペプチドに結合する抗体を提供し、この抗体は、治療剤または細胞傷害性剤に連結されている。本発明はまた、ＴＲ４ポリペプチドに結合する抗体を提供し、この抗体は、放射活性物質に連結されている。

【００２２】

本発明はまた、ＴＲ４ポリペプチドに結合する抗体を提供し、この抗体は、ＴＲ４アゴニストまたはＴＲ４アンタゴニストのいずれかとして作用する。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４を発現する細胞のアポトーシスを刺激する。他の特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４に対するＴＲＡＩＬの結合を阻害する。他の特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４の発現をアップレギュレートする。

【００２３】

本発明はまた、ＴＲ４を発現する細胞のアポトーシスを阻害する抗体を提供する。他の特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４の発現をダウンレギュレートする。

【００２４】

さらなる実施形態において、本発明の抗体は、10^{-7}Ｍ以下の解離定数（K_D）を有する。好ましい実施形態において、本発明の抗体は、10^{-9}Ｍ以下の解離定数（K_D）を有する。

【００２５】

本発明は、さらに、等濃度のＴＲＡＩＬポリペプチドが、ＴＲ４を発現する細胞のアポトーシスを刺激するよりも多く、ＴＲ４を発現する細胞のアポトーシスを刺激する抗体を提供する。

【００２６】

本発明は、さらに、抗体架橋試薬の存在下または非存在下で同様に十分にＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する抗体；および／または架橋抗体または他の架橋剤の非存在下で、等濃度のＴＲＡＩＬと、同じかまたはより高い効力でアポトーシスを刺激する抗体を提供する。

【００２７】

さらなる実施形態において、本発明の抗体は、10^{-3}／秒以下のオフ速度（k_{off}）を有する。好ましい実施形態において、本発明の抗体は、10^{-4}／秒以下のオフ速度（k_{off}）を有する。他の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、10^{-5}／秒以下のオフ速度（k_{off}）を有する。

【００２８】

本発明はまた、他のタンパク質（ＴＲ１、ＴＲ５およびＴＲ１０を含む）に結合するそれらの能力に対して、ＴＲ４および／またはＴＲ７に優先的に結合する抗体を提供する。

【００２９】

特定の実施形態において、本発明の抗体の特性は、以下の実施例において詳述されるように、この抗体を既に記載されるＴＲ４結合抗体よりも優れた治療剤にする。

【００３０】

本発明はまた、抗体（抗体フラグメントもしくは改変体を含む分子、あるいはこれらからなる分子を含む）のパネルを提供し、ここで、このパネルのメンバーは、１、２、３、４、５、１０、１５、２０またはそれよりも多く異なる本発明の抗体（例えば、抗体全体、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメント、Ｆｄフラグメント、ジスルフィド連結Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体、およびｓｃＦｖ）に対応する。本発明は、さらに、抗体の混合物を提供し、ここで、この混合物は、１、２、３、４、５、１０、１５、２０またはそれよりも多く異なる本発明の抗体（例えば、抗体全体、Ｆａｂ、Ｆ（ａ

ｂ’）$_2$フラグメント、Ｆｄフラグメント、ジスルフィド連結Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体、およびｓｃＦｖ）に対応する。本発明はまた、１、２、３、４、５、１０、１５、２０またはそれよりも多くの本発明の抗体（抗体フラグメントもしくはその改変体を含む分子、あるいはこれらからなる分子を含む）を含む組成物、または代替的にこれらからなる組成物について提供する。本発明の組成物は、１、２、３、４、５、１０、１５、２０またはそれよりも多くの１つ以上の抗体またはそのフラグメントもしくは改変体のアミノ酸配列を含み得るか、あるいはこれらからなり得る。あるいは、本発明の組成物は、本発明の１つ以上の抗体をコードする核酸分子を含み得るか、あるいはこれらからなり得る。

【００３１】

本発明はまた、本発明の抗体（抗体フラグメントもしくはその改変体を含む分子、あるいはこれらからなる分子を含む）、および異種ペプチド（すなわち、抗体または抗体ドメインに無関係なポリペプチド）を含む、融合タンパク質を提供する。これらの融合タンパク質をコードする核酸分子もまた、本発明によって包含される。本発明の組成物は、１、２、３、４、５、１０、１５、２０またはそれよりも多くの本発明の融合タンパク質を含み得るか、あるいはこれらからなり得る。あるいは、本発明の組成物は、１、２、３、４、５、１０、１５、２０またはそれよりも多くの本発明の融合タンパク質をコードする核酸分子を含み得るか、あるいはこれらからなり得る。

【００３２】

本発明はまた、核酸分子を提供し、一般的に、単離され、本発明の抗体（例えば、抗体フラグメントもしくはその改変体を含む分子か、あるいはこれらからなる分子（例えば、ｓｃＦｖ、ＶＨドメイン、またはＶＬドメイン）を含む）をコードする。本発明はまた、本発明の核酸分子で形質転換された宿主細胞およびその子孫を提供する。本発明はまた、本発明の抗体（抗体フラグメントもしくはその改変体を含む分子、あるいはこれらからなる分子を含む）の作製のための方法を提供する。本発明は、さらに、核酸分子から本発明の抗体（抗体フラグメントもしくはその改変体を含む分子、あるいはこれらからなる分子を含む）を発現させる方法を提供する。本発明のこれらの局面および他の局面は、以下にさらに詳細に記載される。

【００３３】

（発明の詳細な説明）

（定義）

用語「抗体」は、本明細書中で使用される場合、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的活性部分（すなわち、抗原に免疫特異的に結合する抗原結合部位を含む分子）をいう。そのような場合、用語抗体は、抗体分子全体だけでなく、抗体フラグメントならびに抗体および抗体フラグメントの改変体（誘導体を含む）もまた包含する。本明細書中で用語「抗体」によって記載される分子の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、Ｆａｂフラグメント、Ｆａｂ’フラグメント、Ｆ（ａｂ’）$_2$、ジスルフィド連結Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、Ｆｖ、およびＶＬドメインもしくはＶＨドメインのいずれかを含むフラグメント、あるいはこれらからなるフラグメント。用語「単鎖Ｆｖ」または「ｓｃＦｖ」は、本明細書中で使用される場合、抗体のＶＨドメインに連結された抗体のＶＬドメインを含むポリペプチドをいう。ＴＲ４に免疫特異的に結合する抗体は、他の抗原との交差反応性を有し得る。好ましくは、ＴＲ４に免疫特異的に結合する抗体は、他の抗原（例えば、他のＴＲＡＩＬレセプターまたは腫瘍壊死因子レセプタースーパーファミリーの他のメンバー）と交差反応しない。ＴＲ４に免疫特異的に結合する抗体は、例えば、当業者に公知の免疫アッセイまたは他の技術によって同定され得、例えば、免疫アッセイは、以下の実施例において記載される。

【００３４】

本発明の抗体としては、モノクローナル抗体、多重特異的抗体、ヒト抗体またはキメラ抗体、単鎖抗体、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ’）フラグメント、抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体（例えば、本発明の抗体に対する抗Ｉｄ抗体が挙げられる）、細胞内で生成

される抗体（すなわち、イントラボディ（ｉｎｔｒａｂｏｄｙ））、および任意の上記の抗体のエピトープ結合フラグメントが挙げられるが、これらに限定されない。本発明の免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子の任意の型（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡおよびＩｇＹ）、クラス（例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1およびIgA_2）またはサブクラスの分子であり得る。好ましくは、本発明の抗体は、表１に参照されるいずれか１つの抗体、またはそのフラグメントもしくは改変体のアミノ酸配列を有する、ＶＨドメイン、ＶＨ　ＣＤＲ、ＶＬドメイン、もしくはＶＬ　ＣＤＲを含むか、あるいはこれらからなる。好ましい実施形態において、免疫グロブリンは、ＩｇＧ１イソタイプである。別の好ましい実施形態において、この免疫グロブリンはＩｇＧ４イソタイプである。免疫グロブリンは、重鎖および軽鎖の両方を有し得る。ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、およびＩｇＹ重鎖のアレイは、κまたはλの形態の軽鎖と対になり得る。

【００３５】

用語「改変体」は、本明細書中で使用される場合、ＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、抗ＴＲ４抗体もしくはこの抗体フラグメントと類似または同一の機能を有するポリペプチドをいうが、それぞれ、ＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、抗ＴＲ４抗体もしくはこの抗体フラグメントと類似または同一のアミノ酸配列を含むか、または、ＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、抗ＴＲ４抗体もしくはこの抗体フラグメントと類似または同一な構造を有する必要はない。類似のアミノ酸配列を有する改変体とは、以下の少なくとも１つを満たすポリペプチドをいう：（ａ）本明細書中に記載されるＴＲ４ポリペプチド（配列番号１）、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、抗ＴＲ４抗体もしくはこの抗体フラグメント（表１に参照されるいずれか１つ以上のｓｃＦｖのアミノ酸配列を有する、ＶＨドメイン、ＶＨＣＤＲ、ＶＬドメイン、またはＶＬＣＤＲを含む）のアミノ酸と、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むか、あるいは、このようなアミノ酸配列からなる、ポリペプチド；（ｂ）少なくとも５アミノ酸残基、少なくとも１０アミノ酸残基、少なくとも１５アミノ酸残基、少なくとも２０アミノ酸残基、少なくとも２５アミノ酸残基、少なくとも３０アミノ酸残基、少なくとも４０アミノ酸残基、少なくとも５０アミノ酸残基、少なくとも６０アミノ酸残基、少なくとも７０アミノ酸残基、少なくとも８０アミノ酸残基、少なくとも９０アミノ酸残基、少なくとも１００アミノ酸残基、少なくとも１２５アミノ酸残基、または少なくとも１５０アミノ酸残基の、本明細書中に記載されるＴＲ４（配列番号１）、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、抗ＴＲ４抗体もしくはこの抗体フラグメント（表１に参照されるいずれか１つ以上のもののアミノ酸配列を有する、ＶＨドメイン、ＶＨＣＤＲ、ＶＬドメイン、またはＶＬＣＤＲを含む）をコードするヌクレオチド配列に、ストリンジェント条件下でハイブリダイズする相補性配列であるヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド；ならびに（ｃ）本明細書中に記載されるＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、抗ＴＲ４抗体もしくはこの抗体フラグメント（表１に参照されるいずれか１つ以上のｓｃＦｖのアミノ酸配列を有する、ＶＨドメイン、ＶＨＣＤＲ、ＶＬドメイン、またはＶＬＣＤＲを含む）をコードするヌクレオチド配列と、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％同一であるヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチド。本明細書中に記載されるＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、抗ＴＲ４抗体またはこの抗体フラグメントに類似な構造を有するポリペプチドは、本明細書中に記載されるＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、抗ＴＲ４抗体、またはこの抗体フラグメントと類似な二次構造、三次構造または四次構造を

有するポリペプチドをいう。ポリペプチドの構造は、当業者に公知の方法（Ｘ線結晶学、核磁気共鳴、および結晶学的電子顕微鏡検査法が挙げられるが、これらに限定されない）によって決定され得る。

【００３６】

２つのアミノ酸配列の同一性％または２つの核酸配列の同一性％を決定するために、配列は、最適な比較目的のために整列される（例えば、ギャップが、第２のアミノ酸または核酸の配列と最適な配列に対して、第１のアミノ酸または核酸の配列の配列中に導入され得る）。次いで、アミノ酸位置またはヌクレオチド位置に対応するアミノ酸残基またはヌクレオチドが、比較される。第１配列における位置が、第２配列における位置と対応する同一のアミノ酸残基またはヌクレオチドによって占有される場合、この分子は、その位置で同一である。２つの配列間の同一性％は、この配列によって共有される同一な位置の数の関数である（すなわち、同一性％＝同一な重複する位置の数／位置の総数　×　１００％）。１つの実施形態において、２つの配列は、同じ長さである。

【００３７】

２つの配列間の同一性％の決定は、当業者に公知の数学的アルゴリズムを使用して達成され得る。２つの配列を比較するための数学的アルゴリズムの例は、ＫａｒｌｉｎおよびＡｌｔｓｃｈｕｌ　Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：５８７３～５８７７（１９９３）で修正された、ＫａｒｌｉｎおよびＡｌｔｓｃｈｕｌ　Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８７：２２６４～２２６８（１９９０）のアルゴリズムである。Ａｌｔｓｃｈｕｌら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３～４１０（１９９０）のＢＬＡＳＴｎプログラムおよびＢＬＡＳＴｘプログラムは、このようなアルゴリズムに組込まれている。ＢＬＡＳＴヌクレオチドサーチは、ＢＬＡＳＴｎプログラム（スコア＝１００、ワード長＝１２）で実施されて、本発明の核酸分子に相同なヌクレオチド配列を入手し得る。ＢＬＡＳＴタンパク質サーチは、ＢＬＡＳＴｘプログラム（スコア＝５０、ワード長＝３）で実施されて、本発明のタンパク質分子に相同なアミノ酸配列を入手し得る。比較の目的についてギャップ化整列を得るために、Ｇａｐｐｅｄ　ＢＬＡＳＴは、Ａｌｔｓｃｈｕｌら、Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２５：３５８９～３４０２（１９９７）に記載されるように使用され得る。あるいは、ＰＳＩ－ＢＬＡＳＴは、分子（Ｉｄ．）間の距離的関係を検出する反復サーチを実施するために使用され得る。ＢＬＡＳＴプログラム、Ｇａｐｐｅｄ　ＢＬＡＳＴプログラム、およびＰＳＩ－ＢＬＡＳＴプログラムを使用する場合、それぞれのプログラム（例えば、ＢＬＡＳＴｘおよびＢＬＡＳＴｎ）のデフォルトパラメータが、使用され得る。（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ．を参照のこと）。

【００３８】

配列の比較のために使用される数学的アルゴリズムの別の例は、ＭｙｅｒｓおよびＭｉｌｌｅｒ、ＣＡＢＩＯＳ（１９８９）のアルゴリズムである。ＧＣＧ配列整列ソフトウェアパッケージの一部であるＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）は、このようなアルゴリズムに組込まれている。当該分野に公知の配列分析のための他のアルゴリズムとしては、ＴｏｒｅｌｌｉｓおよびＲｏｂｏｔｔｉ　Ｃｏｍｐｕｔ．Ａｐｐｌ．Ｂｉｏｓｃｉ．，１０：３～５（１９９４）に記載されるようなＡＤＶＡＮＣＥおよびＡＤＡＭ；ならびにＰｅａｒｓｏｎおよびＬｉｐｍａｎ　Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．８５：２４４４～８（１９８８）に記載されるＦＡＳＴＡが挙げられる。ＦＡＳＴＡにおいて、ｋｔｕｐは、サーチの感度および速度を設定する制御オプションである。

【００３９】

用語「誘導体」は、本明細書中で使用される場合、アミノ酸残基の置換、欠失または付加の導入によって変更された、ＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、もしくはＴＲ４ポリペプチドに免疫特異的に結合する本発明の抗体のアミノ酸配列を含むか、あるいは、これらからなる本発明の改変ポリペプチドをいう。用語「誘導体」はまた、本明細書中で使用される場合、例えば、ポリペプチドへの任意のタイプの分子の共有結合によって修飾された、ＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、も

しくはＴＲ４ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体をいう。例えば、限定する目的でなく、ＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、または抗ＴＲ４抗体は、例えば、グリコシル化、アセチル化、ポリエチレングリコール化、リン酸化、アミド化、公知の保護基／ブロック基による誘導体化、タンパク質分解性切断、細胞性リガンドまたは他のタンパク質への連結などによって修飾され得る。ＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、または抗ＴＲ４抗体の誘導体は、当業者に公知の技術を用いる化学修飾（特異的化学切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成などが挙げられるが、これらに限定されない）によって修飾され得る。さらに、ＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、または抗ＴＲ４抗体の誘導体は、１つ以上の非古典的アミノ酸を含み得る。ペプチド誘導体は、本明細書中において記載される、ＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメント、もしくは抗ＴＲ４抗体と類似または同一な機能を有する。

【００４０】

用語「エピトープ」とは、本明細書中で使用される場合、動物、好ましくは、哺乳動物において抗原性活性または免疫原性活性を有するＴＲ４の部分をいう。免疫原性活性を有するエピトープは、動物に応答する抗体を誘発するＴＲ４の一部である。抗原性活性を有するエピトープは、当該分野に公知の任意の方法（例えば、本明細書中に記載される免疫アッセイによって）によって決定されるような抗体に免疫特異的に結合するＴＲ４の一部である。抗原性エピトープは、必ずしも免疫原性である必要性はない。

【００４１】

用語「フラグメント」は、本明細書中で使用される場合、ＴＲ４のアミノ酸配列、または抗ＴＲ４抗体（抗体フラグメントもしくはこれらの改変体を含むか、あるいは、これらからなる分子（例えば、ｓｃＦｖ）を含む）の、少なくとも５アミノ酸残基、少なくとも１０アミノ酸残基、少なくとも１５アミノ酸残基、少なくとも２０アミノ酸残基、少なくとも２５アミノ酸残基、少なくとも３０アミノ酸残基、少なくとも３５アミノ酸残基、少なくとも４０アミノ酸残基、少なくとも４５アミノ酸残基、少なくとも５０アミノ酸残基、少なくとも６０アミノ酸残基、少なくとも７０アミノ酸残基、少なくとも８０アミノ酸残基、少なくとも９０アミノ酸残基、少なくとも１００アミノ酸残基、少なくとも１２５アミノ酸残基、少なくとも１５０アミノ酸残基、少なくとも１７５アミノ酸残基、少なくとも２００アミノ酸残基、または少なくとも２５０アミノ酸残基のアミノ酸配列を含むポリペプチドをいう。

【００４２】

用語「融合タンパク質」は、本明細書中で使用される場合、本発明の抗ＴＲ４抗体のアミノ酸配列および異種ポリペプチドのアミノ酸配列（すなわち、抗体または抗体ドメインに無関係なポリペプチド）を含むか、あるいは、これらからなるポリペプチドをいう。

【００４３】

用語「宿主細胞」は、本明細書中で使用される場合、核酸分子をトランスフェクトされた特定の対象の細胞、およびこのような細胞の子孫または潜在的な子孫をいう。子孫は、世代の継代または宿主細胞ゲノム中への核酸分子の組込みの際に生じ得る変異または環境的影響に起因して、核酸分子をトランスフェクトされた親細胞と同一でないかもしれない。

【００４４】

本発明の抗体は、好ましくは、単離された形態で提供され、そして好ましくは、実質的に精製されている。「単離された」とは、そのネイティブな環境から取り出された抗体を意図する。従って、例えば、組換え宿主細胞中に生成および／または含まれるポリペプチドは、本発明の目的のために単離されると考えられる。

【００４５】

（抗体の構造）

基本的な抗体の構造単位は、四量体を構成することが公知である。各四量体は、ポリペプチド鎖の２つの同一の対からなり、各対は、１つの「軽」鎖（約２５ｋＤａ）および１

つの「重」鎖（約５０～７０ｋＤａ）を有する。各鎖のアミノ末端部は、主に抗原の認識を担う約１００～１１０以上のアミノ酸の可変領域を含む。この鎖のカルボキシ末端部は、主にエフェクター機能を担う定常領域を規定する。ヒト軽鎖は、κ軽鎖およびλ軽鎖として分類される。重鎖は、μ、δ、γ、α、またはεとして分類され、それぞれＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＧ、ＩｇＡ、およびＩｇＥとして抗体のイソタイプを規定する。一般的に、Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｃｈ．７（Ｐａｕｌ，Ｗ．ら、第２版 Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｎ．Ｙ．（１９８９））（その全体が全ての目的のために参考として援用される）を参照のこと。各軽鎖／重鎖の対の可変領域は、抗体の結合部位を形成する。

【００４６】

従って、完全なＩｇＧ抗体は、２つの結合部位を有する。二重機能性または二重特異性の抗体を除いて、これら２つの結合部位は、同じである。

【００４７】

これらの鎖は全て、相補性決定領域またはＣＤＲとも称される３つの高可変領域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、同じ一般的構造を示す。各対の重鎖および軽鎖由来のＣＤＲは、特定のエピトープに結合し得るフレームワーク領域によって並べられる。軽鎖および重鎖の両方が、Ｎ末端からＣ末端に向かって、ドメインＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、およびＦＲ４を含む。各ドメインに対するアミノ酸の指定は、Ｋａｂａｔ Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９８７および１９９１））、またはＣｈｏｔｈｉａ＆Ｌｅｓｋ Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７）；Ｃｈｏｔｈｉａら、Ｎａｔｕｒｅ ３４２：８７８～８８３（１９８９）の定義に従う。

【００４８】

二重特異性または二重機能性の抗体は、２つの異なる重鎖／軽鎖対および２つの異なる結合部位を有する人工的なハイブリッド抗体である。二重特異性抗体は、ハイブリドーマの融合またはＦａｂ’フラグメントの連結を含む種々の方法によって産生され得る。例えば、Ｓｏｎｇｓｉｖｉｌａｉ＆Ｌａｃｈｍａｎｎ Ｃｌｉｎ．Ｅｘｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．７９：３１５－３２１（１９９０）、Ｋｏｓｔｅｌｎｙら、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８：１５４７ １５５３（１９９２）を参照のこと。さらに、二重特異性抗体は、「ダイアボディ（ｄｉａｂｏｄｙ）」（Ｈｏｌｌｉｇｅｒら、「Ｄｉａｂｏｄｉｅｓ’：ｓｍａｌｌ ｂｉｖａｌｅｎｔ ａｎｄ ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｆｒａｇｍｅｎｔｓ」ＰＮＡＳ ＵＳＡ ９０：６４４４－６４４８（１９９３））または「ヤヌシン（Ｊａｎｕｓｉｎ）」（Ｔｒａｕｎｅｃｋｅｒら、「Ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ｓｉｎｇｌｅ ｃｈａｉｎ ｍｏｌｅｃｕｌｅｓ（Ｊａｎｕｓｉｎｓ）ｔａｒｇｅｔ ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅｓ ｏｎ ＨＩＶ ｉｎｆｅｃｔｅｄ ｃｅｌｌｓ」ＥＭＢＯ Ｊ １０：３６５５－３６５９（１９９１）およびＴｒａｕｎｅｃｋｅｒら、「Ｊａｎｕｓｉｎ：ｎｅｗ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｄｅｓｉｇｎ ｆｏｒ ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ ｒｅａｇｅｎｔｓ」Ｉｎｔ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ Ｓｕｐｐｌ ７：５１～５２（１９９２））として形成され得る。

【００４９】

二重特異性抗体の作製は、従来の抗体の作製および収率と比較して、比較的労力のいる集中的なプロセスであり得、そして純度の程度は、二重特異性抗体に対して一般的により低い。二重特異性抗体は、単一の結合部位（例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、およびＦｖ）を有するフラグメントの形態で存在しない。

【００５０】

（抗ＴＲ４抗体）

ファージディスプレイ技術を用いて、本発明者らは、ＴＲ４（またはそのフラグメントもしくは改変体）に免疫特異的に結合する単鎖抗体分子（「ｓｃＦｖ」）を同定した。Ｔ

Ｒ４（またはそのフラグメントもしくは改変体）に免疫特異的に結合する、これらのｓｃＦｖ（例えば、表１に参照されるもののいずれか１つのアミノ酸配列を有するＶＨドメイン、ＶＨ　ＣＤＲ、ＶＬドメイン、またはＶＬ　ＣＤＲを含む）のフラグメントもしくは改変体を含む分子、あるいはこれらからなる分子はまた、これらのｓｃＦｖおよび／または分子をコードする核酸分子と同様に、本発明によって包含される。

【００５１】

特に、本発明は、以下の表１に参照されるように、配列番号４２～５３、好ましくは、配列番号４２および４３からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むｓｃＦｖ、あるいは、これらからなるｓｃＦｖに関する。ＴＲ４に免疫特異的に結合するこれらのｓｃＦｖ（例えば、表１に参照されるもののいずれか１つのアミノ酸配列を有するＶＨドメイン、ＶＨ　ＣＤＲ、ＶＬドメイン、またはＶＬ　ＣＤＲを含む）フラグメントもしくは改変体を含む分子、あるいはこれらからなる分子もまた、これらのｓｃＦｖおよび／または分子をコードする核酸分子（例えば、配列番号５４～６５）と同様に、本発明によって包含される。

【００５２】

配列番号４２～５３に対応するｓｃＦｖは、ＴＲ４ポリペプチドに結合するそれらの活性について選択された。

【００５３】

本発明は、ＴＲ４のポリペプチドまたはポリペプチドフラグメントに免疫特異的に結合する抗体（抗体フラグメントもしくはその改変体を含む分子、あるいはこれらからなる分子を含む）を提供する。特に、本発明は、表１に参照されるｓｃＦｖに対応する抗体を提供する。このようなｓｃＦｖは、慣用的に、挿入によって免疫グロブリン分子に「変換」され得、例えば、以下の実施例５により詳細に記載されるように、ｓｃＦｖのＶＨドメインおよび／またはＶＬドメインをコードするヌクレオチド配列を、定常ドメイン配列を含む発現ベクター中に挿入し、そして免疫グロブリン分子の発現を指示するように操作される。

【００５４】

本発明のｓｃＦｖのＶＨドメインおよびＶＬドメインを含むＩｇＧ１抗体を発現するＮＳ０細胞株は、表１に列挙される日時でＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（「ＡＴＣＣ」）に寄託され、そして表１で確認されるＡＴＣＣ受託番号を与えられた。ＡＴＣＣは、１０８０１　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ　２０１１０－２２０９，ＵＳＡに位置する。ＡＴＣＣへの受託は、特許手続上の目的のための微生物の受託の国際的承認に関するブダペスト条約の条項に準拠させた。

【００５５】

従って、１つの実施形態において、本発明は、本発明のｓｃＦｖのＶＨドメインおよびＶＬドメインを含む抗体を提供する。

【００５６】

好ましい実施形態において、本発明の抗体は、細胞株ＮＳＯ　αＴＲＡＩＬ　１９８５　ＢＵ　＃８１　Ｐ：１５　６／２１／０１によって発現される抗体である（表１を参照のこと）。

【００５７】

好ましい実施形態において、本発明の抗体は、細胞株ＴＲＡＩＬ（ＮＳＯ）１４Ｇ０３　＃３９　Ｐ：１４　７／２／０１によって発現される抗体である（表１を参照のこと）。

【００５８】

好ましい実施形態において、本発明の抗体は、細胞株ＮＳＯ抗－ＴＲＡＩＬ　１４Ｆ０８　＃２８　Ｐ：１１によって発現される抗体である（表１を参照のこと）。

【００５９】

（表１　ＴＲＡＩＬレセプターに免疫特異的に結合するｓｃＦｖ）

【００６０】
【表１】

scFv	scFv タンパク質 SEQ ID NO:	scFv DNA SEQ ID NO:	VH ドメインのアミノ酸	VH CDR1のアミノ酸	VH CDR2のアミノ酸	VH CDR3のアミノ酸	VL ドメインのアミノ酸	VL CDR1のアミノ酸	VL CDR2のアミノ酸	VL CDR3のアミノ酸	抗体を発現する細胞株	ATCC 受託番号	ATCC 寄託日
T1014A04	42	54	1-118	26-35	50-66	99-107	135-245	157-170	186-192	225-234	NSO αTRAIL 1985 BU #81 P:15 6/21/01	PTA-3571	2001年 7月30日
T1014G03	43	55	1-118	26-35	50-66	99-107	135-245	157-170	186-192	225-234	TRAIL (NSO) 14G03 #39 P:14 7/2/01	PTA-3570	2001年 7月30日
T1014A02	44	56	1-116	26-35	50-65	98-105	134-244	156-168	184-190	223-233			
T1014A12	45	57	1-118	26-35	50-66	99-107	135-245	157-170	186-192	225-234			
T1014B01	46	58	1-118	26-35	50-66	99-107	135-245	157-170	186-192	225-234			
T1014B11	47	59	1-118	26-35	50-66	99-107	135-245	157-170	186-192	225-234			
T1014F08	48	60	1-118	26-35	50-66	99-107	135-245	157-170	186-192	225-234	NSO 抗 - TRAIL 14F08 #28 P:11	PTA-3675	2001年 8月29日
T1014G04	49	61	1-118	26-35	50-66	99-107	135-245	157-170	186-192	225-234			
T1015A02	50	62	1-123	26-37	52-67	100-112	140-250	162-174	190-196	229-239			
T1015A07	51	63	1-118	26-35	50-66	99-107	135-245	157-170	186-192	225-234			
T1015E01	52	64	1-118	26-35	50-66	99-107	135-245	157-170	186-192	225-234			
T1006F07	53	65	1-125	26-35	50-66	99-114	142-249	164-174	190-196	229-238			

【００６１】
本発明は、ＴＲ４ポリペプチドまたはそのフラグメント、改変体、もしくは融合タンパク質に免疫特異的に結合する抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含むか、あるい

は、それらからなる分子が挙げられる）を包含する。ＴＲ４ポリペプチドとしては、ＴＲ４（配列番号１）または１９９７年１月２１日に寄託されたＡＣＴＴ寄託９７８５３に含まれるクローンＨＣＵＤＳ６０におけるｃＤＮＡによりコードされるポリペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本発明の抗体は、上記のＴＲ４およびＴＲ７（配列番号３）または１９９７年３月７日に寄託されたＡＴＣＣ寄託９７９２０に含まれるクローンＨＬＹＢＸ８８におけるｃＤＮＡによりコードされるポリペプチドの両方に免疫特異的に結合し得る。ＴＲＡＩＬレセプターは、配列番号１～５のポリペプチド（ＴＲ４、ＴＲ５、ＴＲ７、ＴＲ１０、およびＴＲ１；例えば、ＡＴＣＣ寄託番号９７８５３、（ＴＲ４）９７７９８（１９９６年１１月２０に寄託されたＴＲ５）、９７９２０（ＴＲ７）、または２０９０４０（１９９７年５月１５日に寄託された、ＴＲ１０）におけるｃＤＮＡ）をコードする核酸の組換え発現を通して産生され得る。

【００６２】

１つの実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ１、ＴＲ５、ＴＲ７、またはＴＲ１０（配列番号５、２、３、および４）またはそのフラグメント、改変体、もしくは融合タンパク質を含む他のタンパク質に結合するそれらの能力と比較して、ＴＲ４（配列番号１）またはそのフラグメント、改変体、もしくは融合タンパク質（例えば、Ｆｃドメインに融合されたＴＲ４の細胞外領域）に優先的に結合する。他の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ１、ＴＲ５またはＴＲ１０（配列番号５、２および４）またはそのフラグメント、改変体、もしくは融合タンパク質を含む他のタンパク質に結合するそれらの能力と比較して、ＴＲ４およびＴＲ７（配列番号１および３）、またはそのフラグメントもしくは改変体に優先的に結合する。他の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ１　ＴＲ４、ＴＲ５、ＴＲ７およびＴＲ１０（配列番号５、１、２、３、および４）に結合する。１つの抗原を、別の抗原より優先的に結合する抗体の能力は、当該分野において公知の任意の方法を用いて決定され得る。

【００６３】

（ＴＲ４ポリペプチド）

本発明の特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体に結合する。以下の節は、本発明の抗体により結合され得るＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４フラグメント、およびＴＲ４改変体をより詳細に記載する。本発明の抗体により結合され得るＴＲ４ポリペプチド、ＴＲ４フラグメント、およびＴＲ４改変体はまた、例えば、国際公開番号ＷＯ９８／３２８５６および同ＷＯ００／６７７９３（これらの全体が、本明細書中に参考として援用される）にも記載される。

【００６４】

特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチドに免疫特異的に結合する。ＴＲ４に免疫特異的に結合する抗体は、いくつかの実施形態において、ＴＲ４のフラグメント、改変体（ＴＲ４のオルソログ種を含む）、マルチマーまたは改変された形態を結合し得る。例えば、ＴＲ４に免疫特異的な抗体は、ＴＲ４の全てまたは一部を含む融合タンパク質のＴＲ４部分を結合し得る。

【００６５】

ＴＲ４タンパク質は、モノマーまたはマルチマー（すなわち、二量体、三量体、四量体およびより高次のモノマー）として見出され得る。従って、本発明は、モノマーまたはマルチマーの一部として見出されるＴＲ４タンパク質を結合する抗体に関する。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４のモノマー、二量体、三量体、または四量体を結合する。さらなる実施形態において、本発明の抗体は、１つ以上のＴＲ４ポリペプチドを含む、少なくとも二量体、少なくとも三量体、または少なくとも四量体を結合する。

【００６６】

本発明の抗体は、ＴＲ４ホモマーまたはＴＲ４ヘテロマーを結合し得る。本明細書中で用いられる場合、用語ホモマーは、本発明のＴＲ４（本明細書中に記載されるＴＲ４の、フラグメント、改変体、および融合タンパク質を含む）のみを含むマルチマーをいう。これらのホモマーは、同一または異なるポリペプチド配列を有するＴＲ４タンパク質を含み

得る。特定の実施形態では、本発明のホモマーは、同一のポリペプチド配列を有するＴＲ４タンパク質のみを含むマルチマーである。別の特定の実施形態では、本発明の抗体は、異なるポリペプチド配列を有するＴＲ４タンパク質を含むＴＲ４ホモマーに結合する。特定の実施形態では、本発明の抗体は、ＴＲ４ホモダイマー（例えば、同一または異なるポリペプチド配列を有するＴＲ４タンパク質を含む）あるいはホモトリマー（例えば、同一または異なるポリペプチド配列を有するＴＲ４タンパク質を含む）に結合する。さらなる実施形態では、本発明の抗体は、ＴＲ４の少なくともホモダイマー、少なくともホモトリマーまたは少なくともホモテトラマーに結合する。

【００６７】

特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４ホモトリマー（例えば、同一または異なるポリペプチド配列を有するＴＲ４タンパク質を含む）を結合する。

【００６８】

本明細書中で用いられる場合、用語ヘテロマーとは、本発明のＴＲ４タンパク質に加えて異種タンパク質（すなわち、ＴＲ４遺伝子によりコードされるペプチド配列に対応しないポリペプチド配列を含むタンパク質）を含むマルチマーをいう。特定の実施形態では、本発明の抗体は、ヘテロダイマー、ヘテロトリマーまたはヘテロテトラマーを結合する。さらなる実施形態では、本発明の抗体は、１つ以上のＴＲ４ポリペプチドを含む少なくともホモダイマー、少なくともホモトリマーまたは少なくともホモテトラマーを結合する。

【００６９】

特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４ヘテロトリマー（例えば、１つまた２つのＴＲ４タンパク質および各々２つまたは１つのＴＲ７タンパク質を含む）。

【００７０】

１つ以上の本発明の抗体により結合されるマルチマーは、疎水性、親水性、イオン性および／もしくは共有結合的な結合の結果であり得、そして／または例えば、リポソーム形成によって間接的に連結され得る。従って、１つの実施形態では、１つ以上の本発明の抗体により結合されるマルチマー（例えば、ホモダイマーまたはホモトリマーなど）は、ＴＲ４タンパク質が溶液中で互いに接触する場合に形成される。別の実施形態では、１つ以上の本発明の抗体により結合されるヘテロマルチマー（例えば、ヘテロトリマーまたはヘテロテトラマーなど）は、本発明のタンパク質が、溶液中でＴＲ４ポリペプチドに対する抗体（融合タンパク質における異種ポリペプチド配列に対する抗体を含む）と接触した場合に形成される。他の実施形態では、１つ以上の本発明の抗体により結合されるマルチマーは、本発明のＴＲ４タンパク質との、および／または本発明のＴＲ４タンパク質間での共有結合によって形成される。このような共有結合は、タンパク質のポリペプチド配列（例えば、配列番号１において列挙されるポリペプチドまたは、ＡＴＣＣ寄託番号９７８５３中の寄託されたｃＤＮＡクローンによってコードされるポリペプチド）に含まれる１以上のアミノ酸残基を含み得る。１例では、この共有結合は、ネイティブ（すなわち、天然に存在する）ポリペプチドにおいて相互作用するタンパク質のポリペプチド配列内に位置するシステイン残基間での架橋である。別の例では、この共有結合は、化学的操作または組換え操作の結果である。あるいは、このような共有結合は、ＴＲ４融合タンパク質中の異種ポリペプチド配列に含まれる１以上のアミノ酸残基を含み得る。１例では、共有結合は、融合タンパク質に含まれる異種配列間にある（例えば、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。特定の例では、この共有結合は、（本明細書中に記載されるような）ＴＲ４－Ｆｃ融合タンパク質に含まれる異種配列間にある。別の特定の例では、融合タンパク質の共有結合は、共有結合したマルチマーを形成し得る別のＴＮＦファミリーリガンド／レセプターメンバー（例えば、オステオプロテゲリン（ｏｓｅｔｅｏｐｒｏｔｅｇｅｒｉｎ）など）由来の異種ポリペプチド配列間にある（例えば、国際公開番号ＷＯ　９８／４９３０５号（この内容はその全体が本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）。

【００７１】

本発明の１つ以上の抗体によって結合され得るマルチマーは、当該分野で公知の化学技

術を使用して生成され得る。例えば、本発明のマルチマーに含まれることが所望されるタンパク質は、当該分野で公知のリンカー分子およびリンカー分子長最適化技術を使用して、化学的に架橋され得る（例えば、米国特許第５，４７８，９２５号（これは本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）さらに、１つ以上の本発明の抗体により結合され得るマルチマーは、当該分野で公知の技術を使用して生成されて、マルチマー中に含まれることが所望されるタンパク質のポリペプチド配列内に位置するシステイン残基間に、１つ以上の分子間架橋を形成し得る（例えば、米国特許第５，４７８，９２５号（これは、本明細書中にその全体が参考として援用される）を参照のこと）。さらに、１つ以上の本発明の抗体により結合され得るタンパク質は、このタンパク質のポリペプチド配列のＣ末端またはＮ末端へのシステインまたはビオチンの付加により慣用的に改変され得、当該分野で公知の技術が、１つ以上のこれらの改変されたタンパク質を含むマルチマーを生成するために適用され得る（例えば、米国特許第５，４７８，９２５号（これはその全体が本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）。さらに、当該分野で公知の技術は、１つ以上の本発明の抗体により結合され得るマルチマーに含まれることが所望されるタンパク質成分を含むリポソームを生成するために適用され得る（例えば、米国特許第５，４７８，９２５号（これはその全体が本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）。

【００７２】

あるいは、１つ以上の本発明の抗体により結合され得るマルチマーは、当該分野で公知の遺伝子操作技術を用いて生成され得る。１つの実施形態では、１つ以上の本発明の抗体により結合され得るマルチマーに含まれるタンパク質は、本明細書中に記載されるかさもなくば当該分野で公知の融合タンパク質技術を用いて組換え生成される（例えば、本明細書中にその全体が参考として援用される、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。特定の実施形態では、１つ以上の本発明の抗体により結合され得るホモダイマーをコードするポリヌクレオチドは、ＴＲ４ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を、リンカーポリペプチドをコードする配列に連結し、次いでさらに元々のＣ末端からＮ末端の方向とは逆方向でポリペプチドの翻訳産物をコードする合成ポリヌクレオチド（リーダー配列を欠く）に連結することによって生成される（例えば、本明細書中にその全体が参考として援用される、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。別の実施形態では、本明細書中に記載されるかさもなくば当該分野で公知の組換え技術を適用して、膜貫通ドメインを含み、そして膜再構成技術によってリポソームに取り込まれ得る、組換えＴＲ４ポリペプチドを生成する（例えば、本明細書中にその全体が参考として援用される、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。別の実施形態において、２つ以上のＴＲ４ポリペプチドが合成リンカー（例えば、ペプチド、糖鎖または可溶性ポリマーリンカー）を介して結合される。例としては、米国特許第５，０７３，６２７号（本明細書中に参考として援用される）に記載されるペプチドリンカーが挙げられる。ペプチドリンカーにより分けられた複合ＴＲ４ポリペプチドを含むタンパク質は、従来の組換えＤＮＡ技術を用いて産生され得る。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ペプチドリンカーにより分けられる複合ＴＲ４ポリペプチドを含むタンパク質を結合する。

【００７３】

マルチマーＴＲ４ポリペプチドを調製するための別の方法は、ロイシンジッパーポリペプチド配列またはイソロイシンジッパーポリペプチド配列に融合されたＴＲ４ポリペプチドの使用を含む。ロイシンジッパードメインおよびイソロイシンジッパードメインは、そのドメインが見出されるタンパク質のマルチマー形成を促進するポリペプチドである。ロイシンジッパーは元々、いくつかのＤＮＡ結合タンパク質において同定され（Ｌａｎｄｓｃｈｕｌｚら，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４０：１７５９、（１９８８））、そしてそれ以来種々の異なるタンパク質において見出されている。とりわけ公知のロイシンジッパーは、ダイマー形成またはトリマー形成をする、天然に存在するペプチドおよびその誘導体である。ＴＲ４可溶性マルチマータンパク質を生成するために適切なロイシンジッパードメインの例は、ＰＣＴ出願ＷＯ　９４／１０３０８（本明細書中に参考として援用される）に記

載されるロイシンジッパードメインである。溶液中でダイマー形成またはトリマー形成をするペプチドに融合された可溶性ＴＲ４ポリペプチドを含む組換え融合タンパク質は、適切な宿主細胞中で発現され、そして得られる可溶性マルチマーＴＲ４は、当該分野で公知の技術を用いて培養上清から回収される。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４－ロイシンジッパー融合タンパク質モノマーおよび／またはＴＲ４－ロイシンジッパー融合タンパク質マルチマーを結合する。

【００７４】

タンパク質のＴＮＦファミリーの特定のメンバーは、トリマー形態で存在すると考えられる（ＢｅｕｔｌｅｒおよびＨｕｆｆｅｌ、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２６４：６６７，１９９４；Ｂａｎｎｅｒら、Ｃｅｌｌ　７３：４３１，１９９３）。従って、トリマーＴＲ４は、増強された生物学的活性という利点を提供し得る。好ましいロイシンジッパー部分は、トリマーを優先的に形成する部分である。１例は、Ｈｏｐｐｅら（ＦＥＢＳ　Ｌｅｔｔｅｒｓ　３４４：１９１，（１９９４））および米国特許出願第０８／４４６，９２２号（本明細書中に参考として援用される）に記載される通りの肺サーファクタントプロテインＤ（ＳＰＤ）に由来するロイシンジッパーである。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４－ロイシンジッパー融合タンパク質トリマーを結合する。

【００７５】

天然に存在する三量体タンパク質由来の他のペプチドが、三量体ＴＲ４の調製に使用され得る。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４－融合タンパク質モノマーおよび／またはＴＲ４融合タンパク質三量体を結合する。

【００７６】

ＴＲ４レセプターポリペプチドを結合する抗体は、単離されたポリペプチドとしてかまたはそれらが天然に存在する状態でそれらを結合し得る。「単離されたポリペプチド」とは、そのネイティブの環境から除去されたポリペプチドを意図する。従って、産生され、そして／または組換え宿主細胞内に含まれるポリペプチドは、本発明の目的のために単離されていると考えられる。また、「単離されたポリペプチド」とは、組換え宿主細胞から部分的もしくは実質的に精製されているポリペプチドを意図する。例えば、ＴＲ４ポリペプチドの組換え的に産生されたバージョンは、ＳｍｉｔｈおよびＪｏｈｎｓｏｎ，Ｇｅｎｅ　６７：３１－４０（１９８８）に記載される一工程の方法により実質的に精製され得る。従って、本発明の抗体は、組換え産生されたＴＲ４レセプターポリペプチドを結合し得る。特定の実施形態において、本発明の抗体は、遺伝子発現を制御する調節配列に作動可能に結合された配列番号１のアミノ酸１～４６８をコードするポリヌクレオチドを含む細胞の表面上で発現されるＴＲ４レセプターを結合する。

【００７７】

本発明の抗体は、ＡＴＣＣ寄託番号９７８５３に含まれるｃＤＮＡによりコードされるか、またはＡＴＣＣ寄託番号９７８５３に含まれるヌクレオチド配列、もしくはその相補鎖に（例えば、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で）ハイブリダイズする核酸によりコードされる配列番号１に含まれるアミノ酸配列を含むか、あるいはその配列からなるＴＲ４ポリペプチドを結合し得る。タンパク質フラグメントは、「染色されていない」か、そのフラグメントが一部または一領域、最も好ましくは単一の連続する領域を形成する、より大きなポリペプチドに含まれ得る。本発明の抗体は、例えば、以下：配列番号１のおおよそアミノ酸残基１～おおよそアミノ酸残基２３、おおよそアミノ酸残基２４～おおよそアミノ酸残基４３、おおよそアミノ酸残基４４～おおよそアミノ酸残基６３、おおよそアミノ酸残基６４～８３、おおよそアミノ酸残基８４～１０３、おおよそアミノ酸残基１０４～１２３、おおよそアミノ酸残基１２４～１４３、おおよそアミノ酸残基１４４～おおよそアミノ酸残基１６３、おおよそアミノ酸残基１６４～おおよそアミノ酸残基１８３、おおよそアミノ酸残基１８４～おおよそアミノ酸残基２０３、おおよそアミノ酸残基２０４～おおよそアミノ酸残基２２３、おおよそアミノ酸残基２２４～おおよそアミノ酸残基２３８、おおよそアミノ酸残基２３９～おおよそアミノ酸残基２６４、おおよそアミノ酸残基２６５～おおよそアミノ酸残基２８４、おおよそアミノ酸残基２８５

～おおよそアミノ酸残基３０４、おおよそアミノ酸残基３０５～おおよそアミノ酸残基３２４、おおよそアミノ酸残基３２５～おおよそアミノ酸残基３４５、おおよそアミノ酸残基３４６～おおよそアミノ酸残基３６６、おおよそアミノ酸残基３６７～おおよそアミノ酸残基３８７、おおよそアミノ酸残基３８８～おおよそアミノ酸残基４１８、おおよそアミノ酸残基４１９～おおよそアミノ酸残基４３９、および／またはおおよそアミノ酸残基４４０～おおよそアミノ酸残基４６８を含むか、あるいはそれらからなるフラグメントを含む、ペプチドフラグメントを結合し得る。この文脈において、「おおよそ」とは、詳細には、いずれかの端または両方の端で、いくつかの（５、４、３、２、または１）アミノ酸だけ多いかまたは少ない、再び引用された値を含む。さらに、本発明の抗体により結合されるポリペプチドフラグメントは、少なくともおおよそ１０アミノ酸長、少なくともおおよそ２０アミノ酸長、少なくともおおよそ３０アミノ酸長、少なくともおおよそ４０アミノ酸長、少なくともおおよそ５０アミノ酸長、少なくともおおよそ６０アミノ酸長、少なくともおおよそ７０アミノ酸長、少なくともおおよそ８０アミノ酸長、少なくともおおよそ９０アミノ酸長、少なくともおおよそ１００アミノ酸長、少なくともおおよそ１１０アミノ酸長、少なくともおおよそ１２０アミノ酸長、少なくともおおよそ１３０アミノ酸長、少なくともおおよそ１４０アミノ酸長、少なくともおおよそ１５０アミノ酸長、少なくともおおよそ１７５アミノ酸長、または少なくともおおよそ２００アミノ酸長であり得る。この文脈において、「おおよそ」とは、詳細には、いずれかの端または両方の端で、いくつかの（５、４、３、２、または１）アミノ酸だけ多いかまたは少ない、再び引用された値を含む。

【００７８】

好ましくは、本発明の抗体は、以下：ＴＲ４レセプター細胞外ドメイン（配列番号１におけるおおよそ２４～２３８アミノ酸残基を構成すると予測される）を含むかあるいは、それらからなる、ポリペプチド；ＴＲ４システインリッチドメインを含むかあるいは、それらからなるポリペプチド（それらの両方が配列番号１におけるおおよそ１３１～２２９アミノ酸残基からなるタンパク質フラグメントにおいて見出され得る）；配列番号１におけるおおよそ１３１～１８３アミノ酸残基からなるＴＲ４システインリッチドメインを含むかあるいは、それらからなる、ポリペプチド；配列番号１におけるおおよそ１８４～２２９アミノ酸残基からなるＴＲ４システインリッチドメインを含むかあるいは、それらからなる、ポリペプチド；ＴＲ４レセプター膜貫通ドメイン（配列番号１におけるおおよそ２３９～２６４アミノ酸残基を構成すると予測される）を含むかあるいは、それらからなる、ポリペプチド；予測される成熟ＴＲ４ポリペプチドのフラグメントを含むかあるいは、それらからなる、ポリペプチドであって、ここでこのフラグメントが、ＴＲ４の機能的活性（例えば、抗原活性または生物学的活性）を有する、ポリペプチド；ＴＲ４レセプター細胞内ドメイン（配列番号１におけるおおよそアミノ酸残基２６５～おおよそアミノ酸残基４６８を構成すると予測される）を含むかあるいは、それらからなる、ポリペプチド；膜貫通ドメインの全てかまたは一部が欠失しているＴＲ４レセプターの細胞外および細胞内ドメインを含むかあるいは、それらからなる、ポリペプチド；ＴＲ４レセプター死ドメイン（配列番号１におけるおおよそアミノ酸残基３７９～おおよそアミノ酸残基４２２を構成すると予測される）を含むかあるいは、それらからなる、ポリペプチド；ならびにＴＲレセプタータンパク質のエピトープ保有部分のうち１、２、３、４以上を含むかあるいは、それらからなる、ポリペプチド、より選択されるポリペプチドフラグメントに結合する。さらなる実施形態において、本発明のポリペプチドフラグメントは、上記のメンバーのうち１、２、３、４、５、６、７、または８つ全ての任意の組み合わせを含むかあるいは、それらからなる。ＴＲ４レセプターの細胞外ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインを構成するアミノ酸残基がコンピュータ解析により予測されている。従って、当業者は、各々のドメインを規定するために用いられる基準に依存してこれらのドメインを構成するアミノ酸残基がわずかに（例えば、おおよそ１アミノ酸残基～おおよそ１５アミノ酸残基）変化し得ることを理解する。これらのポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもまた、本発明の範囲に含まれる。

【００７９】
ＴＲ４の細胞外システインリッチモチーフのうち一方または両方がＴＲ４とそのリガンド（例えば、ＴＲＡＩＬ）との相互作用のために重要であると考えられている。従って、非常に好ましい実施形態において、本発明の抗体は、配列番号１のアミノ酸残基１３１～１８３、および／または１８４～２２９を含むか、あるいはそれらからなるＴＲ４ポリペプチドフラグメントを結合する。別の非常に好ましい実施形態において、本発明の抗体は、細胞外システインリッチモチーフ（配列番号１のアミノ酸残基１３１～２２９）の両方を含むか、あるいはそれらからなるＴＲ４ポリペプチドを結合する。別の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４の細胞外可溶性ドメイン（配列番号１のアミノ酸残基２４～２３８）を含むか、あるいはそれからなるＴＲ４ポリペプチドを結合する。非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４の細胞外可溶性ドメインの全てまたは一部（例えば、システインリッチドメインの１つまたは両方）を結合する本発明の抗体は、ＴＲＡＩＬリガンドがＴＲ４に結合することを防ぐ。他の非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４の細胞外可溶性ドメインの全てまたは一部（例えば、システインリッチドメインの１つまたは両方）を結合する本発明の抗体は、ＴＲ４レセプターと拮抗する。他の非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４の細胞外可溶性ドメインの全てまたは一部（例えば、システインリッチドメインの１つまたは両方）を結合する本発明の抗体は、ＴＲ４レセプターを発現する細胞の細胞死を誘導する。

【００８０】
本発明の抗体はまた、ＴＲ４の構造的または機能的な特性を含むか、またはそれらからなるフラグメントを結合し得る。そのようなフラグメントは、完全な（すなわち、全長）ＴＲ４のαヘリックスおよびαヘリックス形成領域（「α領域」）、βシートおよびβシート形成領域（「β領域」）、ターンおよびターン形成領域（「ターン領域」）、コイルおよびコイル形成領域（「コイル領域」）、親水性領域、疎水性領域、α両親媒性領域、β両親媒性領域、表面形成領域、および高い抗原性指標の領域（ｈｉｇｈ　ａｎｔｉｇｅｎｉｃ　ｉｎｄｅｘ　ｒｅｇｉｏｎ）（すなわち、Ｊａｍｅｓｏｎ－Ｗｏｌｆプログラムのデフォルトパラメーターを用いて識別される場合、１．５以上の抗原性指標を有する４つ以上の連続するアミノ酸を含む）を含むアミノ酸残基を含む。特定の好ましい領域は、表２に示される領域であり、そして（配列番号１）に示されるアミノ酸配列の分析により識別される前記の型の領域が挙げられるが、それらに限定されず、そのような好ましい領域としては、Ｇａｒｎｉｅｒ－Ｒｏｂｓｏｎ　α領域、β領域、ターン領域、およびコイル領域；Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎ　α領域、β領域、およびターン領域；Ｋｙｔｅ－Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ親水性領域；Ｅｉｓｅｎｂｅｒｇ　α両親媒性領域およびβ両親媒性領域；Ｅｍｉｎｉ表面形成領域；ならびにＪａｍｅｓｏｎ－Ｗｏｌｆの高い抗原性指標領域が挙げられる（これらは、これらのコンピュータプログラムのデフォルトパラメーターを用いて予測されるとおりである）。

【００８１】
上記のような、表２に示されるＴＲ４の構造的特性または機能的特性を示すデータは、デフォルトパラメータでセットされるＤＮＡ＊ＳＴＡＲの種々のモジュールおよびアルゴリズムを用いて作製された。列Ｉは、αヘリックス領域のＧａｒｎｉｅｒ－Ｒｏｂｓｏｎ分析の結果を表す；列ＩＩは、αヘリックス領域のＣｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎ分析の結果を表す；列ＩＩＩは、βシート領域のＧａｒｎｉｅｒ　Ｒｏｂｓｏｎ分析の結果を表す；列ＩＶは、βシート領域のＣｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎ分析の結果を表す；列Ｖは、ターン領域のＧａｒｎｉｅｒ　Ｒｏｂｓｏｎ分析の結果を表す；列ＶＩは、ターン領域のＣｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎ分析の結果を表す；列ＶＩＩは、コイル領域のＧａｒｎｉｅｒ　Ｒｏｂｓｏｎ分析の結果を表す；列ＶＩＩＩは、Ｋｙｔｅ－Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ親水性プロットを表す；列ＩＸは、α両親媒性領域のＥｉｓｅｎｂｅｒｇ分析の結果を表す；列Ｘは、β両親媒性領域のＥｉｓｅｎｂｅｒｇ分析の結果を表す；列ＸＩは、可撓性領域のＫａｒｐｌｕｓ－Ｓｃｈｕｌｔｚ分析の結果を表す；列ＸＩＩは、Ｊａｍｅｓｏｎ－Ｗｏｌｆの抗原性指標のスコアを表す；そして列ＸＩＩＩは、Ｅｍｉｎｉ表面の可能性のプロットを表す。

【００８２】
好ましい実施形態において、表２の列ＶＩＩＩ、ＸＩＩ、およびＸＩＩＩに示されるデータは、抗原性の潜在能力を高い程度で阻害するＴＲ４の領域を決定するために用いられ得る。高い抗原性の領域は、免疫応答の開始のプロセスにおいて抗原認識が起こり得る環境で、ポリペプチドの表面に曝されているようであるポリペプチドの領域を表す値を選択することによって、列ＶＩＩＩ、ＸＩＩ、および／またはＸＩＩＩに示されるデータから決定される。
【００８３】
表２に示される上述の好ましい領域としては、配列番号１に示されるアミノ酸配列の分析により識別される前出の型の領域が挙げられるが、これらに限定されない。表２に示されるように、そのような好ましい領域としては、Ｇａｒｎｉｅｒ－Ｒｏｂｓｏｎ　α領域、β領域、ターン領域、およびコイル領域；Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎ　α領域、β領域、およびターン領域；Ｋｙｔｅ－Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ親水性領域；Ｅｉｓｅｎｂｅｒｇ　α両親媒性領域およびβ両親媒性領域；Ｋａｒｐｌｕｓ－Ｓｃｈｕｌｚ可撓性領域、高い抗原性指標のＪａｍｅｓｏｎ－Ｗｏｌｆ領域ならびにＥｍｉｎｉ表面形成領域が挙げられる。複数の構造的特徴（例えば、上記および表２に示されるいくつか（例えば、１、２、３、または４）の同じかまたは異なる領域の特性）に結びつくＴＲ４の領域を含むポリペプチドフラグメントは、１つ以上の本発明の抗体により結合される好ましいポリペプチドフラグメントの範囲にある。
【００８４】

【表２－１】

表2

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Met	1	.	.	B	.	.	.	.	0.12	.	.	.	-0.10	0.90
Ala	2	.	.	.	.	.	.	C	-0.08	*	*	.	0.25	1.08
Pro	3	.	.	.	.	.	.	C	0.42	*	*	.	0.10	0.86
Pro	4	.	.	.	.	.	T	C	-0.04	*	*	.	1.05	1.69
Pro	5	A	.	.	.	.	T	.	0.31	.	*	F	1.00	1.24
Ala	6	A	.	.	.	.	T	.	0.10	.	*	F	1.00	1.10
Arg	7	A	.	.	.	.	T	.	0.34	.	*	.	0.10	0.58
Val	8	.	.	B	B	.	.	.	-0.03	.	*	.	-0.30	0.37
His	9	.	.	B	B	.	.	.	-0.52	.	*	.	-0.30	0.37
Leu	10	.	.	B	B	.	.	.	-1.12	.	*	.	-0.60	0.17
Gly	11	.	.	B	B	.	.	.	-1.12	.	*	.	-0.60	0.18
Ala	12	.	.	B	B	.	.	.	-2.09	.	*	.	-0.60	0.14
Phe	13	.	.	B	B	.	.	.	-1.54	.	*	.	-0.60	0.12
Leu	14	.	.	B	B	.	.	.	-1.72	.	.	.	-0.60	0.18
Ala	15	.	.	B	B	.	.	.	-0.91	.	.	.	-0.60	0.27
Val	16	.	.	B	B	.	.	.	-0.78	.	.	.	-0.60	0.51
Thr	17	.	.	B	B	.	.	.	-0.53	.	.	F	-0.45	0.95
Pro	18	.	.	.	B	.	.	C	-0.13	.	.	F	0.05	0.93
Asn	19	.	.	.	.	.	T	C	0.09	.	.	F	0.60	1.69
Pro	20	.	.	.	.	.	T	C	0.09	.	.	F	0.60	1.18
Gly	21	.	.	.	.	T	T	.	0.64	.	.	F	0.65	0.77
Ser	22	.	.	.	.	.	T	C	0.61	.	.	F	0.45	0.64
Ala	23	.	.	.	.	.	.	C	0.51	.	.	F	0.25	0.41
Ala	24	.	.	.	.	.	T	C	0.51	.	.	F	0.45	0.60
Ser	25	.	.	B	.	.	T	.	0.13	.	.	F	0.85	0.78
Gly	26	A	.	.	.	.	T	.	-0.11	.	.	F	0.85	0.78
Thr	27	A	.	.	.	.	T	.	-0.40	.	.	F	0.85	0.78
Glu	28	A	A	.	.	.	.	.	-0.40	.	.	F	0.45	0.58
Ala	29	A	A	.	.	.	.	.	-0.12	.	.	.	0.30	0.60
Ala	30	A	A	.	.	.	.	.	-0.03	.	.	.	0.30	0.60
Ala	31	A	A	.	.	.	.	.	0.01	.	.	.	0.30	0.53
Ala	32	A	A	.	.	.	.	.	0.37	.	.	.	-0.30	0.71
Thr	33	A	.	.	.	.	T	.	-0.49	*	.	F	1.00	1.40
Pro	34	A	.	.	.	.	T	.	-0.19	.	.	F	1.00	1.03
Ser	35	.	.	B	.	.	T	.	0.06	.	.	F	0.40	1.07
Lys	36	.	.	B	.	.	T	.	0.34	.	.	F	0.25	0.73
Val	37	.	.	B	B	.	.	.	0.63	.	.	F	-0.15	0.64
Trp	38	.	.	B	B	.	.	.	0.36	.	.	F	-0.15	0.64
Gly	39	.	.	B	B	.	.	.	0.22	*	*	F	-0.15	0.32
Ser	40	.	.	.	.	.	.	C	0.63	*	*	F	-0.05	0.43
Ser	41	.	.	.	.	.	T	C	-0.30	*	*	F	0.45	0.80
Ala	42	.	.	.	.	.	T	C	0.56	*	*	F	1.05	0.57
Gly	43	.	.	.	.	.	T	C	0.63	*	*	F	1.35	0.73
Arg	44	.	.	B	.	.	T	.	1.09	*	*	F	1.49	0.84
Ile	45	.	.	B	.	.	.	.	1.04	*	*	F	1.78	1.63
Glu	46	.	.	B	.	.	.	.	1.00	*	*	F	2.12	1.63
Pro	47	.	.	B	.	.	T	.	1.24	*	*	F	2.51	0.83
Arg	48	.	.	.	.	T	T	.	1.70	*	*	F	3.40	1.17
Gly	49	.	.	.	.	T	T	.	1.24	*	*	F	3.06	1.32
Gly	50	.	.	.	.	T	T	.	1.54	*	*	F	2.57	0.84

【００８５】

【表２－２】

表2(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Gly	51	.	.	.	.	.	T	C	0.73	*	*	F	2.03	0.44
Arg	52	.	.	.	.	.	T	C	0.73	*	*	F	1.39	0.36
Gly	53	.	.	B	.	.	T	.	0.31	*	*	F	0.85	0.57
Ala	54	.	.	B	.	.	T	.	0.36	.	*	F	0.85	0.83
Leu	55	.	.	B	.	.	.	.	0.10	.	*	F	0.65	0.57
Pro	56	.	.	B	.	.	.	.	0.10	.	*	F	-0.25	0.57
Thr	57	.	.	B	.	.	.	.	-0.01	.	*	F	-0.25	0.55
Ser	58	.	.	B	.	.	T	.	0.30	.	.	F	0.10	1.16
Met	59	.	.	B	.	.	T	.	0.54	.	.	F	0.40	1.02
Gly	60	.	.	B	.	.	T	.	1.14	.	.	F	0.25	0.70
Gln	61	.	.	.	.	T	T	.	1.06	.	.	F	0.65	0.81
His	62	.	.	.	.	.	.	C	0.78	.	*	F	0.40	1.10
Gly	63	.	.	.	.	.	T	C	1.19	.	*	F	0.60	1.12
Pro	64	.	.	.	.	.	T	C	1.20	.	*	F	1.20	1.27
Ser	65	.	.	.	.	.	T	C	1.66	.	*	F	1.05	0.94
Ala	66	.	.	B	.	.	T	.	1.07	.	*	F	1.30	1.86
Arg	67	.	.	B	.	.	.	.	0.76	*	*	.	1.29	1.22
Ala	68	.	.	B	.	.	.	.	1.21	*	*	.	1.48	0.90
Arg	69	.	.	B	.	.	T	.	0.83	.	*	.	2.17	1.74
Ala	70	.	.	B	.	.	T	.	0.92	.	*	F	2.51	0.90
Gly	71	.	.	.	.	T	T	.	1.17	.	*	F	3.40	1.37
Arg	72	.	.	.	.	.	T	C	0.84	.	*	F	2.71	0.69
Ala	73	.	.	.	.	.	T	C	1.54	*	.	F	2.48	1.06
Pro	74	.	.	.	.	.	T	C	1.22	*	.	F	2.70	2.10
Gly	75	.	.	.	.	.	T	C	1.22	*	.	F	2.62	1.66
Pro	76	.	.	.	.	.	T	C	1.68	*	*	F	2.24	1.66
Arg	77	.	.	.	.	.	.	C	1.57	*	.	F	2.60	2.10
Pro	78	.	A	B	.	.	.	.	1.57	*	.	F	1.94	3.68
Ala	79	.	A	B	.	.	.	.	1.48	*	.	F	1.68	2.40
Arg	80	.	A	B	.	.	.	.	1.61	*	*	F	1.42	1.64
Glu	81	.	A	B	.	.	.	.	1.93	*	*	F	1.16	1.64
Ala	82	A	A	.	.	.	.	.	1.01	*	*	F	0.90	3.19
Ser	83	A	.	.	.	.	T	.	1.33	*	*	F	1.30	1.34
Pro	84	A	.	.	.	.	T	.	1.07	*	*	F	1.30	1.52
Arg	85	A	.	.	.	.	T	.	0.92	*	*	F	1.00	1.12
Leu	86	A	.	.	.	.	T	.	0.97	.	*	.	0.85	1.13
Arg	87	A	.	.	B	.	.	.	1.24	.	*	.	0.75	1.46
Val	88	A	.	.	B	.	.	.	0.84	*	*	.	0.75	1.08
His	89	A	.	.	B	.	.	.	1.10	.	*	.	-0.15	1.13
Lys	90	A	.	.	B	.	.	.	0.29	*	*	F	0.90	1.16
Thr	91	.	.	B	B	.	.	.	0.24	*	*	F	0.00	1.35
Phe	92	.	.	B	B	.	.	.	-0.72	*	*	.	-0.30	0.74
Lys	93	.	.	B	B	.	.	.	-0.72	*	*	.	-0.30	0.27
Phe	94	.	.	B	B	.	.	.	-1.03	*	.	.	-0.60	0.14
Val	95	.	.	B	B	.	.	.	-1.93	*	.	.	-0.60	0.16
Val	96	.	.	B	B	.	.	.	-2.43	.	*	.	-0.60	0.06
Val	97	.	.	B	B	.	.	.	-2.54	.	*	.	-0.60	0.06
Gly	98	.	.	B	B	.	.	.	-2.59	.	*	.	-0.60	0.06
Val	99	.	.	B	B	.	.	.	-2.74	.	.	.	-0.60	0.15
Leu	100	.	.	B	B	.	.	.	-2.74	*	.	.	-0.60	0.15

【００８６】

【表２－３】

表2(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Leu	101	.	.	B	B	.	.	.	-2.10	*	.	.	-0.60	0.11
Gln	102	.	.	B	B	.	.	.	-1.54	*	.	.	-0.60	0.23
Val	103	.	.	B	B	.	.	.	-1.50	.	.	.	-0.60	0.37
Val	104	.	.	B	.	.	T	.	-1.23	.	.	.	-0.20	0.61
Pro	105	.	.	B	.	.	T	.	-1.01	*	.	F	0.25	0.35
Ser	106	A	.	.	.	.	T	.	-0.51	*	.	F	-0.05	0.48
Ser	107	A	.	.	.	.	T	.	-1.40	*	*	F	0.25	0.94
Ala	108	A	.	.	.	.	.	.	-0.50	.	*	F	0.05	0.43
Ala	109	A	.	.	.	.	.	.	-0.46	.	*	.	0.50	0.63
Thr	110	A	.	.	.	.	.	.	-0.28	.	*	.	-0.10	0.39
Ile	111	A	.	.	.	.	.	.	0.02	.	*	.	-0.10	0.53
Lys	112	.	.	B	.	.	.	.	0.32	.	*	.	0.50	0.87
Leu	113	.	.	B	.	.	.	.	0.61	.	*	F	1.05	1.04
His	114	.	.	B	.	.	.	.	0.31	.	*	F	1.30	1.99
Asp	115	.	.	.	.	.	T	C	0.28	*	*	F	1.80	0.70
Gln	116	.	.	.	.	T	T	.	0.86	.	*	F	1.65	0.84
Ser	117	.	.	.	.	T	T	.	0.81	.	.	F	2.50	0.89
Ile	118	.	.	.	.	T	T	.	1.62	.	.	F	2.25	0.92
Gly	119	.	.	.	.	.	.	C	1.37	.	.	F	1.00	0.92
Thr	120	.	.	.	.	.	.	C	1.37	.	.	F	0.45	0.72
Gln	121	.	.	B	.	.	.	C	1.33	.	.	F	0.65	1.79
Gln	122	.	.	B	.	.	.	.	1.33	.	.	F	0.20	2.46
Trp	123	.	.	B	.	.	.	.	2.01	.	.	.	0.05	2.28
Glu	124	.	.	.	.	.	.	C	1.54	.	.	.	0.25	2.04
His	125	.	.	.	.	.	.	C	1.51	.	.	.	0.10	0.97
Ser	126	.	.	.	.	.	T	C	1.51	.	.	F	0.45	0.91
Pro	127	.	.	.	.	T	T	.	0.70	.	.	F	1.55	0.91
Leu	128	.	.	.	.	T	T	.	0.32	.	.	F	0.65	0.55
Gly	129	.	.	.	.	T	T	.	0.11	.	.	F	0.65	0.22
Glu	130	.	.	.	.	T	.	.	-0.07	.	.	F	0.45	0.22
Leu	131	.	.	B	.	.	.	.	-0.11	*	.	.	0.18	0.42
Cys	132	.	.	B	.	.	.	.	-0.20	*	.	F	1.21	0.42
Pro	133	.	.	B	.	.	T	.	0.58	*	*	F	1.69	0.32
Pro	134	.	.	.	.	T	T	.	1.03	.	*	F	1.47	0.53
Gly	135	.	.	.	.	T	T	.	0.73	.	*	F	2.80	1.94
Ser	136	.	.	.	.	.	T	C	1.54	*	.	F	2.32	1.68
His	137	.	.	.	.	.	.	C	2.32	*	.	F	2.48	1.88
Arg	138	.	.	B	.	.	.	.	2.32	*	.	F	2.34	3.72
Ser	139	.	.	B	.	.	.	.	2.19	*	.	F	2.40	4.29
Glu	140	.	.	.	.	T	.	.	1.94	*	.	F	2.86	3.12
Arg	141	.	.	.	.	T	T	.	1.58	*	.	F	3.40	1.61
Pro	142	.	.	.	.	T	T	.	1.61	.	*	F	2.91	0.64
Gly	143	.	.	.	.	T	T	.	1.61	.	*	F	2.57	0.60
Ala	144	.	.	.	.	T	T	.	1.24	.	*	.	2.08	0.60
Cys	145	.	.	.	.	T	.	.	0.93	.	*	.	1.41	0.21
Asn	146	.	.	B	.	.	.	.	0.82	.	*	.	0.84	0.30
Arg	147	.	.	B	.	.	.	.	0.69	*	.	.	1.01	0.52
Cys	148	.	.	B	.	.	T	.	0.18	*	.	F	1.83	0.96
Thr	149	.	.	B	.	.	T	.	0.42	*	.	F	1.70	0.44
Glu	150	.	.	B	.	.	T	.	0.84	*	.	F	1.53	0.22

【００８７】

【表２－４】

表2(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Gly	151	.	.	B	.	.	T	.	0.53	*	.	F	0.76	0.65
Val	152	.	.	B	B	.	.	.	0.42	.	*	F	0.19	0.65
Gly	153	.	.	B	B	.	.	.	0.50	.	.	.	-0.13	0.61
Tyr	154	.	.	B	B	.	.	.	0.51	.	.	.	-0.60	0.62
Thr	155	.	.	B	B	.	.	.	0.51	.	.	F	-0.30	1.12
Asn	156	.	.	.	B	.	.	C	0.86	.	.	F	0.20	1.81
Ala	157	.	.	.	.	T	T	.	0.90	.	.	F	0.80	1.86
Ser	158	.	.	.	.	T	T	.	0.54	.	.	F	0.80	1.06
Asn	159	.	.	.	.	T	T	.	0.20	.	.	F	0.35	0.57
Asn	160	.	.	.	.	T	T	.	-0.16	*	.	F	0.35	0.57
Leu	161	.	A	B	.	.	.	.	-0.97	*	.	.	-0.60	0.23
Phe	162	.	A	B	.	.	.	.	-0.59	.	.	.	-0.60	0.12
Ala	163	.	A	B	.	.	.	.	-0.96	.	.	.	-0.60	0.11
Cys	164	.	A	B	.	.	.	.	-1.27	*	.	.	-0.60	0.07
Leu	165	.	.	B	.	.	T	.	-1.86	.	.	.	-0.20	0.12
Pro	166	.	.	B	.	.	T	.	-1.71	*	.	.	-0.20	0.12
Cys	167	.	.	.	.	T	T	.	-0.97	*	.	.	0.20	0.12
Thr	168	A	.	.	.	.	T	.	-0.68	.	.	.	0.10	0.30
Ala	169	A	.	.	.	.	.	.	-0.01	.	.	.	0.50	0.26
Cys	170	A	.	.	.	.	T	.	0.80	.	.	.	0.70	0.80
Lys	171	A	.	.	.	.	T	.	1.01	.	.	F	1.15	0.96
Ser	172	A	.	.	.	.	T	.	1.68	.	*	F	1.30	1.65
Asp	173	A	.	.	.	.	T	.	2.10	.	*	F	1.30	5.33
Glu	174	A	A	.	.	.	.	.	2.39	.	*	F	0.90	5.22
Glu	175	A	A	.	.	.	.	.	2.84	.	*	F	1.24	5.22
Glu	176	A	A	.	.	.	.	.	2.13	.	*	F	1.58	4.83
Arg	177	.	A	.	.	T	.	.	2.12	.	.	F	2.32	1.50
Ser	178	.	.	.	.	.	T	C	1.81	.	.	F	2.86	1.25
Pro	179	.	.	.	.	T	T	.	1.50	*	.	F	3.40	1.04
Cys	180	.	.	.	.	T	T	.	1.61	*	.	F	2.61	0.77
Thr	181	.	.	.	.	T	T	.	1.61	*	.	F	2.67	1.12
Thr	182	.	.	.	.	T	.	.	1.19	*	*	F	2.38	1.16
Thr	183	.	.	.	.	T	T	.	0.90	.	.	F	2.49	3.13
Arg	184	.	.	.	.	T	T	.	0.44	.	.	F	2.40	2.19
Asn	185	.	.	.	.	T	T	.	1.11	.	.	F	2.50	0.81
Thr	186	.	.	.	.	T	T	.	0.76	*	.	F	2.25	0.98
Ala	187	.	.	.	.	T	.	.	1.11	*	.	.	1.65	0.27
Cys	188	.	.	.	.	T	.	.	1.21	*	.	.	1.40	0.33
Gln	189	.	.	B	.	.	.	.	0.76	*	.	.	0.75	0.36
Cys	190	.	.	B	.	.	.	.	0.44	.	.	.	0.50	0.35
Lys	191	.	.	B	.	.	T	.	0.06	.	*	F	0.85	0.94
Pro	192	.	.	.	.	T	T	.	0.76	.	.	F	0.65	0.47
Gly	193	.	.	.	.	T	T	.	1.42	.	*	F	1.74	1.72
Thr	194	.	.	B	.	.	T	.	1.42	.	*	F	1.68	1.38
Phe	195	.	.	B	.	.	.	.	2.09	.	*	F	1.82	1.49
Arg	196	.	.	.	.	T	.	.	1.74	.	*	F	2.56	2.42
Asn	197	.	.	.	.	T	T	.	1.37	.	*	F	3.40	2.25
Asp	198	.	.	.	.	T	T	.	1.71	.	*	F	3.06	2.63
Asn	199	.	.	.	.	.	T	C	1.42	.	*	F	2.52	2.32
Ser	200	A	.	.	.	.	T	.	1.46	.	*	F	1.98	1.43

【００８８】

【表２－５】

表2(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Ala	201	A	.	.	.	.	.	.	1.46	.	*	.	1.14	0.46
Glu	202	A	.	.	.	.	.	.	1.50	*	.	.	0.80	0.56
Met	203	A	.	.	.	.	.	.	0.83	*	.	.	1.11	0.83
Cys	204	A	.	.	.	.	T	.	0.53	*	.	.	1.62	0.44
Arg	205	.	.	.	.	T	T	.	0.52	*	.	.	2.33	0.34
Lys	206	.	.	.	.	T	T	.	0.77	*	.	F	2.49	0.50
Cys	207	.	.	.	.	T	T	.	0.10	*	.	F	3.10	0.92
Ser	208	.	.	.	.	T	.	.	0.49	*	*	F	2.59	0.25
Thr	209	.	.	.	.	T	.	.	1.27	*	*	F	1.98	0.19
Gly	210	.	.	.	.	T	.	.	0.81	*	.	F	1.67	0.71
Cys	211	.	.	B	.	.	T	.	0.17	*	*	F	1.16	0.53
Pro	212	.	.	.	.	T	T	.	-0.02	*	*	F	1.25	0.36
Arg	213	.	.	.	.	T	T	.	0.32	*	*	F	0.65	0.27
Gly	214	.	.	B	.	.	T	.	-0.22	*	*	.	0.85	1.01
Met	215	.	.	B	B	.	.	.	0.17	*	*	.	0.30	0.48
Val	216	.	.	B	B	.	.	.	0.83	*	*	.	0.79	0.49
Lys	217	.	.	B	B	.	.	.	0.38	*	*	.	0.98	0.83
Val	218	.	.	B	B	.	.	.	-0.04	*	*	F	1.32	0.45
Lys	219	.	.	B	B	.	.	.	0.09	.	*	F	1.51	0.88
Asp	220	.	.	B	.	.	.	.	0.40	.	*	F	1.90	0.68
Cys	221	.	.	B	.	.	.	.	0.96	.	*	F	0.81	0.96
Thr	222	.	.	.	.	.	T	C	0.91	.	*	F	1.62	0.65
Pro	223	.	.	.	.	T	T	.	0.88	.	*	F	1.63	0.65
Trp	224	.	.	.	.	T	T	.	0.83	.	*	F	0.54	0.84
Ser	225	A	.	.	.	.	T	.	0.17	.	.	F	1.00	1.01
Asp	226	A	A	.	.	.	.	.	-0.02	.	.	F	0.45	0.35
Ile	227	A	A	.	.	.	.	.	0.26	*	.	.	-0.30	0.25
Glu	228	A	A	.	.	.	.	.	0.51	*	.	.	0.30	0.25
Cys	229	.	A	B	.	.	.	.	0.80	*	.	.	0.60	0.30
Val	230	A	A	.	.	.	.	.	0.80	*	*	.	0.60	0.74
His	231	A	A	.	.	.	.	.	0.46	*	*	.	0.60	0.58
Lys	232	A	A	.	.	.	.	.	1.34	*	.	F	0.60	1.06
Glu	233	.	A	.	.	T	.	.	1.00	*	.	F	1.30	2.30
Ser	234	.	.	.	.	T	T	.	1.63	*	.	F	1.70	1.68
Gly	235	.	.	.	.	T	T	.	2.49	*	.	F	1.70	1.14
Asn	236	.	.	.	.	T	T	.	1.63	*	.	F	1.40	1.06
Gly	237	.	.	.	.	.	T	C	1.30	*	.	F	0.45	0.55
His	238	.	.	.	B	.	.	C	0.44	.	.	.	-0.40	0.59
Asn	239	.	.	.	B	.	.	C	-0.14	.	.	.	-0.40	0.27
Ile	240	.	.	B	B	.	.	.	-0.61	.	.	.	-0.60	0.19
Trp	241	.	.	B	B	.	.	.	-1.47	.	.	.	-0.60	0.12
Val	242	.	.	B	B	.	.	.	-1.98	.	.	.	-0.60	0.05
Ile	243	.	.	B	B	.	.	.	-2.26	.	.	.	-0.60	0.06
Leu	244	.	.	B	B	.	.	.	-3.07	.	.	.	-0.60	0.08
Val	245	.	.	B	B	.	.	.	-3.03	.	.	.	-0.60	0.09
Val	246	.	.	B	B	.	.	.	-3.60	.	.	.	-0.60	0.09
Thr	247	.	.	B	B	.	.	.	-2.96	.	.	.	-0.60	0.08
Leu	248	.	.	B	B	.	.	.	-2.88	.	.	.	-0.60	0.17
Val	249	.	.	B	B	.	.	.	-2.88	.	*	.	-0.60	0.19
Val	250	.	.	B	B	.	.	.	-2.83	.	.	.	-0.60	0.11

【００８９】

【表２－６】

表2(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Pro	251	.	.	B	B	.	.	.	-2.83	.	.	.	-0.60	0.11
Leu	252	.	.	B	B	.	.	.	-3.11	.	.	.	-0.60	0.11
Leu	253	A	.	.	B	.	.	.	-3.16	.	.	.	-0.60	0.15
Leu	254	A	.	.	B	.	.	.	-3.11	.	.	.	-0.60	0.07
Val	255	A	.	.	B	.	.	.	-3.14	.	.	.	-0.60	0.07
Ala	256	A	.	.	B	.	.	.	-3.79	.	.	.	-0.60	0.06
Val	257	.	.	B	B	.	.	.	-3.64	.	.	.	-0.60	0.05
Leu	258	.	.	B	B	.	.	.	-3.50	.	.	.	-0.60	0.04
Ile	259	.	.	B	B	.	.	.	-3.36	.	.	.	-0.60	0.02
Val	260	.	.	B	B	.	.	.	-3.39	.	.	.	-0.60	0.02
Cys	261	.	.	B	B	.	.	.	-3.14	.	.	.	-0.60	0.01
Cys	262	.	.	B	B	.	.	.	-2.59	.	.	.	-0.60	0.02
Cys	263	.	.	B	B	.	.	.	-2.12	.	.	.	-0.60	0.03
Ile	264	.	.	B	B	.	.	.	-1.90	.	.	.	-0.60	0.06
Gly	265	.	.	.	.	T	T	.	-1.39	.	.	F	0.35	0.06
Ser	266	.	.	.	.	T	T	.	-1.07	.	.	F	0.35	0.11
Gly	267	.	.	.	.	T	T	.	-0.40	.	.	F	0.65	0.16
Cys	268	.	.	.	.	T	T	.	0.06	.	.	F	1.25	0.27
Gly	269	.	.	.	.	T	.	.	0.99	.	*	F	1.39	0.31
Gly	270	.	.	.	.	T	.	.	0.67	.	.	F	2.03	0.62
Asp	271	.	.	.	.	.	T	C	0.37	.	.	F	2.37	0.62
Pro	272	.	.	.	.	T	T	.	0.71	*	*	F	2.91	0.62
Lys	273	.	.	.	.	T	T	.	1.49	*	*	F	3.40	1.05
Cys	274	.	.	B	.	.	T	.	0.98	*	*	.	2.51	1.23
Met	275	.	.	B	B	.	.	.	0.66	*	*	.	1.62	0.59
Asp	276	.	.	B	B	.	.	.	-0.04	*	*	.	1.28	0.16
Arg	277	.	.	B	B	.	.	.	-0.12	.	*	.	0.04	0.26
Val	278	.	.	B	B	.	.	.	-0.06	.	*	.	-0.60	0.27
Cys	279	.	.	B	B	.	.	.	-0.20	.	.	.	0.30	0.32
Phe	280	.	.	B	B	.	.	.	0.06	.	*	.	-0.60	0.13
Trp	281	.	.	B	B	.	.	.	-0.76	.	.	.	-0.60	0.18
Arg	282	.	.	B	B	.	.	.	-1.68	.	.	.	-0.60	0.28
Leu	283	.	.	B	B	.	.	.	-0.71	.	.	.	-0.60	0.26
Gly	284	.	.	.	B	T	.	.	-0.39	.	*	.	-0.20	0.49
Leu	285	.	.	.	B	.	.	C	0.10	.	*	.	0.50	0.25
Leu	286	.	.	.	B	.	.	C	0.04	.	*	.	0.20	0.46
Arg	287	.	.	.	B	.	.	C	-0.66	.	.	F	0.65	0.46
Gly	288	.	.	.	.	.	T	C	0.16	.	.	F	1.35	0.57
Pro	289	.	.	.	.	.	T	C	0.50	.	*	F	2.70	1.19
Gly	290	.	.	.	.	.	T	C	1.31	*	*	F	3.00	1.01
Ala	291	A	.	.	.	.	T	.	1.53	.	*	F	2.50	1.65
Glu	292	A	.	.	.	.	.	.	1.39	.	.	F	2.00	1.08
Asp	293	A	.	.	.	.	.	.	1.73	.	.	F	1.70	1.48
Asn	294	A	.	.	.	.	T	.	1.94	.	*	.	1.45	2.36
Ala	295	A	.	.	.	.	T	.	1.40	.	.	.	1.15	2.36
His	296	A	.	.	.	.	T	.	1.18	*	.	.	1.00	0.99
Asn	297	A	.	.	.	.	T	.	0.88	.	.	.	0.10	0.51
Glu	298	A	.	.	.	.	.	.	0.88	*	.	.	-0.10	0.67
Ile	299	A	.	.	.	.	.	.	0.29	*	*	.	-0.10	0.80
Leu	300	A	.	.	.	.	.	.	0.88	*	*	.	-0.10	0.50

【００９０】

【表２－７】

表2(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Ser	301	A	.	.	.	.	.	.	0.61	*	.	F	0.65	0.48
Asn	302	A	.	.	.	.	T	.	-0.20	*	.	F	0.25	0.92
Ala	303	A	.	.	.	.	T	.	-0.50	*	.	F	0.25	0.92
Asp	304	A	.	.	.	.	T	.	0.08	*	.	F	0.85	0.92
Ser	305	.	.	.	.	.	T	C	0.19	*	.	F	1.05	0.83
Leu	306	.	.	.	B	.	.	C	-0.37	*	.	F	0.05	0.71
Ser	307	.	.	B	B	.	.	.	-0.67	*	.	F	-0.15	0.31
Thr	308	.	.	B	B	.	.	.	-0.08	*	.	.	-0.60	0.31
Phe	309	.	.	B	B	.	.	.	-0.08	*	.	.	-0.30	0.66
Val	310	A	.	.	B	.	.	.	0.22	.	.	F	-0.15	0.85
Ser	311	A	A	.	.	.	.	.	0.43	.	.	F	0.00	1.03
Glu	312	A	A	.	.	.	.	.	0.73	.	.	F	0.00	1.17
Gln	313	A	A	.	.	.	.	.	0.74	.	.	F	0.90	2.73
Gln	314	A	A	.	.	.	.	.	1.44	.	.	F	0.90	2.73
Met	315	A	A	.	.	.	.	.	2.30	.	.	F	0.90	2.73
Glu	316	A	A	.	.	.	.	.	2.39	.	.	F	0.90	2.73
Ser	317	A	A	.	.	.	.	.	1.80	.	*	F	0.90	2.44
Gln	318	A	A	.	.	.	.	.	1.80	.	*	F	0.90	2.49
Glu	319	A	A	.	.	.	.	.	0.99	.	*	F	0.90	2.40
Pro	320	A	A	.	.	.	.	.	1.28	.	*	F	0.90	1.48
Ala	321	A	A	.	.	.	.	.	0.93	.	.	F	0.60	1.23
Asp	322	A	A	.	B	.	.	.	0.38	.	.	F	0.45	0.70
Leu	323	A	A	.	B	.	.	.	0.07	.	.	F	-0.15	0.34
Thr	324	.	A	B	B	.	.	.	-0.79	.	.	F	-0.15	0.48
Gly	325	.	A	B	B	.	.	.	-0.58	.	.	.	-0.30	0.21
Val	326	.	.	B	B	.	.	.	-0.29	.	.	.	-0.60	0.45
Thr	327	.	.	B	B	.	.	.	-0.50	.	.	.	-0.60	0.42
Val	328	.	.	B	B	.	.	.	-0.03	.	*	F	-0.17	0.65
Gln	329	.	.	B	B	.	.	.	0.28	.	*	F	0.11	0.87
Ser	330	.	.	.	.	.	T	C	0.03	.	*	F	2.04	1.05
Pro	331	.	.	.	.	.	T	C	0.89	.	*	F	2.32	1.42
Gly	332	.	.	.	.	T	T	.	0.53	.	*	F	2.80	1.42
Glu	333	A	.	.	.	.	T	.	0.58	.	*	F	1.97	0.57
Ala	334	.	.	B	.	.	.	.	-0.23	.	*	.	0.74	0.30
Gln	335	.	.	B	.	.	.	.	-0.28	.	.	.	0.46	0.25
Cys	336	.	.	B	.	.	.	.	-0.28	.	.	.	0.18	0.14
Leu	337	.	.	B	.	.	.	.	-0.52	.	*	.	-0.40	0.22
Leu	338	.	.	B	.	.	.	.	-0.52	.	*	.	-0.40	0.13
Gly	339	.	A	.	.	.	.	C	-0.52	.	*	F	0.05	0.42
Pro	340	A	A	.	.	.	.	.	-0.52	.	*	F	-0.15	0.51
Ala	341	A	A	.	.	.	.	.	-0.20	.	*	F	0.60	1.07
Glu	342	A	A	.	.	.	.	.	0.31	.	*	F	0.90	1.07
Ala	343	A	A	.	.	.	.	.	1.12	*	*	F	0.75	0.93
Glu	344	A	A	.	.	.	.	.	1.58	.	*	F	0.90	1.60
Gly	345	A	A	.	.	.	.	.	1.90	.	*	F	0.90	1.80
Ser	346	A	.	.	.	.	T	.	2.60	.	*	F	1.30	3.50
Gln	347	A	.	.	.	.	T	.	1.79	.	*	F	1.30	3.96
Arg	348	A	.	.	.	.	T	.	1.57	.	*	F	1.30	3.30
Arg	349	.	.	B	.	.	T	.	0.71	.	*	F	1.30	2.03
Arg	350	.	.	B	B	.	.	.	0.84	.	*	F	0.75	0.87

【００９１】

【表２－８】

表2(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Leu	351	.	.	B	B	.	.	.	0.56	.	*	.	0.60	0.69
Leu	352	.	.	B	B	.	.	.	0.56	.	*	.	0.30	0.35
Val	353	.	.	B	B	.	.	.	0.10	*	*	.	-0.30	0.29
Pro	354	.	.	B	.	.	T	.	-0.60	*	.	.	-0.20	0.35
Ala	355	.	.	.	.	T	T	.	-0.71	.	*	.	0.50	0.43
Asn	356	.	.	.	.	.	T	C	-0.11	.	.	F	1.65	0.96
Gly	357	.	.	.	.	.	T	C	0.39	.	.	F	1.95	0.96
Ala	358	.	.	.	.	.	.	C	1.24	.	.	F	2.20	1.37
Asp	359	.	.	.	.	.	T	C	1.14	.	.	F	3.00	1.48
Pro	360	A	.	.	.	.	T	.	0.92	*	.	F	2.50	2.16
Thr	361	A	.	.	.	.	T	.	0.32	.	.	F	1.90	1.76
Glu	362	A	.	.	.	.	T	.	-0.14	.	.	F	1.60	1.04
Thr	363	A	.	.	B	.	.	.	-0.26	.	.	F	0.15	0.56
Leu	364	A	.	.	B	.	.	.	-0.96	*	.	.	-0.60	0.33
Met	365	A	.	.	B	.	.	.	-0.74	*	.	.	-0.60	0.17
Leu	366	A	.	.	B	.	.	.	-0.39	*	.	.	-0.60	0.19
Phe	367	A	.	.	B	.	.	.	-1.09	*	.	.	-0.60	0.47
Phe	368	A	.	.	B	.	.	.	-1.37	*	.	.	-0.60	0.41
Asp	369	A	.	.	B	.	.	.	-0.56	*	.	.	-0.60	0.50
Lys	370	A	A	.	.	.	.	.	-0.84	*	.	.	-0.30	0.93
Phe	371	A	A	.	B	.	.	.	-0.89	*	.	.	-0.30	0.75
Ala	372	A	A	.	B	.	.	.	-0.40	*	.	.	-0.30	0.34
Asn	373	.	A	B	B	.	.	.	-0.40	*	.	.	-0.60	0.26
Ile	374	.	A	B	B	.	.	.	-0.40	*	.	.	-0.60	0.26
Val	375	.	A	B	B	.	.	.	-0.74	.	.	.	-0.60	0.43
Pro	376	.	A	.	B	.	.	C	-0.33	.	.	.	-0.10	0.36
Phe	377	.	.	.	.	T	T	.	0.26	.	.	.	0.20	0.54
Asp	378	.	.	.	.	T	T	.	0.26	.	.	F	0.80	1.21
Ser	379	.	.	.	.	T	T	.	0.33	.	.	F	1.40	1.35
Trp	380	A	.	.	.	.	T	.	0.59	*	*	F	0.40	1.29
Asp	381	A	A	.	.	.	.	.	0.91	*	.	F	-0.15	0.76
Gln	382	A	A	.	.	.	.	.	1.61	*	.	.	-0.15	1.11
Leu	383	A	A	.	.	.	.	.	0.80	*	.	.	-0.15	1.84
Met	384	A	A	.	.	.	.	.	1.10	*	.	.	0.30	0.91
Arg	385	A	A	.	.	.	.	.	0.58	*	.	.	0.30	0.87
Gln	386	A	A	.	.	.	.	.	0.27	*	.	.	-0.30	0.87
Leu	387	A	A	.	.	.	.	.	0.31	*	.	.	0.45	1.27
Asp	388	A	A	.	.	.	.	.	1.12	*	.	.	0.75	1.30
Leu	389	A	A	.	.	.	.	.	1.72	*	.	F	0.60	1.21
Thr	390	A	.	.	.	.	T	.	0.72	*	.	F	1.30	2.54
Lys	391	A	.	.	.	.	T	.	0.72	.	*	F	1.30	1.07
Asn	392	A	.	.	.	.	T	.	0.68	*	*	F	1.30	2.16
Glu	393	A	.	.	.	.	T	.	-0.18	*	.	F	1.30	1.11
Ile	394	.	.	B	B	.	.	.	0.74	*	.	F	0.75	0.41
Asp	395	.	.	B	B	.	.	.	0.47	*	*	.	0.60	0.50
Val	396	.	.	B	B	.	.	.	0.08	*	*	.	0.60	0.29
Val	397	.	.	B	B	.	.	.	-0.23	.	.	.	0.51	0.41
Arg	398	.	.	B	.	.	T	.	-0.82	*	.	.	1.12	0.36
Ala	399	.	.	B	.	.	T	.	-0.28	*	.	.	0.73	0.49
Gly	400	.	.	.	.	T	T	.	-0.49	*	.	F	2.09	0.65

【００９２】

【表２－９】

表2(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Thr	401	.	.	.	.	.	T	C	0.02	*	*	F	2.10	0.51
Ala	402	.	.	.	.	.	.	C	0.88	*	*	F	1.09	0.50
Gly	403	.	.	.	.	.	T	C	0.18	*	*	F	1.68	0.85
Pro	404	.	.	.	.	.	T	C	-0.04	.	.	F	1.47	0.59
Gly	405	.	.	.	.	.	T	C	0.06	.	.	F	1.26	0.48
Asp	406	A	.	.	.	.	T	.	-0.22	.	.	F	0.25	0.76
Ala	407	A	A	.	.	.	.	.	-0.23	.	.	.	-0.30	0.50
Leu	408	A	A	.	.	.	.	.	-0.70	.	.	.	-0.60	0.50
Tyr	409	A	A	.	.	.	.	.	-1.09	*	.	.	-0.60	0.25
Ala	410	A	A	.	.	.	.	.	-0.70	*	.	.	-0.60	0.24
Met	411	A	A	.	.	.	.	.	-0.99	*	.	.	-0.60	0.59
Leu	412	A	A	.	.	.	.	.	-1.26	*	.	.	-0.60	0.39
Met	413	A	A	.	.	.	.	.	-0.44	*	.	.	-0.60	0.29
Lys	414	A	A	.	B	.	.	.	-0.16	*	.	.	-0.60	0.47
Trp	415	A	A	.	B	.	.	.	0.12	*	.	.	0.15	1.14
Val	416	A	A	.	B	.	.	.	0.38	*	*	.	0.45	1.66
Asn	417	A	.	.	.	.	T	.	1.30	*	.	F	1.75	0.82
Lys	418	A	.	.	.	.	T	.	1.90	*	.	F	2.20	1.53
Thr	419	.	.	.	.	.	T	C	1.27	*	.	F	3.00	3.32
Gly	420	.	.	.	.	.	T	C	1.26	*	.	F	2.70	2.08
Arg	421	.	.	.	.	T	.	.	1.22	*	.	F	2.40	1.40
Asn	422	.	.	.	.	.	T	C	1.19	*	.	F	1.65	0.68
Ala	423	.	.	B	.	.	T	.	0.83	.	.	.	1.00	0.93
Ser	424	.	.	B	.	.	T	.	0.33	.	.	.	0.70	0.69
Ile	425	.	.	B	.	.	T	.	-0.13	.	*	.	-0.20	0.35
His	426	.	A	B	.	.	.	.	-0.24	.	*	.	-0.60	0.29
Thr	427	.	A	B	.	.	.	.	-0.83	*	*	.	-0.60	0.36
Leu	428	A	A	.	.	.	.	.	-1.06	*	*	.	-0.60	0.52
Leu	429	A	A	.	.	.	.	.	-0.76	*	*	.	-0.60	0.31
Asp	430	A	A	.	.	.	.	.	0.24	*	*	.	-0.30	0.38
Ala	431	A	A	.	.	.	.	.	-0.32	*	*	.	0.30	0.89
Leu	432	A	A	.	.	.	.	.	-0.01	*	*	.	0.75	1.07
Glu	433	A	A	.	.	.	.	.	0.80	*	*	.	0.75	1.11
Arg	434	A	A	.	.	.	.	.	1.72	*	*	F	0.90	1.90
Met	435	A	A	.	.	.	.	.	1.69	*	*	F	0.90	4.52
Glu	436	A	A	.	.	.	.	.	1.69	*	*	F	0.90	3.55
Glu	437	A	A	.	.	.	.	.	2.54	*	.	F	0.90	1.83
Arg	438	A	A	.	.	.	.	.	2.54	*	*	F	0.90	3.70
His	439	A	A	.	.	.	.	.	2.48	*	*	F	0.90	3.70
Ala	440	A	A	.	.	.	.	.	2.19	*	*	F	0.90	4.28
Lys	441	A	A	.	.	.	.	.	2.19	*	*	F	0.90	1.53
Glu	442	A	A	.	.	.	.	.	2.19	*	.	F	0.90	1.95
Lys	443	A	A	.	.	.	.	.	1.27	*	*	F	0.90	3.22
Ile	444	A	A	.	.	.	.	.	0.49	*	*	F	0.90	1.33
Gln	445	A	A	.	.	.	.	.	0.22	*	*	F	0.75	0.63
Asp	446	A	A	.	.	.	.	.	0.18	*	*	F	-0.15	0.23
Leu	447	A	A	.	.	.	.	.	-0.12	*	.	.	-0.30	0.56
Leu	448	A	A	.	.	.	.	.	-0.51	*	.	.	0.55	0.43
Val	449	A	A	.	.	.	.	.	0.42	*	.	F	0.95	0.26
Asp	450	A	.	.	.	.	T	.	-0.28	*	.	F	1.60	0.62

【００９３】

【表２－１０】

表2(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Ser	451	.	.	.	.	T	T	.	-1.17	*	.	F	2.25	0.65
Gly	452	.	.	.	.	T	T	.	-0.60	*	.	F	2.50	0.62
Lys	453	.	.	B	.	.	T	.	-0.60	.	.	F	1.25	0.58
Phe	454	.	A	B	.	.	.	.	0.26	.	.	.	0.15	0.36
Ile	455	.	A	B	.	.	.	.	0.26	.	.	.	0.20	0.62
Tyr	456	.	A	B	.	.	.	.	0.21	.	.	.	0.55	0.52
Leu	457	.	A	B	.	.	.	.	0.24	.	.	.	-0.03	0.59
Glu	458	.	A	B	.	.	.	.	-0.14	.	.	F	0.54	1.22
Asp	459	.	A	.	.	T	.	.	0.26	.	.	F	1.66	0.77
Gly	460	.	.	.	.	T	T	.	0.56	.	.	F	2.78	1.26
Thr	461	.	.	.	.	.	T	C	-0.06	*	.	F	2.70	0.73
Gly	462	.	.	.	.	.	T	C	0.46	*	.	F	2.13	0.33
Ser	463	.	.	.	.	.	T	C	-0.36	.	.	F	1.26	0.44
Ala	464	A	.	.	.	.	.	.	-0.36	.	.	.	0.14	0.25
Val	465	.	.	B	.	.	.	.	-0.40	.	.	.	0.17	0.44
Ser	466	.	.	B	.	.	.	.	-0.48	.	.	.	-0.10	0.42
Leu	467	.	.	B	.	.	.	.	-0.52	.	.	.	-0.10	0.53
Glu	468	A	.	.	.	.	.	.	-0.61	.	.	.	0.50	0.92

【００９４】

別の局面において、本発明は、本明細書中に記載されるポリペプチドのエピトープ保有部分を含むペプチドまたはポリペプチドを結合する抗体を提供する。このポリペプチド部分のエピトープは、本発明のポリペプチドの免疫原性エピトープまたは抗原性エピトープである。「免疫原性エピトープ」は、タンパク質全体が免疫原である場合、抗体応答を誘発するタンパク質の部分として規定される。一方、抗体が結合し得るタンパク質分子の領域は、「抗原性エピトープ」として規定される。タンパク質の免疫原性エピトープの数は、一般的に、抗原性エピトープの数より少ない。例えば、Ｇｅｙｓｅｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８１：３９９８－４００２（１９８３）を参照のこと。

【００９５】

抗原性エピトープを保有する（すなわち、抗原が結合し得るタンパク質分子の領域を含む）ペプチドまたはポリペプチドの選択に関して、タンパク質配列の一部を模倣する比較的短い合成ペプチドは、通常、部分的に模倣されたタンパク質と反応する抗血清を誘発し得ることが、当該分野において周知である。例えば、Ｓｕｔｃｌｉｆｆｅ，Ｊ．Ｇ．、Ｓｈｉｎｎｉｃｋ，Ｔ．Ｍ．、Ｇｒｅｅｎ，Ｎ．およびＬｅａｒｎｅｒ，Ｒ．Ａ．（１９８３）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｔｈａｔ ｒｅａｃｔ ｗｉｔｈ ｐｒｅｄｅｔｅｒｍｉｎｅｄ ｓｉｔｅｓ ｏｎ ｐｒｏｔｅｉｎｓ．Ｓｃｉｅｎｃｅ ２１９：６６０－６６６を参照のこと。タンパク質反応性血清を誘発し得るペプチドは、タンパク質の１次配列中に頻繁に現れ、一組の単純な化学法則により特徴付けられ得、そしてインタクトなタンパク質の免疫的に優性な領域（すなわち、免疫原性エピトープ）にも、アミノ末端にもカルボキシル末端にも制限されない。

【００９６】

従って、抗原性エピトープを保有するペプチドおよびポリペプチドは、本発明のＴＲ４ポリペプチドに結合する抗体（モノクローナル抗体を含む）を惹起するのに有用である。例えば、Ｗｉｌｓｏｎら、Ｃｅｌｌ ３７：７６７－７７８（１９８４）の７７７を参照のこと。抗原性エピトープを保有するペプチドおよびポリペプチドは、好ましくは、配列番号１のアミノ酸配列に含まれる、好ましくは少なくとも７、より好ましくは少なくとも９、そして最も好ましくは少なくとも約１５～約３０のアミノ酸を含む。

【００９７】

本発明の抗体は、配列番号１のおおよそアミノ酸残基３５～おおよそアミノ酸残基９２を含むポリペプチド；配列番号１のおおよそアミノ酸残基１１４～おおよそアミノ酸残基１６０のアミノ酸残基を含むポリペプチド；配列番号１のおおよそアミノ酸残基１６９～

おおよそアミノ酸残基２４０のアミノ酸残基を含むポリペプチド；配列番号１のおおよそアミノ酸残基２６７～おおよそアミノ酸残基２９８のアミノ酸残基を含むポリペプチド；配列番号１のおおよそアミノ酸残基３３０～おおよそアミノ酸残基３６４のアミノ酸残基を含むポリペプチド；配列番号１のおおよそアミノ酸残基３９１～おおよそアミノ酸残基４０４を含むポリペプチド；および／または配列番号１のおおよそアミノ酸残基４１８～おおよそアミノ酸残基４６５を含むポリペプチドが挙げられるが、これらに限定されない１以上の抗原性ＴＲ４ポリペプチドまたは抗原性ＴＲ４ペプチドを結合し得る。この文脈において、「おおよそ」とは、詳細には、いずれかの端または両方の端で、いくつかの（５、４、３、２、または１）アミノ酸だけ多いかまたは少ない、再び引用される範囲を含む。上記のように、本発明者らは、上記のポリペプチドフラグメントが、ＴＲ４タンパク質の抗原性領域であることを決定した。エピトープを保有するＴＲ４ペプチドおよびＴＲ４ポリペプチドは、任意の従来の手段で作製され得る。Ｈｏｕｇｈｔｅｎ，Ｒ．Ａ．，「Ｇｅｎｅｒａｌ ｍｅｔｈｏｄ ｆｏｒ ｔｈｅ ｒａｐｉｄ ｓｏｌｉｄ－ｐｈａｓｅ ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ ｌａｒｇｅ ｎｕｍｂｅｒｓ ｏｆ ｐｅｐｔｉｄｅｓ：ｓｐｅｃｉｆｉｃｉｔｙ ｏｆ ａｎｔｉｇｅｎ－ａｎｔｉｂｏｄｙ ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎ ａｔ ｔｈｅ ｌｅｖｅｌ ｏｆ ｉｎｄｉｖｉｄｕａｌ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄｓ」 Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：５１３１－５１３５（１９８５）。この「同時多重ペプチド合成（Ｓｉｍｕｌｔａｎｅｏｕｓ Ｍｕｌｔｉｐｌｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）（ＳＭＰＳ）」工程は、Ｈｏｕｇｈｔｅｎらに対する米国特許第４，６３１，２１１号（１９８６）にさらに記載される。

【００９８】

当業者は、本明細書中に記載されるＴＲ４ポリペプチドおよびそのエピトープを保有するフラグメント（例えば、配列番号１のアミノ酸残基１～アミノ酸残基２４０のような細胞外ドメインの一部に対応する）は、免疫グロブリン（ＩｇＧ）の定常ドメインの一部と結合されて、キメラポリペプチドを生じ得る。これらの融合タンパク質は、精製を容易にし、そしてインビボでの増大された半減期を示す。このことは、例えば、第一のヒトＣＤ４ポリペプチドの２つのドメインおよび哺乳動物イムノグロブリンの重鎖または軽鎖の定常領域からなるキメラタンパク質について示されている（ＥＰＡ ３９４，８２７；Ｔｒａｕｎｅｃｋｅｒら、Ｎａｔｕｒｅ ３３１：８４－８６（１９８８））。ＩｇＧ部分に起因して、ジスルフィド結合した二量体構造を有する融合タンパク質はまた、他の分子の結合および中和において単量体ＴＲ４タンパク質またはＴＲ４タンパク質フラグメント単独より効率的であり得る（Ｆｏｕｎｔｏｕｌａｋｉｓら、Ｊ Ｂｉｏｃｈｅｍ ２７０：３９５８－３９６４（１９９５））。従って、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチドの全てまたは一部（例えば、ＴＲ４）を含む融合タンパク質を結合し得る。

【００９９】

当業者に公知の組み換えＤＮＡ技術は、単数または複数のアミノ酸置換、欠失、付加または融合タンパク質を含む新規の変異体タンパク質または「変異体」を作製するために使用され得る。そのような改変されたポリペプチドは、例えば、増大した活性または増大した安定性を示し得る。さらに、これらは、より高い収率で精製され得、かつ少なくとも特定の精製条件および貯蔵条件で天然のポリペプチドより良好な溶解性を示す。本発明の抗体はまた、そのような改変されたＴＲ４ポリペプチドまたはＴＲ４ポリペプチドフラグメントもしくはＴＲ４ポリペプチド改変体を結合し得る。

【０１００】

例えば、膜結合タンパク質の細胞外ドメインまたは分泌タンパク質の成熟形態を含む多くのタンパク質について、１つ以上のアミノ酸が、生物学的機能を実質的に損失することも、特定の抗体により結合される能力を損失することもなくＮ末端またはＣ末端から欠失され得る。例えば、Ｒｏｎら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６８：２９８４－２９８８（１９９３）は、３、８、または２７のアミノ末端アミノ酸残基を欠失している場合でさえもヘパリン結合活性を有する改変されたＫＧＦタンパク質を報告した。本発明の場合、ＴＲ４は、死ドメイン含有レセプター（ＤＤＣＲ）ポリペプチドファミリーのメンバーであ

るので、配列番号１における１０９位のシステインまでのＮ末端アミノ酸の欠失は、いくつかの生物学的活性（例えば、アポトーシスを誘導する能力）を維持し得る。配列番号１における１０９位のシステイン残基（Ｃ１０９）は、ファミリーメンバー内で一定でありかつリガンド結合に必要とされる構造的安定性を提供するためのジスルフィド結合を形成するために必要とされ得るので、この残基を含むＮ末端の欠失をさらに有するポリペプチドが、そのような生物学的活性を維持するとは予想されない。

【０１０１】

しかし、タンパク質のＮ末端からの１つ以上のアミノ酸の欠失がこのタンパク質の１つ以上の生物学的機能の改変または欠損を生じる場合でさえも、他の機能的活性（例えば、生物学的活性、多量体化する能力、ＴＲ４リガンド（例えば、ＴＲＡＩＬ）に結合する能力）は、なお維持され得る。例えば、短縮されたＴＲ４ポリペプチドがＴＲ４ポリペプチドの完全な形態または成熟形態を認識する抗体を誘導しかつ／またはその抗体に結合する能力は、この完全な形態または成熟形態のポリペプチドの残基のうち多数よりは少ないものがＮ末端から除去される場合、一般的に、維持される。完全なポリペプチドのＮ末端残基を欠失する特定のポリペプチドがそのような免疫学的活性を維持するか否かは、本明細書中に記載される従来の方法および当該分野における他の公知の方法により容易に決定され得る。多数のＮ末端アミノ酸残基の欠失を有するＴＲ４ポリペプチドは、いくつかの生物学的活性または免疫学的活性を維持し得ないようである。実際、６程度に少ないＴＲアミノ酸残基からなるペプチドは、しばしば免疫応答を誘発し得る。

【０１０２】

従って、本発明は、配列番号１のＴＲ４アミノ酸配列のアミノ末端から４６３位のセリン残基まで１以上の残基を欠失するポリペプチドに結合する抗体およびそのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに提供する。詳細には、本発明は、配列番号１の残基n^1－４６８のアミノ酸配列を含むポリペプチドを結合する抗体を提供する（ここで、n^1は、配列番号１におけるアミノ酸残基の位置に対応する２～４６３の整数である）。

【０１０３】

より詳細には、本発明は、配列番号１のＴＲ４配列の

【０１０４】

【数１－１】

A-2 ～
E-468; P-3 ～ E-468; P-4 ～ E-468; P-5 ～ E-468; A-6 ～ E-468; R-7 ～ E-468; V-8 ～ E-468; H-9 ～ E-468; L-10 ～ E-468; G-11 ～ E-468; A-12 ～ E-468; F-13 ～ E-468; L-14 ～ E-468; A-15 ～ E-468; V-16 ～ E-468; T-17 ～ E-468; P-18 ～ E-468; N-19 ～ E-468; P-20 ～ E-468; G-21 ～ E-468; S-22 ～ E-468; A-23 ～ E-468; A-24 ～ E-468; S-25 ～ E-468; G-26 ～ E-468; T-27 ～ E-468; E-28 ～ E-468; A-29 ～ E-468; A-30 ～ E-468; A-31 ～ E-468; A-32 ～ E-468; T-33 ～ E-468; P-34 ～ E-468; S-35 ～ E-468; K-36 ～ E-468; V-37 ～ E-468; W-38 ～ E-468; G-39 ～ E-468; S-40 ～ E-468; S-41 ～ E-468; A-42 ～ E-468; G-43 ～ E-468; R-44 ～ E-468; I-45 ～ E-468; E-46 ～ E-468; P-47 ～ E-468; R-48 ～ E-468; G-49 ～ E-468; G-50 ～ E-468; G-51 ～ E-468; R-52 ～ E-468; G-53 ～ E-468; A-54 ～ E-468; L-55 ～ E-468; P-56 ～ E-468; T-57 ～ E-468; S-58 ～ E-468; M-59 ～ E-468; G-60 ～ E-468; Q-61 ～ E-468; H-62 ～ E-468; G-63 ～ E-468; P-64 ～ E-468; S-65 to E-468; A-66 ～ E-468; R-67 ～ E-468; A-68 ～ E-468; R-69 ～ E-468; A-70 ～ E-468; G-71 ～ E-468; R-72 ～ E-468; A-73 ～ E-468; P-74 ～ E-468; G-75 ～ E-468; P-76 ～ E-468; R-77 ～ E-468; P-78 ～ E-468; A-79 ～ E-468; R-80 ～ E-468; E-81 ～ E-468; A-82 ～ E-468; S-83 ～ E-468; P-84 ～ E-468; R-85 ～ E-468; L-86 ～ E-468; R-87 ～ E-468; V-88 ～ E-468; H-89 ～ E-468; K-90 ～ E-468; T-91 ～ E-468; F-92 ～ E-468; K-93 ～ E-468; F-94 ～ E-468; V-95 ～ E-468; V-96 ～ E-468; V-97 ～ E-468; G-98 ～ E-468; V-99 ～ E-468; L-100 ～ E-468; L-101 ～ E-468; Q-102 ～ E-468; V-103 ～ E-468; V-104 ～ E-468; P-105 ～ E-468; S-106 ～ E-468; S-107 ～ E-468; A-108 ～ E-468; A-109 ～ E-468; T-110 ～ E-468; I-111 ～ E-468; K-112 ～ E-468; L-113 ～ E-468; H-114 ～ E-468; D-115 ～ E-468; Q-116 ～ E-468; S-117 ～ E-468; I-118 ～ E-468; G-119 ～ E-468; T-120 ～ E-468; Q-121 ～ E-468; Q-122 ～ E-468; W-123 ～ E-468; E-124 ～ E-468; H-125 ～ E-468; S-126 ～ E-468; P-127 ～ E-468; L-128 ～ E-468; G-129 ～ E-468; E-130 ～ E-468; L-131 ～ E-468; C-132 ～ E-468; P-133 ～ E-468; P-134 ～ E-468; G-135 ～ E-468; S-136 ～ E-468; H-137 ～ E-468; R-138 ～ E-468; S-139 ～ E-468; E-140 ～ E-468; R-141 ～ E-468; P-142 ～ E-468; G-143 ～ E-468; A-144 ～ E-468; C-145 ～ E-468; N-146 ～ E-468; R-147 ～ E-468; C-148 ～ E-468; T-149 ～ E-468; E-150 ～ E-468; G-151 ～ E-468; V-152 ～ E-468; G-153 ～ E-468; Y-154 ～ E-468; T-155 ～ E-468; N-156 ～ E-468; A-157 ～ E-468; S-158 ～ E-468; N-159 ～ E-468; N-160 ～ E-468; L-161 ～ E-468; F-162 ～ E-468; A-163 ～ E-468; C-164 ～ E-468; L-165 ～ E-468; P-166 ～ E-468; C-167 ～ E-468; T-168 ～ E-468; A-169 ～ E-468; C-170 ～ E-468; K-171 ～ E-468; S-172 ～ E-468; D-173 ～ E-468; E-174 ～ E-468; E-175 ～ E-468; E-176 ～ E-468; R-177 ～ E-468; S-178 ～ E-468; P-179 ～ E-468; C-180 ～ E-468; T-181 ～ E-468; T-182 ～ E-468; T-183 ～ E-468; R-184 ～ E-468; N-185 ～ E-468;

【０１０５】

【数１－２】

T-186～E-468; A-187～E-468; C-188～E-468; Q-189～E-468; C-190～E-468; K-191～E-468; P-192～E-468; G-193～E-468; T-194～E-468; F-195～E-468; R-196～E-468; N-197～E-468; D-198～E-468; N-199～E-468; S-200～E-468; A-201～E-468; E-202～E-468; M-203～E-468; C-204～E-468; R-205～E-468; K-206～E-468; C-207～E-468; S-208～E-468; T-209～E-468; G-210～E-468; C-211～E-468; P-212～E-468; R-213～E-468; G-214～E-468; M-215～E-468; V-216～E-468; K-217～E-468; V-218～E-468; K-219～E-468; D-220～E-468; C-221～E-468; T-222～E-468; P-223～E-468; W-224～E-468; S-225～E-468; D-226～E-468; I-227～E-468; E-228～E-468; C-229～E-468; V-230～E-468; H-231～E-468; K-232～E-468; E-233～E-468; S-234～E-468; G-235～E-468; N-236～E-468; G-237～E-468; H-238～E-468; N-239～E-468; I-240～E-468; W-241～E-468; V-242～E-468; I-243～E-468; L-244～E-468; V-245～E-468; V-246～E-468; T-247～E-468; L-248～E-468; V-249～E-468; V-250～E-468; P-251～E-468; L-252～E-468; L-253～E-468; L-254～E-468; V-255～E-468; A-256～E-468; V-257～E-468; L-258～E-468; I-259～E-468; V-260～E-468; C-261～E-468; C-262～E-468; C-263～E-468; I-264～E-468; G-265～E-468; S-266～E-468; G-267～E-468; C-268～E-468; G-269～E-468; G-270～E-468; D-271～E-468; P-272～E-468; K-273～E-468; C-274～E-468; M-275～E-468; D-276～E-468; R-277～E-468; V-278～E-468; C-279～E-468; F-280～E-468; W-281～E-468; R-282～E-468; L-283～E-468; G-284～E-468; L-285～E-468; L-286 to E-468; R-287～E-468; G-288～E-468; P-289～E-468; G-290～E-468; A-291～E-468; E-292～E-468; D-293～E-468; N-294～E-468; A-295～E-468; H-296～E-468; N-297～E-468; E-298～E-468; I-299～E-468; L-300～E-468; S-301～E-468; N-302～E-468; A-303～E-468; D-304～E-468; S-305～E-468; L-306～E-468; S-307～E-468; T-308～E-468; F-309～E-468; V-310～E-468; S-311～E-468; E-312～E-468; Q-313～E-468; Q-314～E-468; M-315～E-468; E-316～E-468; S-317～E-468; Q-318～E-468; E-319～E-468; P-320～E-468; A-321～E-468; D-322～E-468; L-323～E-468; T-324～E-468; G-325～E-468; V-326～E-468; T-327～E-468; V-328～E-468; Q-329～E-468; S-330～E-468; P-331～E-468; G-332～E-468; E-333～E-468; A-334～E-468; Q-335～E-468; C-336～E-468; L-337～E-468; L-338～E-468; G-339～E-468; P-340～E-468; A-341～E-468; E-342～E-468; A-343～E-468; E-344～E-468; G-345～E-468; S-346～E-468; Q-347～E-468; R-348～E-468; R-349～E-468; R-350～E-468; L-351～E-468; L-352～E-468; V-353～E-468; P-354～E-468; A-355～E-468; N-356～E-468; G-357～E-468; A-358～E-468; D-359～E-468; P-360～E-468; T-361

【０１０６】

【数１－３】

～E-468; E-362～E-468; T-363～E-468; L-364～E-468; M-365～E-468; L-366～E-468; F-367～E-468; F-368～E-468; D-369～E-468; K-370～E-468; F-371～E-468; A-372～E-468; N-373～E-468; I-374～E-468; V-375～E-468; P-376～E-468; F-377～E-468; D-378～E-468; S-379～E-468; W-380～E-468; D-381～E-468; Q-382～E-468; L-383～E-468; M-384～E-468; R-385～E-468; Q-386～E-468; L-387～E-468; D-388～E-468; L-389～E-468; T-390～E-468; K-391～E-468; N-392～E-468; E-393～E-468; I-394～E-468; D-395～E-468; V-396～E-468; V-397～E-468; R-398～E-468; A-399～E-468; G-400～E-468; T-401～E-468; A-402～E-468; G-403～E-468; P-404～E-468; G-405～E-468; D-406～E-468; A-407～E-468; L-408～E-468; Y-409～E-468; A-410～E-468; M-411～E-468; L-412～E-468; M-413～E-468; K-414～E-468; W-415～E-468; V-416～E-468; N-417～E-468; K-418～E-468; T-419～E-468; G-420～E-468; R-421～E-468; N-422～E-468; A-423～E-468; S-424～E-468; I-425～E-468; H-426～E-468; T-427～E-468; L-428～E-468; L-429～E-468; D-430～E-468; A-431～E-468; L-432～E-468; E-433～E-468; R-434～E-468; M-435～E-468; E-436～E-468; E-437～E-468; R-438～E-468; H-439～E-468; A-440～E-468; K-441～E-468; E-442～E-468; K-443～E-468; I-444～E-468; Q-445～E-468; D-446～E-468; L-447～E-468; L-448～E-468; V-449～E-468; D-450～E-468; S-451～E-468; G-452～E-468; K-453～E-468; F-454～E-468; I-455～E-468; Y-456～E-468; L-457～E-468; E-458～E-468; D-459～E-468; G-460～E-468; T-461～E-468; G-462～E-468; および/またはS-463～E-468

【０１０７】

の残基のアミノ酸配列を含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドを結合する抗体を提供する。

【０１０８】

別の実施形態において、このＴＲ４ポリペプチドのＮ末端欠失は、一般式ｎ^{2}～２３８により示され得る（ここでｎ^{2}は、配列番号１の同定されたアミノ酸配列に対応する２～２３８の数である）。特定の実施形態において、本発明の抗体は、以下のアミノ酸配列を含むか、またはそれらからなるＴＲ４のＮ末端の欠失を結合する：配列番号１のＴＲ４細胞外ドメイン配列の

【０１０９】

【数２－１】

A-2 ～H-238; P-3 ～H-238; P-4 ～H-238; P-5 ～H-238; A-6 ～H-238; R-7 ～H-238; V-8 ～H-238; H-9～H-238; L-10～H-238; G-11～H-238; A-12～H-238; F-13～H-238; L-14～H-238; A-15～H-238; V-16～H-238; T-17～H-238; P-18～H-238; N-19～H-238; P-20～H-238; G-21～H-238; S-22～H-238; A-23～H-238; A-24～H-238; S-25～H-238; G-26～H-238; T-27～H-238; E-28～H-238; A-29～H-238; A-30～H-238; A-31～H-238; A-32～H-238; T-33～H-238; P-34～H-238; S-35～H-238; K-36～H-238; V-37～H-238; W-38～H-238; G-39～H-238; S-40～H-238; S-41～H-238; A-42～H-238; G-43～H-238; R-44～H-238; I-45～H-238; E-46～H-238; P-47～H-238; R-48

【０１１０】

【数２－２】

～H-238; G-49～H-238; G-50～H-238; G-51～H-238; R-52～H-238; G-53～H-238; A-54～H-238; L-55～H-238; P-56～H-238; T-57～H-238; S-58～H-238; M-59～H-238; G-60～H-238; Q-61～H-238; H-62～H-238; G-63～H-238; P-64～H-238; S-65～H-238; A-66～H-238; R-67～H-238; A-68～H-238; R-69～H-238; A-70～H-238; G-71～H-238; R-72～H-238; A-73～H-238; P-74～H-238; G-75～H-238; P-76～H-238; R-77～H-238; P-78～H-238; A-79～H-238; R-80～H-238; E-81～H-238; A-82～H-238; S-83～H-238; P-84～H-238; R-85～H-238; L-86～H-238; R-87～H-238; V-88～H-238; H-89～H-238; K-90～H-238; T-91～H-238; F-92～H-238; K-93～H-238; F-94～H-238; V-95～H-238; V-96～H-238; V-97～H-238; G-98～H-238; V-99～H-238; L-100～H-238; L-101～H-238; Q-102～H-238; V-103～H-238; V-104～H-238; P-105～H-238; S-106～H-238; S-107～H-238; A-108～H-238; A-109～H-238; T-110～H-238; I-111～H-238; K-112～H-238; L-113～H-238; H-114～H-238; D-115～H-238; Q-116～H-238; S-117～H-238; I-118～H-238; G-119～H-238; T-120～H-238; Q-121～H-238; Q-122～H-238; W-123～H-238; E-124～H-238; H-125～H-238; S-126～H-238; P-127～H-238; L-128～H-238; G-129～H-238; E-130～H-238; L-131～H-238; C-132～H-238; P-133～H-238; P-134～H-238; G-135～H-238; S-136～H-238; H-137～H-238; R-138～H-238; S-139～H-238; E-140～H-238; R-141～H-238; P-142～H-238; G-143～H-238; A-144～H-238; C-145～H-238; N-146～H-238; R-147～H-238; C-148～H-238; T-149～H-238; E-150～H-238; G-151～H-238; V-152～H-238; G-153～H-238; Y-154～H-238; T-155～H-238; N-156～H-238; A-157～H-238; S-158～H-238; N-159～H-238; N-160～H-238; L-161～H-238; F-162～H-238; A-163～H-238; C-164～H-238; L-165～H-238; P-166～H-238; C-167～H-238; T-168～H-238; A-169～H-238; C-170～H-238; K-171～H-238; S-172～H-238; D-173～H-238; E-174～H-238; E-175～H-238; E-176～H-238; R-177～H-238; S-178～H-238; P-179～H-238; C-180～H-238; T-181～H-238; T-182～H-238; T-183～H-238; R-184～H-238; N-185～H-238; T-186～H-238; A-187～H-238; C-188～H-238; Q-189～H-238; C-190～H-238; K-191～H-238; P-192～H-238; G-193～H-238; T-194～H-238; F-195～H-238; R-196～H-238; N-197～H-238; D-198～H-238; N-199～H-238; S-200～H-238; A-201～H-238; E-202～H-238; M-203～H-238; C-204～H-238; R-205～H-238; K-206～H-238; C-207～H-238; S-208～H-238; T-209～H-238; G-210～H-238; C-211～H-238; P-212～H-238; R-213～H-238; G-214～H-238; M-215～H-238; V-216～H-238; K-217～H-238; V-218～H-238; K-219～H-238; D-220～H-238; C-221～H-238; T-222～H-238; P-223～H-238; W-224～H-

【０１１１】

【数２－３】

238; S-225 ～ H-238; D-226 ～ H-238; I-227 ～ H-238; E-228 ～ H-238; C-229 ～ H-238; V-230 ～ H-238; H-231 ～ H-238; K-232 ～ H-238;および／または E-233 ～ H-238;

【０１１２】

。上記されるように、たとえ、タンパク質のＣ末端からの１つ以上アミノ酸の欠失が、このタンパク質の１つ以上の生物学的機能の損失という改変を生じるとしても、他の機能的活性（例えば、生物学的活性、マルチマーを形成する能力、ＤＲ４リガンド（例えば、ＴＲＡＩＬ）を結合する能力）は、なお保持され得る。完全ポリペプチド、または成熟ポリペプチドの大多数に満たない残基が、Ｃ末端から除去される場合、例えば、短縮されたＴＲ４ポリペプチドが、このＴＲ４ポリペプチドの完全形態、または成熟形態を認識する抗体を誘導し、そして／またはその抗体に結合する能力は、一般に保持される。完全ポリペプチドのＣ末端残基を欠く特定のポリペプチドがこのような免疫学的活性を保持するか否かは、本明細書中に記載される慣用的方法、およびそうでなければ当該分野で公知の方法によって容易に決定され得る。多数の欠失Ｃ末端アミノ酸残基を有するＴＲ４ポリペプチドは、いくつかの生物学的活性または免疫原性活性を保持し得るようでない。実際、わずか６つのＴＲ４アミノ酸残基からなるペプチドは、しばしば免疫応答を引き起こし得る。

【０１１３】

従って、本発明は、配列番号１に示されるＴＲ４ポリペプチド配列のアミノ酸配列のカルボキシ末端から、位置番号３０のアラニン残基までの１つ以上の残基が欠失されたポリペプチドを結合する抗体、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに提供する。詳細には、本発明は、配列番号１の残基２４－m^1のアミノ酸配列を含むポリペプチドを結合する抗体を提供し、ここでm^1は、配列番号１のアミノ酸残基の位置に対応する３０～４６７の整数である。

【０１１４】

より詳細には、本発明は、配列番号１のＴＲ４配列の以下の残基のアミノ酸配列を含むか、または代替的にこれらのアミノ酸配列からなるポリペプチドを結合する抗体を提供する：

【０１１５】

【数３－１】

A-24 ～ L-467; A-24 ～ S-466; A-24 ～ V-465; A-24 ～ A-464; A-24 ～ S-463; A-24 ～ G-462; A-24 ～ T-461; A-24 ～ G-460; A-24 ～ D-459; A-24 ～ E-458; A-24 ～ L-457; A-24 ～ Y-456; A-24 ～ I-455; A-24 ～ F-454; A-24 ～ K-453; A-24 ～ G-452; A-24 ～ S-451; A-24 ～ D-450; A-24 ～ V-449; A-24 ～ L-448; A-24 ～ L-447; A-24 ～ D-446; A-24 ～ Q-445; A-24 ～ I-444; A-24 ～ K-443; A-24 ～ E-442; A-24 ～ K-441; A-24 ～ A-440; A-24 ～ H-439; A-24 ～ R-438; A-24 ～ E-437; A-24 ～ E-436; A-24 ～ M-435; A-24 ～ R-434; A-24 ～ E-433; A-24 ～ L-432; A-24 ～ A-431; A-24 ～ D-430; A-24 ～ L-429; A-24 ～ L-428; A-24 ～ T-427; A-24 ～ H-426; A-24 ～ I-425; A-24 ～ S-424; A-24 ～ A-423; A-24 ～ N-422;

【０１１６】

【数３－２】

A-24 ~ R-421; A-24 ~ G-420; A-24 ~ T-419; A-24 ~ K-418; A-24 ~ N-417; A-24 ~ V-416; A-24 ~ W-415; A-24 ~ K-414; A-24 ~ M-413; A-24 ~ L-412; A-24 ~ M-411; A-24 ~ A-410; A-24 ~ Y-409; A-24 ~ L-408; A-24 ~ A-407; A-24 ~ D-406; A-24 ~ G-405; A-24 ~ P-404; A-24 ~ G-403; A-24 ~ A-402; A-24 ~ T-401; A-24 ~ G-400; A-24 ~ A-399; A-24 ~ R-398; A-24 ~ V-397; A-24 ~ V-396; A-24 ~ D-395; A-24 ~ I-394; A-24 ~ E-393; A-24 ~ N-392; A-24 ~ K-391; A-24 ~ T-390; A-24 ~ L-389; A-24 ~ D-388; A-24 ~ L-387; A-24 ~ Q-386; A-24 ~ R-385; A-24 ~ M-384; A-24 ~ L-383; A-24 ~ Q-382; A-24 ~ D-381; A-24 ~ W-380; A-24 ~ S-379; A-24 ~ D-378; A-24 ~ F-377; A-24 ~ P-376; A-24 ~ V-375; A-24 ~ I-374; A-24 ~ N-373; A-24 ~ A-372; A-24 ~ F-371; A-24 ~ K-370; A-24 ~ D-369; A-24 ~ F-368; A-24 ~ F-367; A-24 ~ L-366; A-24 ~ M-365; A-24 ~ L-364; A-24 ~ T-363; A-24 ~ E-362; A-24 ~ T-361; A-24 ~ P-360; A-24 ~ D-359; A-24 ~ A-358; A-24 ~ G-357; A-24 ~ N-356; A-24 ~ A-355; A-24 ~ P-354; A-24 ~ V-353; A-24 ~ L-352; A-24 ~ L-351; A-24 ~ R-350; A-24 ~ R-349; A-24 ~ R-348; A-24 ~ Q-347; A-24 ~ S-346; A-24 ~ G-345; A-24 ~ E-344; A-24 ~ A-343; A-24 ~ E-342; A-24 ~ A-341; A-24 ~ P-340; A-24 ~ G-339; A-24 ~ L-338; A-24 ~ L-337; A-24 ~ C-336; A-24 ~ Q-335; A-24 ~ A-334; A-24 ~ E-333; A-24 ~ G-332; A-24 ~ P-331; A-24 to S-330; A-24 ~ Q-329; A-24 ~ V-328; A-24 ~ T-327; A-24 ~ V-326; A-24 ~ G-325; A-24 ~ T-324; A-24 ~ L-323; A-24 ~ D-322; A-24 ~ A-321; A-24 ~ P-320; A-24 ~ E-319; A-24 ~ Q-318; A-24 ~ S-317; A-24 ~ E-316; A-24 ~ M-315; A-24 ~ Q-314; A-24 ~ Q-313; A-24 ~ E-312; A-24 ~ S-311; A-24 ~ V-310; A-24 ~ F-309; A-24 ~ T-308; A-24 ~ S-307; A-24 ~ L-306; A-24 ~ S-305; A-24 ~ D-304; A-24 ~ A-303; A-24 ~ N-302; A-24 ~ S-301; A-24 ~ L-300; A-24 ~ I-299; A-24 ~ E-298; A-24 ~ N-297; A-24 ~ H-296; A-24 ~ A-295; A-24 ~ N-294; A-24 ~ D-293; A-24 ~ E-292; A-24 ~ A-291; A-24 ~ G-290; A-24 ~ P-289; A-24 ~ G-288; A-24 ~ R-287; A-24 ~ L-286; A-24 ~ L-285; A-24 ~ G-284; A-24 ~ L-283; A-24 ~ R-282; A-24 ~ W-281; A-24 ~ F-280; A-24 ~ C-279; A-24 ~ V-278; A-24 ~ R-277; A-24 ~ D-276; A-24 ~ M-275; A-24 ~ C-274; A-24 ~ K-273; A-24 ~ P-272; A-24 ~ D-271; A-24 ~ G-270; A-24 ~ G-269; A-24 ~ C-268; A-24 ~ G-267; A-24 ~ S-266; A-24 ~ G-265; A-24 ~ I-264; A-24 ~ C-263; A-24 ~ C-262; A-24 ~ C-261; A-24 ~ V-260; A-24 ~ I-259; A-24 ~ L-258; A-24 ~ V-257; A-24 ~ A-256; A-24 ~ V-255; A-24 ~ L-254; A-24 ~ L-253; A-24 ~ L-252; A-24 ~ P-251; A-24 ~ V-250; A-24 ~ V-249; A-24 ~ L-248; A-24 ~ T-247; A-24 ~ V-246; A-24 ~ V-245; A-24 ~ L-244; A-24 ~ I-243; A-24 ~ V-242; A-24 ~ W-241; A-24 ~ I-240; A-24 ~ N-239; A-24 ~ H-238; A-24 ~ G-237; A-24 ~ N-236; A-24 ~ G-

【０１１７】

【数３－３】

235; A-24 ~ S-234; A-24 ~ E-233; A-24 ~ K-232; A-24 ~ H-231; A-24 ~ V-230; A-24 ~ C-229; A-24 ~ E-228; A-24 ~ I-227; A-24 ~ D-226; A-24 ~ S-225; A-24 ~ W-224; A-24 ~ P-223; A-24 ~ T-222; A-24 ~ C-221; A-24 ~ D-220; A-24 ~ K-219; A-24 ~ V-218; A-24 ~ K-217; A-24 ~ V-216; A-24 ~ M-215; A-24 ~ G-214; A-24 ~ R-213; A-24 ~ P-212; A-24 ~ C-211; A-24 ~ G-210; A-24 ~ T-209; A-24 ~ S-208; A-24 ~ C-207; A-24 ~ K-206; A-24 ~ R-205; A-24 ~ C-204; A-24 ~ M-203; A-24 ~ E-202; A-24 ~ A-201; A-24 ~ S-200; A-24 ~ N-199; A-24 ~ D-198; A-24 ~ N-197; A-24 ~ R-196; A-24 ~ F-195; A-24 ~ T-194; A-24 ~ G-193; A-24 ~ P-192; A-24 ~ K-191; A-24 ~ C-190; A-24 ~ Q-189; A-24 ~ C-188; A-24 ~ A-187; A-24 ~ T-186; A-24 ~ N-185; A-24 ~ R-184; A-24 ~ T-183; A-24 ~ T-182; A-24 ~ T-181; A-24 ~ C-180; A-24 ~ P-179; A-24 ~ S-178; A-24 ~ R-177; A-24 ~ E-176; A-24 ~ E-175; A-24 ~ E-174; A-24 ~ D-173; A-24 ~ S-172; A-24 ~ K-171; A-24 ~ C-170; A-24 ~ A-169; A-24 ~ T-168; A-24 ~ C-167; A-24 ~ P-166; A-24 ~ L-165; A-24 ~ C-164; A-24 ~ A-163; A-24 ~ F-162; A-24 ~ L-161; A-24 ~ N-160; A-24 ~ N-159; A-24 ~ S-158; A-24 ~ A-157; A-24 ~ N-156; A-24 ~ T-155; A-24 ~ Y-154; A-24 ~ G-153; A-24 ~ V-152; A-24 ~ G-151; A-24 ~ E-150; A-24 ~ T-149; A-24 ~ C-148; A-24 ~ R-147; A-24 ~ N-146; A-24 ~ C-145; A-24 ~ A-144; A-24 ~ G-143; A-24 ~ P-142; A-24 ~ R-141; A-24 ~ E-140; A-24 ~ S-139; A-24 ~ R-138; A-24 ~ H-137; A-24 ~ S-136; A-24 ~ G-135; A-24 ~ P-134; A-24 ~ P-133; A-24 ~ C-132; A-24 ~ L-131; A-24 ~ E-130; A-24 ~ G-129; A-24 ~ L-128; A-24 ~ P-127; A-24 ~ S-126; A-24 ~ H-125; A-24 ~ E-124; A-24 ~ W-123; A-24 ~ Q-122; A-24 ~ Q-121; A-24 ~ T-120; A-24 ~ G-119; A-24 ~ I-118; A-24 ~ S-117; A-24 ~ Q-116; A-24 ~ D-115; A-24 ~ H-114; A-24 ~ L-113; A-24 ~ K-112; A-24 ~ I-111; A-24 ~ T-110; A-24 ~ A-109; A-24 ~ A-108; A-24 ~ S-107; A-24 ~ S-106; A-24 ~ P-105; A-24 ~ V-104; A-24 ~ V-103; A-24 ~ Q-102; A-24 ~ L-101; A-24 ~ L-100; A-24 ~ V-99; A-24 ~ G-98; A-24 ~ V-97; A-24 ~ V-96; A-24 ~ V-95; A-24 ~ F-94; A-24 ~ K-93; A-24 ~ F-92; A-24 ~ T-91; A-24 ~ K-90; A-24 ~ H-89; A-24 ~ V-88; A-24 ~ R-87; A-24 ~ L-86; A-24 ~ R-85; A-24 ~ P-84; A-24 ~ S-83; A-24 ~ A-82; A-24 ~ E-81; A-24 ~ R-80; A-24 ~ A-79; A-24 ~ P-78; A-24 ~ R-77; A-24 ~ P-76; A-24 ~ G-75; A-24 ~ P-74; A-24 ~ A-73; A-24 ~ R-72; A-24 ~ G-71; A-24 ~ A-70; A-24 ~ R-69; A-24 ~ A-68; A-24 ~ R-67; A-24 ~ A-66; A-24 ~ S-65; A-24 ~ P-64; A-24 ~ G-63; A-24 ~ H-62; A-24 ~ Q-61; A-24 ~ G-60; A-24 ~ M-59; A-24 ~ S-58; A-24 ~ T-57; A-24 ~ P-56; A-24 ~ L-55; A-24 ~ A-54; A-24 ~ G-53; A-24 ~ R-52; A-24 ~ G-51; A-24 ~ G-50; A-24 ~ G-49; A-24 ~ R-48; A-24 ~ P-47; A-24 ~ E-46; A-24 ~ I-45; A-24 ~ R-44;

【０１１８】

【数３－４】

A-24 ~ G-43; A-24 ~ A-42; A-24 ~ S-41; A-24 ~ S-40; A-24 ~ G-39; A-24 ~ W-38; A-24 ~ V-37; A-24 ~ K-36; A-24 ~ S-35; A-24 ~ P-34; A-24 ~ T-33; A-24 ~ A-32; A-24 ~ A-31;および / またはA-24 ~ A-30

【０１１９】

別の実施形態においては、本発明の抗体は、一般式２４－m^2によって記載され得るＣ末端欠失ＴＲ４ポリペプチドを結合し、ここでm^2は、配列番号１の同定されたアミノ酸配列に対応する３０～２３８の数である。特定の実施形態においては、本発明は、配列番号１のＴＲ４細胞外ドメイン配列の以下の残基のアミノ酸配列を含むか、またはこれらのアミノ酸配列からなるＴＲ４ポリペプチドを結合する抗体を提供する：

【０１２０】

【数４－１】

A-24 ~ G-237; A-24 ~ N-236; A-24 ~ G-235; A-24 ~ S-234; A-24 ~ E-233; A-24 ~ K-232; A-24 ~ H-231; A-24 ~ V-230; A-24 ~ C-229; A-24 ~ E-228; A-24 ~ I-227; A-24 ~ D-226; A-24 ~ S-225; A-24 ~ W-224; A-24 ~ P-223; A-24 ~ T-222; A-24 ~ C-221; A-24 ~ D-220; A-24 ~ K-219; A-24 ~ V-218; A-24 ~ K-217; A-24 ~ V-216; A-24 ~ M-215; A-24 ~ G-214; A-24 ~ R-213; A-24 ~ P-212; A-24 ~ C-211; A-24 ~ G-210; A-24 ~ T-209; A-24 ~ S-208; A-24 ~ C-207; A-24 ~ K-206; A-24 ~ R-205; A-24 ~ C-204; A-24 ~ M-203; A-24 ~ E-202; A-24 ~ A-201; A-24 ~ S-200; A-24 ~ N-199; A-24 ~ D-198; A-24 ~ N-197; A-24 ~ R-196; A-24 ~ F-195; A-24 ~ T-194; A-24 ~ G-193; A-24 ~ P-192; A-24 ~ K-191; A-24 ~ C-190; A-24 ~ Q-189; A-24 ~ C-188; A-24 ~ A-187; A-24 ~ T-186; A-24 ~ N-185; A-24 ~ R-184; A-24 ~ T-183; A-24 ~ T-182; A-24 ~ T-181; A-24 ~ C-180; A-24 ~ P-179; A-24 ~ S-178; A-24 ~ R-177; A-24 ~ E-176; A-24 ~ E-175; A-24 ~ E-174; A-24 ~ D-173; A-24 ~ S-172; A-24 ~ K-171; A-24 ~ C-170; A-24 ~ A-169; A-24 ~ T-168; A-24 ~ C-167; A-24 ~ P-166; A-24 ~ L-165; A-24 ~ C-164; A-24 ~ A-163; A-24 ~ F-162; A-24 ~ L-161; A-24 ~ N-160; A-24 ~ N-159; A-24 ~ S-158; A-24 ~ A-157; A-24 ~ N-156; A-24 ~ T-155; A-24 ~ Y-154; A-24 ~ G-153; A-24 ~ V-152; A-24 ~ G-151; A-24 ~ E-150; A-24 ~ T-149; A-24 ~ C-148; A-24 ~ R-147; A-24 ~ N-146; A-24 ~ C-145; A-24 ~ A-144; A-24 ~ G-143; A-24 ~ P-142; A-24 ~ R-141; A-24 ~ E-140; A-24 ~ S-139; A-24 ~ R-138; A-24 ~ H-137; A-24 ~ S-136; A-24 ~ G-135; A-24 ~ P-134; A-24 ~ P-133; A-24 ~ C-132; A-24 ~ L-131; A-24 ~ E-130; A-24 ~ G-129; A-24 ~ L-128; A-24 ~ P-127; A-24 ~ S-126; A-24 ~ H-125; A-24 ~ E-124; A-24 ~ W-123; A-24 ~ Q-122; A-24 ~ Q-121; A-24 ~ T-120; A-24 ~ G-119; A-24 ~ I-118; A-24 ~ S-117; A-24 ~ Q-116; A-24 ~ D-115; A-24 ~ H-114; A-24 ~ L-113; A-24 ~ K-112; A-24 ~ I-111; A-24 ~ T-110; A-24 to A-109; A-24 ~ A-108; A-24 ~ S-107; A-24 ~ S-106; A-24 ~ P-105; A-24 ~ V-104; A-24 ~ V-103; A-24 ~ Q-102; A-24 ~ L-101; A-24 ~ L-100; A-24 ~ V-99; A-24 ~ G-98; A-24 ~ V-97; A-

【０１２１】

【数４－２】

24 ～V-96; A-24 ～V-95; A-24 ～F-94; A-24 ～K-93; A-24 ～F-92; A-24 ～T-91; A-24 ～K-90; A-24 ～H-89; A-24 ～V-88; A-24 ～R-87; A-24 ～L-86; A-24 ～R-85; A-24 ～P-84; A-24 ～S-83; A-24 ～A-82; A-24 ～E-81; A-24 ～R-80; A-24 ～A-79; A-24 ～P-78; A-24 ～R-77; A-24 ～P-76; A-24 ～G-75; A-24 ～P-74; A-24 ～A-73; A-24 ～R-72; A-24 ～G-71; A-24 ～A-70; A-24 ～R-69; A-24 ～A-68; A-24 ～R-67; A-24 ～A-66; A-24 ～S-65; A-24 ～P-64; A-24 ～G-63; A-24 ～H-62; A-24 ～Q-61; A-24 ～G-60; A-24 ～M-59; A-24 ～S-58; A-24 ～T-57; A-24 ～P-56; A-24 ～L-55; A-24 ～A-54; A-24 ～G-53; A-24 ～R-52; A-24 ～G-51; A-24 ～G-50; A-24 ～G-49; A-24 ～R-48; A-24 ～P-47; A-24 ～E-46; A-24 ～I-45; A-24 ～R-44; A-24 ～G-43; A-24 ～A-42; A-24 ～S-41; A-24 ～S-40; A-24 ～G-39; A-24 ～W-38; A-24 ～V-37; A-24 ～K-36; A-24 ～S-35; A-24 ～P-34; A-24 ～T-33; A-24 ～A-32; A-24 ～A-31; および/または A-24 ～ A-30;

【０１２２】

本発明は、配列番号１のＴＲ４ポリペプチドのアミノ酸配列のカルボキシ末端から、配列番号１のＣ－２２１までの１つ以上の残基を有するポリペプチドを結合する抗体をさらに提供する。詳細には、本発明は、配列番号１のアミノ酸配列の残基１－m^9のアミノ酸配列を有するポリペプチドを結合する抗体を提供し、ここでm^9は、２２１～４６８の範囲内の任意の整数であり、そして残基Ｃ－２２１は、ＴＲ４タンパク質のレセプター結合活性に必要であると考えられる、完全ＴＲ４ポリペプチド（配列番号１に示される）のＣ末端から最初の残基の位置である。

【０１２３】

本発明はまた、配列番号１の残基n^1－m^1、および／またはn^2－m^2を有すると一般に記載され得る、ＴＲ４ポリペプチドのアミノ末端およびカルボキシ末端の両方から１つ以上のアミノ酸が欠失されているポリペプチドを結合する抗体を提供し、ここでn^1、n^2、m^1、およびm^2は、上記のような整数である。

【０１２４】

ＡＴＣＣ寄託番号９７８５３に含まれるｃＤＮＡクローンによりコードされる完全なＴＲ４アミノ酸配列の一部からなるポリペプチドを結合する抗体（ここでこの部分は、ＡＴＣＣ寄託番号９７８５３に含まれるｃＤＮＡクローンによりコードされる完全なアミノ酸配列のアミノ末端から１～約１０８アミノ酸を除外するか、もしくはＡＴＣＣ寄託番号９７８５３に含まれるｃＤＮＡクローンによりコードされる完全なアミノ酸配列のカルボキシ末端から１～約２４７のアミノ酸を除外する）、またはＡＴＣＣ寄託番号９７８５３に含まれるｃＤＮＡクローンによりコードされる完全なアミノ酸配列の上記のアミノ末端およびカルボキシ末端の欠失の任意の組合せもまた含まれる。

【０１２５】

好ましくは、本発明の抗体は、細胞外ドメイン部分（すなわち、配列番号１の残基２４～２３８内）を含むＴＲ４フラグメントを結合する。なぜならば、この中の任意の部分は、溶解することが期待されるからである。

【０１２６】

ＴＲ４のいくつかのアミノ酸配列は、タンパク質の構造または機能への有意な影響なしに、変化され得ることが当該分野で認識される。配列中のこのような差異が考慮される場合、タンパク質上に活性を決定する重要な領域が存在することが覚えておかなければならない。このような領域は、通常、リガンド結合部位もしくはデスドメインを作製する残基、またはこれらのドメインに影響する三次構造を形成する残基を含む。

【０１２７】
従って、本発明は、実質的なＴＲ４タンパク質活性を示すか、または以下に考察するタンパク質フラグメントのようなＴＲ４領域を含むＴＲ４タンパク質のバリエーションを結合する抗体をさらに含む。このような変異体は、欠失、挿入、反転、反復およびタイプ置換を含む。どのアミノ酸変化が表現型的にサイレントでありそうかに関するガイダンスは、Ｂｏｗｉｅ，Ｊ．Ｕ．ら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４７：１３０６～１３１０（１９９０）に見出され得る。
【０１２８】
従って、本発明の抗体は、配列番号１のポリペプチドのフラグメント、誘導体もしくはアナログ、またはＡＴＣＣ寄託番号９７８５３のｃＤＮＡによりコードされる配列番号１のポリペプチドを結合し得る。このようなフラグメント、変異体または誘導体は、（ｉ）アミノ酸残基の少なくとも１つ以上が保存アミノ酸残基もしくは非保存アミノ酸残基（好ましくは保存アミノ酸残基、そしてより好ましくは、少なくとも１つ、しかし１０未満の保存されたアミノ酸残基）で置換されているものであってもよいし、そしてこのような置換されたアミノ酸残基は、遺伝子コードによりコードされたものであっても、もしくはそうでなくてもよく、または（ｉｉ）アミノ酸残基の１つ以上が置換基を含むものであってももしくはそうでなくてもよく、または（ｉｉｉ）成熟ポリペプチドが、例えば、ポリペプチドの半減期を増大させる化合物（例えば、ポリエチレングリコール）のような別の化合物と融合されたものであってもそうでなくてもよく、または（ｉｖ）さらなるアミノ酸（例えば、ＩｇＧ　Ｆｃ融合領域ペプチドまたはリーダー配列もしくは分泌配列、または成熟ポリペプチドもしくはプロタンパク質配列の精製に使用される配列）が成熟ポリペプチドと融合されたものであっても、そうでなくてもよい。このようなフラグメント、誘導体およびアナログは、本明細書における教示から当業者の範囲内であるとみなされる。
【０１２９】
特に興味深いことは、荷電したアミノ酸の、別の荷電したアミノ酸、および中性アミノ酸または負に荷電したアミノ酸との置換である。後者は、正電荷が低下したタンパク質を生じ、ＴＲ４タンパク質の特性を改善する。凝集の阻止は、非常に望ましい。タンパク質の凝集は、薬学的処方物を調製する場合、活性を失うのみでならず、問題でもあり得る。なぜなら、凝集物は免疫原性であり得るからである（Ｐｉｎｃｋａｒｄら、Ｃｌｉｎ．Ｅｘｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２：３３１～３４０（１９６７）；Ｒｏｂｂｉｎｓら、Ｄｉａｂｅｔｅｓ　３６：８３８～８４５（１９８７）；Ｃｌｅｌａｎｄら、Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　Ｄｒｕｇ　Ｃａｒｒｉｅｒ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　１０：３０７～３７７（１９９３））。
【０１３０】
アミノ酸の置換はまた、細胞表面レセプターへの結合の選択性を変え得る。Ｏｓｔａｄｅら、Ｎａｔｕｒｅ　３６１：２６６～２６８（１９９３）は、ＴＮＦ－αの、ＴＮＦレセプターの２つの公知の型の１つのみへの選択的結合を生じる特定の変異を記載している。従って、本発明の抗体は、天然の変異または人工的操作のいずれかに由来する１つ以上のアミノ酸の置換、欠失または付加を含むＴＲ４レセプターを結合し得る。
【０１３１】
示されるように、変化は好ましくは、タンパク質の折り畳み、または活性に有意に影響しない軽微な性質（例えば、保存アミノ酸の置換）である（表３を参照のこと）。
【０１３２】

【表３】

表3 保存的アミノ酸の置換

芳香族	フェニルアラニン トリプトファン チロシン
疎水性	ロイシン イソロイシン バリン
極性	グルタミン アスパラギン
塩基性	アルギニン リジン ヒスチジン
酸性	アスパラギン酸 グルタミン酸
低分子	アラニン セリン スレオニン メチオニン グリシン

【０１３３】

特定の実施形態においては、配列番号１のアミノ酸配列および／または本明細書中で記載されるポリペプチドフラグメントのいずれか（例えば、細胞外ドメインまたは細胞内ドメイン）における置換、付加、または欠失の数は、７５、７０、６０、５０、４０、３５、３０、２５、２０、１５、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、１または３０～２０、２０～１５、２０～１０、１５～１０、１０～１、５～１０、１～５、１～３または１～２である。

【０１３４】

特定の実施形態においては、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド、またはこれらのフラグメントもしくは変異体（特に、ＴＲ４の細胞外可溶性ドメインを含むか、またはこれらからなるフラグメント）を結合し、ＴＲ４中の任意の１つ以上の以下の保存的変異体を含む：

配列番号１の

【０１３５】

【数５－１】

M1は、以下と置換されるA, G, I, L. S. T.、またはV: A2は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M, またはV; A6は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; R7は、以下と置換されるH, またはK; V8は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T, またはM; H9は、以下と置換されるK,またはR; は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; G11は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M, またはV; A12は、以下とG, I, L, S, T, M, またはV; F13は、以下と置換されるW, またはY; L14は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M, またはV; A15は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M, またはV; V16は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; T17は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M, またはV; N19は、以下と置換されるQ; G21は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; S22は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M, またはV; A23は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M, またはV; A24は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; S25は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M, またはV; G26は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M, またはV; T27は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M, またはV; E28は、以下と置換されるD; A29は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M, またはV; A30は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M, またはV; A31は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M, またはV; A32は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M, またはV; T33は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M, またはV;

S35は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M, またはV; K36は、以下と置換されるH, またはR; V37は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T, またはM;

W38は、以下と置換されるF, またはY; G39は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M, またはV; S40は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; S41は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M, またはV; A42は、以下と置換されるG, I, L, S, T M, またはV; G43は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M, またはV; R44は、以下と置換されるH, またはK; I45は、以下と置換されるA, G, L, S, T, M,またはV; E46は、以下と置換されるD; R48は、以下と置換されるH, またはK; G49は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; G50は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; G51は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M, またはV; R52は、以下と置換されるH,またはK; G53は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; A54は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; L55は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M, またはV;

T57は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; S58は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M, またはV; M59は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T, またはV; G60は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M, またはV; Q61は、以下と置換されるN; H62は、以下と置換されるK, またはR; G63は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M, またはV;

【０１３６】

【数５－２】

S65は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; A66は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; R67は、以下と置換されるH,またはK; A68は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; R69は、以下と置換されるH,またはK; A70は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; G71は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; R72は、以下と置換されるH,またはK; A73は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; G75は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; R77は、以下と置換されるH,またはK; A79は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; R80は、以下と置換されるH,またはK; E81は、以下と置換されるD; A82は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; S83は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; R85は、以下と置換されるH,またはK; L86は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; R87は、以下と置換されるH,またはK; V88は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; H89は、以下と置換されるK,またはR; K90は、以下と置換されるH,またはR; T91は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; F92は、以下と置換されるW,またはY; K93は、以下と置換されるH,またはR; F94は、以下と置換されるW,またはY; V95は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; V96は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; V97は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; G98は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; V99は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; L100は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; L101は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; Q102は、以下と置換されるN; V103は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; V104は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; S106は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; S107は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; A108は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; A109は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; T110は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; I111は、以下と置換されるA, G, L, S, T, M,またはV; K112は、以下と置換されるH,またはR; L113以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; H114は、以下と置換されるK,またはR; D115は、以下と置換されるE; Q116は、以下と置換されるN; S117は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; I118は、以下と置換されるA, G, L, S, T, M, or V; G119は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; T120は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M, or V; Q121は、以下と置換されるN; Q122は、以下と置換されるN; W123は、以下と置換されるF,またはY; E124は、以下と置換されるD; H125は、以下と置換されるK,またはR; S126は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; L128は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; G129は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; E130は、以下と置換されるD; L131は、以下と置換されるA, G, I, S, T, Mまたは V; G135は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; S136は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; H137は、以下と置換されるK,またはR; R138は、以下と置換されるH,またはK; S139は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; E140以下と置換されるD; R141は、以下と置換されるH,またはK; G143は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; A144は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; N146は、以下と置換されるQ; R147は、以下と置換されるH,またはK; T149は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; E150は、以下と置換されるD; G151は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; V152は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; G153は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; Y154は、以下と置換されるF,またはW; T155は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; N156は、以下と置換されるQ; A157は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; S158は、以下と置換されるA,

【０１３７】

【数５－３】

G, I, L, T, M,またはV; N159 は、以下と置換する Q; N160 は、以下と置換する Q; L161 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; F162 は、以下と置換する W,またはY; A163 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; L165 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; T168 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; A169 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; K171 は、以下と置換する H,またはR; S172 は、以下と置換するA, G, I, L, T, M,またはV; D173 は、以下と置換する E; E174 は、以下と置換する D; E175 は、以下と置換するD; E176 は、以下と置換する D; R177 は、以下と置換する H,またはK; S178 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; T181 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; T182 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; T183 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; R184 は、以下と置換する H,またはK; N185 は、以下と置換する Q; T186 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; A187 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; Q189 は、以下と置換する N; K191 は、以下と置換する H,またはR; G193 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; T194 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; F195 は、以下と置換する W,またはY; R196 は、以下と置換する H,またはK; N197 は、以下と置換する Q; D198 は、以下と置換する E; N199 は、以下と置換するQ; S200 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; A201 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; E202 は、以下と置換する D; M203 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはV; R205 は、以下と置換するH,またはK; K206 は、以下と置換する H,またはR; S208 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; T209 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; G210 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; R213 は、以下と置換する H,またはK; G214 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; M215 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはV; V216 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; K217 は、以下と置換する H,またはR; V218 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; K219 は、以下と置換する H,またはR; D220 は、以下と置換するE; T222 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; W224 は、以下と置換する F,またはY; S225 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; D226 は、以下と置換する E; I227 は、以下と置換する A, G, L, S, T, M,またはV; E228 は、以下と置換する D; V230 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; H231 は、以下と置換する K,またはR; K232 は、以下と置換する H,またはR; E233 は、以下と置換する D; S234 は、以下と置換するA, G, I, L, T, M,またはV; G235 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; N236 は、以下と置換するQ; G237 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; H238 は、以下と置換する K,またはR; N239 は、以下と置換するQ; I240 は、以下と置換する A, G, L, S, T, M,またはV; W241 は、以下と置換する F,またはY; V242 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; I243 は、以下と置換する A, G, L, S, T, M,またはV; L244 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; V245 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; V246 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; T247 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; L248 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; V249 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; V250 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; L252 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; L253 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; L254 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; V255 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; A256 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; V257

【０１３８】

【数５－４】

は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; L258 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; I259 は、以下と置換する A, G, L, S, T, M,またはV; V260 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; I264 は、以下と置換する A, G, L, S, T, M,またはV; G265 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; S266 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; G267 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; G269 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; G270 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; D271 は、以下と置換する E; K273 は、以下と置換する H,またはR; M275 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはV; D276 は、以下と置換する E; R277 は、以下と置換する H,またはK; V278 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T, またはM; F280 は、以下と置換する W,またはY; W281 は、以下と置換する F,またはY; R282 は、以下と置換する H,またはK; L283 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; G284 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; L285 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; L286 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; R287 は、以下と置換する H,またはK; G288 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; G290は、以下と置換するA, I, L, S, T, M, or V; A291 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; E292 は、以下と置換する D; D293 は、以下と置換する E; N294 は、以下と置換する Q; A295 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; H296 は、以下と置換する K,または R; N297 は、以下と置換する Q; E298 は、以下と置換する D; I299 は、以下と置換する A, G, L, S, T, M,またはV; L300 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; S301 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; N302 は、以下と置換する Q; A303 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; D304 は、以下と置換する E; S305 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; L306 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; S307 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; T308 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; F309 は、以下と置換する W,またはY; V310 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; S311 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; E312 は、以下と置換する D; Q313 は、以下と置換する N; Q314 は、以下と置換する N; M315 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはV; E316 は、以下と置換する D; S317 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; Q318 は、以下と置換する N; E319 は、以下と置換する D; A321 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; D322 は、以下と置換する E; L323 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; T324 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; G325 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; V326 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; T327 は、以下と置換する A, G, I, L, S, M,またはV; V328 は、以下と置換する A, G, I, L, S, T,またはM; Q329 は、以下と置換する N; S330 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; G332 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; E333 は、以下と置換する D; A334 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; Q335 は、以下と置換する N; L337 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; L338 は、以下と置換する A, G, I, S, T, M,またはV; G339 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; A341 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; E342 は、以下と置換する D; A343 は、以下と置換する G, I, L, S, T, M,またはV; E344 は、以下と置換する D; G345 は、以下と置換する A, I, L, S, T, M,またはV; S346 は、以下と置換する A, G, I, L, T, M,またはV; Q347 は、以下と置換する N; R348 は、以下と置換する H,またはK; R349 は、以下と置換する H,または

【０１３９】

【数５－５】

K; R350は、以下と置換されるH,またはK; L351は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; L352は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; V353は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; A355は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; N356は、以下と置換されるQ; G357は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; A358は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; D359は、以下と置換されるE; T361は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; E362は、以下と置換されるD; T363は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; L364は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; M365は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはV; L366は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; F367は、以下と置換されるW,またはY; F368は、以下と置換されるW,またはY; D369は、以下と置換されるE; K370は、以下と置換されるH,またはR; F371は、以下と置換されるW,またはY; A372は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; N373は、以下と置換されるQ; I374は、以下と置換されるA, G, L, S, T, M,またはV; V375は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; F377は、以下と置換されるW,またはY; D378は、以下と置換されるE; S379は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; W380は、以下と置換されるF,またはY; D381は、以下と置換されるE; Q382は、以下と置換されるN; L383は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; M384は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはV; R385は、以下と置換されるH,またはK; Q386は、以下と置換されるN; L387は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; D388は、以下と置換されるE; L389は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; T390は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; K391は、以下と置換されるH,またはR; N392は、以下と置換されるQ; E393は、以下と置換されるD; I394は、以下と置換されるA, G, L, S, T, M,またはV; D395は、以下と置換されるE; V396は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; V397は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; R398は、以下と置換されるH,またはK; A399は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; G400は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; T401は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; A402は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; G403は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; G405は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; D406は、以下と置換されるE; A407は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; L408は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; Y409は、以下と置換されるF,またはW; A410は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; M411は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはV; L412は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; M413は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはV; K414は、以下と置換されるH,またはR; W415は、以下と置換されるF,またはY; V416は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; N417は、以下と置換されるQ; K418は、以下と置換されるH,またはR; T419は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; G420は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; R421は、以下と置換されるH,またはK; N422は、以下と置換されるQ; A423は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; S424は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; I425は、以下と置換されるA, G, L, S, T, M,またはV; H426は、以下と置換されるK,またはR; T427は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; L428は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; L429は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; D430は、以下と置換されるE; A431は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; L432は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; E433は、以下と置換されるD; R434は、以下と置換されるH,またはK; M435は、以下と

【０１４０】

【数５－６】

置換されるA, G, I, L, S, T,またはV; E436 は、以下と置換される D; E437 は、以下と置換される D; R438 は、以下と置換されるH,またはK; H439 は、以下と置換される K,またはR; A440 は、以下と置換される G, I, L, S, T, M,またはV; K441 は、以下と置換される H,またはR; E442 は、以下と置換される D; K443 は、以下と置換される H,またはR; I444 は、以下と置換されるA, G, L, S, T, M,またはV; Q445 は、以下と置換されるN; D446は、以下と置換されるE; L447 は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; L448 は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; V449 は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; D450は、以下と置換されるE; S451 は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; G452 は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; K453 は、以下と置換されるH,またはR; F454 は、以下と置換されるW,またはY; I455 は、以下と置換されるA, G, L, S, T, M,またはV; Y456は、以下と置換されるF, またはW; L457 は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; E458 は、以下と置換されるD; D459 は、以下と置換されるE; G460 は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; T461 は、以下と置換されるA, G, I, L, S, M,またはV; G462 は、以下と置換されるA, I, L, S, T, M,またはV; S463 は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; A464 は、以下と置換されるG, I, L, S, T, M,またはV; V465 は、以下と置換されるA, G, I, L, S, T,またはM; S466 は、以下と置換されるA, G, I, L, T, M,またはV; L467 は、以下と置換されるA, G, I, S, T, M,またはV; および/または E468 は、以下と置換されるD

【０１４１】

特定の実施形態においては、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチドまたはこれらのフラグメントもしくは変異体（特に、ＴＲ４の細胞外可溶性ドメインを含むか、またはこれらからなるフラグメント）を結合し、ＴＲ４中の任意の１つ以上の以下の非保存的変異体を含む：

配列番号１の

【０１４２】

【数６－１】

M1は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A2は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P3は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; P4は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; P5は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; A6は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or C; R7は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V8は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; H9は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L10は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G11は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A12は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or C; F13は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; L14は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A15は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V16は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T17は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P18は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; N19は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; P20は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; G21は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S22は、以下と

【０１４３】

【数６－２】

置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A23 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or C; A24は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S25 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G26は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T27 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E28 は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A29 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or C; A30 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A31は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A32は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T33 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P34は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; S35 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K36は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V37は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; W38は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; G39 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S40は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S41は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or C; A42は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G43は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R44は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; I45は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E46 は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P47 以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; R48 は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G49 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G50 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G51 以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R52 は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G53 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A54は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L55は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P56は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; T57 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S58は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; M59 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G60は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q61 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; H62は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G63 は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P64は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; S65 以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A66は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R67 は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A68は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R69 は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S,

【０１４４】

【数６－３】

T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A70は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G71 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R72 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, Pまたは C; A73 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; P74 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; G75 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P76は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; R77 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P78 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; A79 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R80 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E81 は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A82 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; S83 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, Pまたは C; P84 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; R85 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L86 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R87 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V88 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; H89 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K90 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; T91 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; F92 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; K93 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; F94 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,または C; V95 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V96 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V97 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G98 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V99 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L100は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L101 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q102 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; V103 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; V104 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, Pまたは C; P105 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; S106 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S107 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; A108 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A109 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T110 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; I111 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K112 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L113 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; H114 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D115 は、以下と

【０１４５】

【数６－４】

置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q116は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; S117は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; I118は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G119は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T120は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q121は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; Q122は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; W123は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; E124は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; H125は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S126は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; P127は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; L128は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G129は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E130は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC; L131は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; C132は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; P133は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; P134は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; G135は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or C; S136は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; H137は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R138は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S139は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E140は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R141は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P142は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; G143は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A144は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or C; C145は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; N146は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; R147は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; C148は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; T149は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E150は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G151は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V152は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G153は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Y154は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; T155は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or C; N156は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; A157は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S158は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N,

【０１４６】

【数６－５】

Q, F, W, Y, P, or C; N159 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, または C; N160 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,または C; L161 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; F162 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,または C; A163 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; C164 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,または P; L165 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; P166 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,または C; C167 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,または P; T168 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; A169 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; C170 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,または P; K171 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; S172 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; D173 は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; E174 は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; E175 は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; E176 は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; R177 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; S178 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; P179 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,または C; C180 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,または P; T181 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; T182 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; T183 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; R184 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; N185 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,または C; T186 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; A187 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; C188 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, or P; Q189 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,または C; C190 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,または P; K191 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; P192 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,または C; G193 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; T194 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; F195 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, または C; R196 は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; N197 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,または C; D198 は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,または C; N199 は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,または C; S200 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C;

【０１４７】

【数６－６】

A201は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E202は、以下と置換する：H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; M203は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; C204は、以下と置換する：D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; R205は、以下と置換する：D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K206は、以下と置換するD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; C207は、以下と置換する：D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; S208は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T209は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G210は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; C211は、以下と置換する：D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; P212は、以下と置換する：D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; R213は、以下と置換する：D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G214は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; M215は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V216は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K217は、以下と置換する：D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V218は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K219は、以下と置換する：D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D220は、以下と置換する：H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; C221は、以下と置換するD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; T222は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P223は、以下と置換するD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; W224は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; S225は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D226は、以下と置換する：H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; I227は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E228は、以下と置換する：H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, or C; C229は、以下と置換する：D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; V230は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; H231は、以下と置換するD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K232は、以下と置換するD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E233は、以下と置換する：H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S234は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G235は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; N236は、以下と置換するD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; G237は、以下と置換する：D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; H238は、以下と置換する：D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; N239は、以下と置換する：D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; I240は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; W241は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; V242は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; I243は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L244は、以下と置換するD, E, H, K,

【０１４８】

【数６－７】

R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V245 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V246 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T247 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L248 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V249 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V250 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P251 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; L252 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L253 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L254 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V255 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A256 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V257 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L258 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; I259 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V260 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or C; C261 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; C262 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; C263 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; I264 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G265 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S266 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G267 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; C268 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; G269 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G270 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D271 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P272 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; K273 は、以下と置換する D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; C274 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; M275 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D276 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R277 は、以下と置換する D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V278 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; C279 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; F280 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; W281 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; R282 は、以下と置換する D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L283 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G284 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L285 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L286 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R287 は、以下と置換する D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G288 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P289 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L,

【０１４９】

【数６－８】

S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; G290 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; A291 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E292 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D293 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; N294 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,または C; A295 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; H296 は、以下と置換する D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; N297 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; E298 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; I299 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; L300 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S301 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; N302 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,または C; A303 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,または C; D304 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S305 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L306 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S307 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T308 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; F309 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; V310 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S311 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E312 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q313 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; Q314 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; M315 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E316 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S317 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q318 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; E319 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P320 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; A321 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D322 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L323 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T324は、以下と置換するD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G325 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V326 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T327 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V328 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q329 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; S330 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P331 は、以下と置換する D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; G332 は、以下と置換する D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E333 は、以下と置換する H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC;

【０１５０】

【数６－９】

A334は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q335は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; C336は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはP; L337は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L338は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G339は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P340は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; A341は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E342は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A343は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E344は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G345は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S346は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q347は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; R348は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R349は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R350は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L351は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L352は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; V353は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P354は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; A355は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; N356は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, or C; G357は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A358は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D359は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P360は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; T361は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E362は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T363は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L364は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; M365は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L366は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; F367は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; F368は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; D369は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K370は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; F371は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; A372は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; N373は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; I374は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V375は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P376は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; F377は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; D378は、以下と

【０１５１】

【数６－１０】

置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S379は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; W380は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; D381は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q382は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; L383は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; M384は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R385は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q386は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; L387は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D388は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L389は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T390は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K391は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; N392は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, or C; E393は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; I394は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D395は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V396は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V397は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R398は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A399は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G400は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T401は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A402は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G403は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; P404は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはC; G405は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D406は、以下と置換されるH, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A407は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L408は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Y409は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; A410は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; M411は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L412は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; M413は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K414は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; W415は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; V416は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; N417は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; K418は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T419は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G420は、以下と置換されるD, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R421は、以下と置換されるD, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; N422は、以下と置換されるD, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,

【０１５２】

【数６－１１】

またはC; A423は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S424は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; I425は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; H426は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T427は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L428は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L429は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D430は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A431は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L432は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E433は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R434は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; M435は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E436は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC; E437は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; R438は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; H439は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A440は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K441は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E442は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K443は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; I444は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Q445は、以下と置換される D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC; D446は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L447は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L44は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; V449は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D450は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S451は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G452は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K453は、以下と置換される D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; F454は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; I455は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; Y456は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC; L457は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; E458は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; D459は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, or C; G460は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; T461は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G462は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S463は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; A464は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; V465は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; S466は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,

【０１５３】

【数６－１２】

または C; L467 は、以下と置換される D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; および/またはE468 は、以下と置換される H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC

【０１５４】

本発明のＴＲ４タンパク質中の、機能に必須であるアミノ酸は、部位特異的変異誘発またはアラニンスキャニング変異体誘発のような、当該分野で公知の方法によって同定され得る（ＣｕｎｎｉｎｇｈａｍおよびＷｅｌｌｓ、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４４：１０８１－１０８５（１９８９））。後者の手順は、分子中の全ての残基で単一のアラニン変異体を導入する。次いで、得られた変異体分子は、生物学的活性（例えば、レセプター結合活性もしくはインビトロ増殖活性、またはインビトロ増殖活性）について試験される。リガンド－レセプター結合について決定的である部位はまた、構造解析（例えば、結晶化、核磁気共鳴法または光親和性標識）により決定され得る（Ｓｍｉｔｈら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２４：８９９－９０４（１９９２）およびｄｅ Ｖｏｓら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５５：３０６－３１２（１９９２））。好ましい実施形態においては、本発明の抗体は、ＴＲ４機能に必須であるＴＲ４領域を結合する。他の好ましい実施形態においては、本発明の抗体は、ＴＲ４機能に必須であるＴＲ４領域を結合し、そしてＴＲ４機能を阻害または無効にする。他の好ましい実施形態においては、本発明の抗体は、ＴＲ４に必須であり、そしてＴＲ４機能を増強するＴＲ４領域を結合する。

【０１５５】

さらに、タンパク質工学がＴＲ４ポリペプチドの特徴を改良または改変するために、使用され得る。当業者に公知の組換えＤＮＡ技術は、単一もしくは複数のアミノ酸の置換、欠失、付加もしくは融合タンパク質を含む、新規の変異体タンパク質またはムテインを作成するために使用され得る。このような改変されたポリペプチドは、例えば、増強された活性または高い安定性を示し得る。さらに、これらは、少なくとも特定の精製条件および保存条件の下では、より高い収率で精製され得、そして対応する天然ポリペプチドよりも良好な溶解性を示し得る。本発明の抗体は、このような改変されたＴＲ４ポリペプチドを結合し得る。

【０１５６】

天然に存在しないＴＲ４の改変体は、当該分野で公知の変異誘発技術を使用して生成され得、これらの技術としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：オリゴヌクレオチド媒介変異誘発、アラニンスキャニング、ＰＣＲ変異誘発、部位特異的変異誘発（例えば、Ｃａｒｔｅｒら、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１３：４３３１（１９８６）；およびＺｏｌｌｅｒら、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１０：６４８７（１９８２）を参照のこと）、カセット変異誘発（例えば、Ｗｅｌｌｓら、Ｇｅｎｅ ３４：３１５（１９８５）を参照のこと）、制限選択変異誘発（ｒｅｓｔｒｉｃｔｉｏｎ ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ ｍｕｔａｇｅｎｅｓｉｓ）（例えば、Ｗｅｌｌｓら、Ｐｈｉｌｏｓ．Ｔｒａｎｓ．Ｒ．Ｓｏｃ．Ｌｏｎｄｏｎ ＳｅｒＡ ３１７：４１５（１９８６）を参照のこと）。

【０１５７】

従って、本発明はまた、選択された宿主細胞における発現、スケールアップなどについてより適したＴＲ４ポリペプチドを生成するために、１つ以上のアミノ酸残基が欠失、付加または置換されたＴＲ４の誘導体およびアナログを結合する抗体を含む。例えば、システイン残基は、ジスルフィド架橋を除去するために、欠失され得るか、または別のアミノ酸残基で置換され得る；Ｎ連結型グリコシル化部位は、例えば、Ｎ連結部位を高グリコシル化する（ｈｙｐｅｒｇｌｙｃｏｓｙｌａｔｅ）ことが公知である酵母宿主からより容易に回収および精製される、均質な産物の発現を達成するために、改変され得または除去され得る。この目的のために、ＴＲ４ポリペプチドの任意の１以上のグリコシル化認識配列上の第１または第３のアミノ酸位置の一方あるいは両方での種々のアミノ酸置換、および／または任意の１以上のこのような認識配列の第２位でのアミノ酸欠失は、その改変トリ

ペプチド配列でのＴＲ４のグリコシル化を妨げる（例えば、Ｍｉｙａｊｉｍｏら、ＥＭＢＯ Ｊ ５（６）：１１９３－１１９７を参照のこと）。さらに、ＴＲ４ポリペプチドの１以上のアミノ酸残基（例えば、アルギニン残基およびリジン残基）が、プロテアーゼ（例えば、フリン（ｆｕｒｉｎ）またはケキシン（ｋｅｘｉｎ））による望まれないプロセシングを排除するために、欠失され得るかまたは別の残基で置換され得る。

【０１５８】

本発明の抗体はまた、以下を結合する抗体を含む：リーダーを含む、寄託されたｃＤＮＡ（ＡＴＣＣ受託番号９７８５３を有する寄託）によってコードされるポリペプチドを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；リーダー（すなわち、成熟タンパク質）を差し引いた寄託されたｃＤＮＡをによって、コードされる成熟ポリペプチドを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；リーダーを含む配列番号１のポリペプチドを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；アミノ末端のメチオニンを差し引いた配列番号１のポリペプチドを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；リーダーを差し引いた配列番号１のポリペプチドを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；ＴＲ４細胞外ドメインを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；ＴＲ４システインリッチドメインを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；ＴＲ４膜貫通ドメインを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；ＴＲ４細胞内ドメインを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；ＴＲ４デスドメインを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；細胞外ドメインおよび細胞内ドメインの全てまたは部分を含むが、膜貫通ドメインを欠失している、可溶性ポリペプチドを含むか、またはこれらからなるポリペプチド；ならびに上記のポリペプチド（例えば、寄託されたｃＤＮＡクローン（ＡＴＣＣ受託番号９７８５３を有する寄託物）によってコードされるポリペプチド）に対して少なくとも８０％同一、より好ましくは、少なくとも９０％もしくは９５％同一、なおさらに好ましくは、少なくとも９６％、９７％、９８％もしくは９９％同一であるポリペプチド、配列番号１のポリペプチド、ならびに少なくとも３０のアミノ酸およびさらに好ましくは、少なくとも５０のアミノ酸を有するこのようなポリペプチドの部分。

【０１５９】

ＴＲ４ポリペプチドの参照アミノ酸配列と例えば、少なくとも９５％「同一」のアミノ酸配列を有するポリペプチドとは、ポリヌクレオチオド配列がＴＲ４ポリペプチドの参照アミノ酸の各１００アミノ酸あたり５つまでの変異を含み得ることを除いて、この参照配列と同一であるポリペプチドのアミノ酸配列が意図される。言いかえると、参照アミノ酸配列に少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを得るために、この参照配列におけるアミノ酸残基の５％までが、欠失され得るかまたは別のアミノ酸で置換され得るか、あるいは参照配列における全アミノ酸残基の５％までの多くのアミノ酸が、この参照配列中に挿入され得る。参照配列のこれらの改変は、参照アミノ酸配列のアミノ末端位置もしくはカルボキシ末端位置、またはこの参照配列中の残基間の個々にか、もしくは参照配列内の１以上の隣接した群においてのいずれかで分散された、これらの末端位置の間のどこでも起こり得る。

【０１６０】

実際問題として、任意の特定のポリペプチドが、例えば、配列番号１に示されるアミノ酸配列、または寄託されたｃＤＮＡクローンによってコードされるアミノ酸配列に対して、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一であるか否かは、公知のコンピュータープログラム（例えば、Ｂｅｓｔｆｉｔ ｐｒｏｇｒａｍ（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｖｅｒｓｉｏｎ ８ ｆｏｒ Ｕｎｉｘ（登録商標），Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｐａｒｋ，５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒｉｖｅ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ ５３７１１）を使用して従来どおり決定され得る。Ｂｅｓｔｆｉｔまたは任意の他の配列整列プログラムを用いて、特定の配列が、本発明に従う参照配列に対して、例えば、９５％同一であるか否かを決定する場合は、当然のことながら、同一性のパーセントがこの参照アミノ酸配列の全長にわたり算定され、そしてこ

の参照配列におけるアミノ酸残基数全体の５％までの相同性におけるギャップが許容されるように、パラメーターが設定される。

【０１６１】

特定の実施形態においては、参照（問い合わせ）配列（本発明の配列）と対象配列との間の同一性（全体的な配列整列ともいわれる）は、Ｂｒｕｔｌａｇら、（Ｃｏｍｐ．Ａｐｐ．Ｂｉｏｓｃｉ．６：２３７－２４５（１９９０））のアルゴリズムに基づくＦＡＳＴＤＢコンピュータープログラムを使用して決定される。ＦＡＳＴＤＢアミノ酸整列において使用される好ましいパラメーターは、Ｍａｔｒｉｘ＝ＰＡＭ　０、ｋ－ｔｕｐｌｅ＝２、Ｍｉｓｍａｔｃｈ　Ｐｅｎａｌｔｙ＝１、Ｊｏｉｎｉｎｇ　Ｐｅｎａｌｔｙ＝２０、Ｒａｎｄｏｍｉｚａｔｉｏｎ　Ｇｒｏｕｐ　Ｌｅｎｇｔｈ＝０、Ｃｕｔｏｆｆ　Ｓｃｏｒｅ＝１、Ｗｉｎｄｏｗ　Ｓｉｚｅ＝ｓｅｑｕｅｎｃｅ　ｌｅｎｇｔｈ、Ｇａｐ　Ｐｅｎａｌｔｙ＝５、Ｇａｐ　Ｓｉｚｅ　Ｐｅｎａｌｔｙ＝０．０５、Ｗｉｎｄｏｗ　Ｓｉｚｅ＝５００または対象アミノ酸配列の長さ（いずれかより短い方）である。この実施形態に従って、全体的な同一性パーセントを算定する場合は、ＦＡＳＴＤＢプログラムが、対象配列のＮ末端およびＣ末端の短縮を説明しないという事実を考慮に入れるように、対象配列がＮ末端またはＣ末端の欠失のために（内部欠失が理由ではなく）、問い合わせ配列よりも短い場合、手動の補正が結果に対してなされる。問い合わせ配列に対して、Ｎ末端またはＣ末端で短縮化された対象配列について、同一性パーセントは、この問い合わせ配列の総塩基のパーセントとして、対応する対象残基と一致／整列されない対象配列のＮ末端およびＣ末端である問い合わせ配列残基の数を算定することによって補正される。残基が一致／整列されるか否かの決定は、ＦＡＳＴＤＢ配列整列の結果によって決定される。次いで、このパーセントが、特定のパラメーターを使用して上記のＦＡＳＴＤＢプログラムによって算定された同一性パーセントから差し引かれ、最終的な同一性パーセントのスコアに到達する。この最終的な同一性パーセントのスコアが、本実施形態の目的に使用されるものである。問い合わせ配列と一致／整列されいていない、対象配列のＮ末端およびＣ末端の残基のみが、同一性パーセントのスコアを手動で調整する目的で考慮される。すなわち、問い合わせ残基のみが、この対象配列の最も遠くのＮ末端残基およびＣ末端残基の外側に位置する。例えば、９０アミノ酸残基の対象配列は、同一性パーセントを決定するために１００残基の問い合わせ配列に整列される。欠失は、対象配列のＮ末端で生じ、従って、ＦＡＳＴＤＢ整列は、Ｎ末端の最初の１０残基で一致／整列を示さない。この１０の不対残基は、配列の１０％（一致していないＮ末端およびＣ末端での残基の数／問い合わせ配列中の残基の総数）を表し、そのため１０％は、ＦＡＳＴＤＢプログラムによって算定される同一性パーセントのスコアから差し引かれる。残りの９０残基が完全に一致する場合は、最終的な同一性パーセントは９０％である。別の例では、９０残基の対象配列が、１００残基の問い合わせ配列と比較される。この場合、欠失は、内部欠失であり、その結果、問い合わせと一致／整列しない対象配列のＮ末端またはＣ末端での残基は存在しない。この場合、ＦＡＳＴＤＢによって算定される同一性パーセントは手動で補正されない。再び、問い合わせ配列と一致／整列しない対象配列のＮ末端およびＣ末端の残基の外側に位置する残基のみが、ＦＡＳＴＤＢ整列で示される場合、手動で補正される。他の手動の補正は、本実施形態の目的のためにはなされない。

【０１６２】

本願はまた、n^1-m^1、および／またはn^2-m^2として本明細書中で示されるＴＲ４ポリペプチド配列に、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一なポリペプチドを含むタンパク質を結合する抗体に関する。好ましい実施形態においては、本願は、本明細書中に列挙される特定のＴＲ４のＮ末端欠失型および／またはＣ末端欠失型のアミノ酸配列を有するポリペプチドに、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一なポリペプチドを含むタンパク質を結合する抗体に関する。

【０１６３】

特定の好ましい実施形態においては、本発明の抗体は、上記されるＴＲ４融合タンパク

質を結合し、ここで、融合タンパク質のＴＲ４部分は、本明細書中でｎ^{1}－ｍ^{1}および／またはｎ^{2}－ｍ^{2}として記載されるものである。

【０１６４】

（ＴＲ７）

本発明の特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ７ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは変異体を結合する。以下の節は、さらに詳しく、本発明の抗体によって結合され得るＴＲ７のポリペプチド、フラグメントおよび変異体を記載する。本発明の抗体によって結合され得るこのＴＲ７のポリペプチド、フラグメントおよび変異体は例えば、その全体が本明細書中で参考として援用される、国際公開ＷＯ９８／４１６２９、ＷＯ００／６６１５６およびＷＯ９８／３５９８６にもまた、記載される。

【０１６５】

特定の実施形態においては、本発明の抗体は、ＴＲ７ポリペプチドを免疫特異的に結合する。いくつかの実施形態において、ＴＲ７を免疫特異的に結合する抗体は、ＴＲ７のフラグメント形態、改変体（ＴＲ７のオルソログ（ｏｒｔｈｏｌｏｇ）種を含む）、マルチマー形態または改変形態を結合し得る。例えば、ＴＲ７に対して免疫特異的な抗体は、ＴＲ７の全てまたは部分を含む融合タンパク質のＴＲ７部分を結合し得る。

【０１６６】

ＴＲ７タンパク質は、モノマーまたはマルチマー（すなわち、ダイマー、トリマー、およびより高度なマルチマー）として見出され得る。従って、本発明は、モノマーとして、またはマルチマーの部分として見出されるＴＲ７タンパク質を結合する抗体に関する。特定の実施形態においては、このＴＲ７ポリペプチドは、モノマー、ダイマー、トリマー、またはテトラマーである。さらなる実施形態においては、本発明のマルチマーは、少なくともダイマー、少なくともトリマー、または少なくともテトラマーである。

【０１６７】

本発明の抗体は、ＴＲ７ホモマー、またはＴＲ７ヘテロマーを結合し得る。本明細書中で使用される、用語「ホモマー」とは、本発明のＴＲ７タンパク質のみ（本明細書中で記載される場合、ＴＲ７のフラグメント、変異体、および融合タンパク質を含む）含むマルチマーをいう。これらのホモマーは、同一または異なるポリペプチド配列を有するＴＲ７タンパク質を含み得る。特定の実施形態においては、本発明のホモマーは、同一のポリペプチド配列を有するＴＲ７タンパク質のみを含むマルチマーである。別の特定の実施形態においては、本発明の抗体は、異なるポリペプチド配列を有するＴＲ７タンパク質を含むＴＲ７ホモマーを結合する。特定の実施形態においては、本発明の抗体は、ＴＲ７ホモダイマー（例えば、同一または異なるポリペプチド配列を有する、ＴＲ７タンパク質を含む）またはホモトリマー（例えば、同一または異なるポリペプチド配列を有する、ＴＲ７タンパク質を含む）を結合する。さらなる実施形態においては、本発明の抗体は、ＴＲ７の少なくともホモダイマー、少なくともホモトリマー、または少なくともホモテトラマーを結合する

本明細書で使用される場合、用語ヘテロマーとは、本発明のＴＲ７タンパク質に加えて、異種タンパク質（すなわち、ＴＲ７遺伝子によってコードされるポリペプチド配列に対応しないポリペプチド配列を含むタンパク質）を含むマルチマーをいう。特定の実施形態においては、本発明の抗体は、ヘテロダイマー、ヘテロトリマー、またはヘテロテトラマーを結合する。さらなる実施形態においては、本発明の抗体は、１以上のＴＲ７ポリペプチドを含む、少なくともホモダイマー、少なくともホモトリマー、または少なくともホモテトラマーを結合する。

【０１６８】

本発明の１以上の抗体によって結合されるマルチマーは、疎水性結合、親水性結合、イオン結合および／または共有結合の結果であり得、そして／あるいは例えば、リポソーム形成によって間接的に連結され得る。従って、１つの実施形態においては、本発明の１以上の抗体によって結合されるマルチマー（例えば、ホモダイマーまたはホモトリマー）は、ＴＲ７タンパク質が溶液中で互いに接触する場合に形成される。別の実施形態において

は、本発明の１以上の抗体によって結合されるヘテロマルチマー（例えば、ヘテロトリマーまたはヘテロテトラマー）は、ＴＲ７タンパク質がＴＲ７ポリペプチドに対する抗体（融合タンパク質中の異種ポリペプチド配列に対する抗体を含む）と溶液中で接触する場合に形成される。他の実施形態において、本発明の１以上の抗体によって結合されるマルチマーは、本発明のＴＲ７タンパク質との共有結合および／または本発明のＴＲ７タンパク質の間での共有結合によって形成され得る。このような共有結合は、タンパク質（例えば、配列番号３中に列挙されるポリペプチド配列、またはＡＴＴＣＣ寄託番号９７９２０の寄託されたｃＤＮＡクローンによってコードされるポリペプチド）のポリペプチド配列中に含まれる１以上のアミノ酸残基を含み得る。一例において、この共有結合は、ネイティブな（すなわち、天然に存在する）ポリペプチドにおいて相互作用するタンパク質のポリペプチド配列中に位置するシステイン残基の間での架橋である。別の例において、この共有結合は、化学的操作または組換え的操作の結果である。あるいは、このような共有結合は、ＴＲ７融合タンパク質中の異種ポリペプチド配列中に含まれる１以上のアミノ残基を含み得る。一例において、共有結合は、融合タンパク質中に含まれる異種配列の間にある（例えば、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。特定の例において、この共有結合は、（本明細書中で記載されるように）ＴＲ７－Ｆｃ融合タンパク質中に含まれる異種配列の間にある。別の特定の例において、融合タンパク質の共有結合は、例えば、オステオプロテゲリン（ｏｓｅｔｅｏｐｒｏｔｅｇｅｒｉｎ）のような共有結合したマルチマーを形成し得る別のＴＮＦファミリーリガンド／レセプターメンバー由来の異種ポリペプチド配列の間にある（例えば、国際公開ＷＯ９８／４９３０５を参照のこと、この内容は、本明細書中でその全体が参考として援用される）。

【０１６９】

本発明の１以上の抗体によって結合され得るマルチマーは、当該分野で公知の化学技術を使用して生成され得る。例えば、本発明のマルチマーに含まれることが所望されるタンパク質は、当該分野で公知のリンカー分子およびリンカー分子長最適化技術を使用して化学的に架橋され得る（例えば、本明細書中でその全体が参考として援用される、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。さらに、本発明の１以上の抗体によって結合され得るマルチマーは、当該分野で公知の技術を使用して、生成され得て、そのマルチマーに含まれることが所望されるタンパク質のポリペプチド配列内に位置されるシステイン残基の間の１以上の分子間架橋を形成する（例えば、本明細書中でその全体が参考として援用される、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。さらに、本発明の１以上の抗体によって結合され得るタンパク質は、このタンパク質のポリペプチド配列のＣ末端またはＮ末端へのシステインまたはビオチンの付加によって慣用的に改変され得、そして当該分野で公知の技術が、１以上のこれらの改変されたタンパク質を含むマルチマーを作製するために適用され得る（例えば、本明細書中でその全体が参考として援用される、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。さらに、当該分野で公知の技術が、本発明の１以上の抗体によって結合され得るマルチマーに含まれることが所望されるタンパク質成分を含むリポソームを生成するために適用され得る（例えば、本明細書中にその全体が参考として援用される、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。

【０１７０】

あるいは、本発明の１以上の抗体によって結合され得るマルチマーは、当該分野で、公知の遺伝子操作技術を使用して作成され得る。１つの実施形態においては、本発明の１以上の抗体によって結合され得るマルチマーに含まれるタンパク質は、本明細書中で記載されるかそうでなければ当該分野で公知の、融合タンパク質技術を使用して組換え的に産生される（例えば、本明細書中でその全体が参考として援用される、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。特定の実施形態においては、本発明の１以上の抗体によって結合され得るホモダイマーをコードするポリヌクレオチドは、ＴＲ７ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を、リンカーポリペプチドをコードする配列に連結し、次いでさらに本来のＣ末端からＮ末端へとは、逆方向でポリペプチドの翻訳産物をコードする合成ポリペプチド（リーダー配列を欠く）に連結することによって作成される（例えば、

本明細書中でその全体が参考として援用される、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。別の実施形態においては、本明細書中で記載されるかそうでなければ当該分野で公知の組換え技術は、膜貫通ドメインを含む組換えＴＲ７ポリペプチド作成するために適用され得、そして組換え技術は、リポソーム内への膜の再構築技術によって取り込まれ得る（例えば、本明細書中でその全体が参考として援用される、米国特許第５，４７８，９２５号を参照のこと）。別の実施形態においては、２以上のＴＲ７ポリペプチドは、合成リンカー（例えば、ペプチド、糖質または可溶性ポリマーリンカー）を介して、結合される。例としては、米国特許第５，０７３，６２７号（本明細書で参考として援用される）に記載されるペプチドリンカーを含む。ペプチドリンカーによって分離された複数のＴＲ７ポリペプチドを含むタンパク質は、従来の組換えＤＮＡ技術を使用して生成され得る。特定の実施形態においては、本発明の抗体は、ペプチドリンカーによって分離された複数のＴＲ７ポリペプチドを含むタンパクを結合する。

【０１７１】

マルチマーＴＲ７ポリペプチドを調製するための別の方法は、ロイシンジッパーまたはイソロイシンポリペプチド配列に融合したＴＲ７ポリペプチドの使用を含む。ロイシンジッパードメインおよびイソロイシンジッパードメインは、それらが見出されるタンパク質の多量体化を促進するポリペプチドである。ロイシンジッパーは、元々いくつかのＤＮＡ結合タンパク質中で同定され（Ｌａｎｄｓｃｈｕｌｚら、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１７５９（１９８８））、そして種々の異なるタンパク質中に以前から見出されている。公知のロイシンジッパーは、天然に存在する二量体化または三量体化するペプチドおよびその誘導体である。可溶性マルチマーＴＲ７タンパク質を生成するのに適したロイシンジッパードメインの例は、ＰＣＴ出願ＷＯ９４／１０３０８に記載され、これは、本明細書中で参考として援用される。溶液中で二量体化または三量体化するペプチドに融合した可溶性ＴＲ７ポリペプチドを含む組換え融合タンパク質は、適切な宿主細胞中で発現され、そして生じた可溶性マルチマーＴＲ７は、当該分野において公知の技術を用いて培養上清から回収される。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ７ロイシンジッパー融合タンパク質モノマーおよび／またはＴＲ７ロイシンジッパー融合タンパク質マルチマーに結合する。

【０１７２】

タンパク質のＴＮＦファミリーの特定のメンバーは、トリマー形態で存在すると考えられる（ＢｅｕｔｌｅｒおよびＨｕｆｆｅｌ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６４：６６７，１９９４；Ｂａｎｎｅｒら、Ｃｅｌｌ ７４：４３１，１９９３）。従って、トリマーＴＲ７は、増強された生物学的活性の利点を提供し得る。好ましいロイシンジッパー部分は、優先的にトリマー形態である。１つの実施例は、肺表面活性タンパク質Ｄ（ｌｕｎｇ ｓｕｒｆａｃｔａｎｔ ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄ（ＳＰＤ）由来のロイシンジッパーであり、本明細書中で参考として援用される、Ｈｏｐｐｅら（ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔｅｒｓ ３４４：１９１，（１９９４））および米国特許出願番号０８／４４６，９２２に記載されるとおりである。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ７ロイシンジッパー融合タンパク質トリマーに結合する。

【０１７３】

天然に存在するトリマータンパク質由来の他のペプチドは、トリマーＴＲ７の調製において用いられ得る。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ７融合タンパク質モノマーおよび／またはＴＲ７融合タンパク質トリマーに結合する。

【０１７４】

ＴＲ７レセプターポリペプチドに結合する抗体は、単離されたポリペプチドとしてか、またはその天然に存在する状態でそれに結合し得る。「単離されたポリペプチド」は、その自然環境から取り出されたポリペプチドを意図する。従って、組換え宿主細胞内で生成され、そして／またはその内に含まれるポリペプチドは、本発明の目的のために単離されたとみなされる。組換え宿主細胞から部分的または実質的に精製されたポリペプチドもまた、「単離されたポリペプチド」として意図される。例えば、ＴＲ７ポリペプチドの組換

え生成された型は、ＳｍｉｔｈおよびＪｏｈｎｓｏｎ，Ｇｅｎｅ ６７：３１～４０（１９８８）に記載される１工程の方法によって、実質的に精製される。従って、本発明の抗体は、組換え生成されたＴＲ７レセプターポリペプチドに結合し得る。特定の実施形態において、本発明の抗体は、遺伝子発現を制御する調節配列と作動可能に結合した、配列番号３のアミノ酸１～４１１をコードするポリヌクレオチドを含む細胞の表面で発現されるＴＲ７レセプターに結合する。

【０１７５】

本発明の抗体は、ＡＴＣＣ受託番号９７９２０に含まれるｃＤＮＡによってコードされるか、もしくはＡＴＣＣ受託番号９７９２０に含まれるヌクレオチド配列にハイブリダイズ（例えば、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で）する核酸によってコードされる、配列番号３に含まれるアミノ酸配列、またはその相補鎖を含むか、あるいはそれからなるポリペプチドを含む、ＴＲ７ポリペプチドまたはＴＲ７ポリペプチドフラグメントに結合し得る。タンパク質フラグメントは、「自由鎖」であり得るか、またはフラグメントが部分または領域を、最も好ましくは単一の連続した領域として形成する、より大きなポリペプチドを構成し得る。本発明の抗体は、ポリペプチドフラグメントに結合し得、このポリペプチドフラグメントとしては、例えば、以下のアミノ酸残基を含むか、あるいはこれらからなるフラグメントが挙げられる：配列番号３の１～５１、５２～７８、７９～９１、９２～１１１、１１２～１３４、１３５～１５１、１５２～１７８、１７９～１８０、１８１～２０８、２０９～２１８、２１９～２３１、２３２～２５１、２５２～２７１、２７２～２９１、２９２～３１１、３１２～３２３、３２４～３６１、３６２～３９１、３９２～４１１。この文脈において「約」は、いずれかの末端または両方の末端でのいくつか（５個、４個、３個、２個または１個）のアミノ酸だけより大きいかまたは小さい、特定の列挙された範囲を含む。さらに、ポリペプチドフラグメントは、少なくとも約１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１１０、１２０、１３０、１４０または１５０のアミノ酸長であり得る。この文脈において、「約」は、いずれかの末端または両方の末端でのいくつかの（５個、４個、３個、２個または１個）のアミノ酸だけより大きいかまたはより小さい、特定の列挙された値を含む。

【０１７６】

本発明の好ましいポリペプチドフラグメントとしては、以下の群から選択されるメンバーが挙げられる：ＴＲ７レセプター細胞外ドメインを含むか、あるいはそれからなるポリペプチド（配列番号３中の約５２～約１８４のアミノ酸残基を構築すると予測される）；ＴＲ７システインリッチドメインの両方（これら両方は、配列番号３中の約８４～約１７９のアミノ酸残基からなるタンパク質フラグメント中で見出され得る）を含むか、あるいはそれからなるポリペプチド；配列番号３の約８４～約１３１のアミノ酸残基からなるＴＲ７システインリッチドメインを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチド；配列番号３の約１３２～約１７９のアミノ酸残記からなるＴＲ７システインリッチドメインを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチド；ＴＲ７レセプター膜貫通ドメイン（配列番号３中の約１８５～約２０８のアミノ酸残基を構築すると予測される）を含むか、あるいはそれからなるポリペプチド；予測される成熟ＴＲ７ポリペプチドのフラグメントを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドであって、ここでこのフラグメントは、ＴＲ７の機能的活性（例えば、抗原性活性または生物学的活性）を有する；ＴＲ７レセプター細胞内ドメイン（配列番号３中の約２０９～約４１１のアミノ酸残基を構築すると予測される）を含むか、あるいはそれからなるポリペプチド；全てまたは一部の膜貫通ドメインが欠失した、ＴＲ７レセプターの細胞外ドメインおよび細胞内ドメインを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチド；ＴＲ７レセプター死（ｄｅａｔｈ）ドメイン（配列番号３中の約３２４～約３９１のアミノ酸残基を構成すると予測される）を含むか、あるいはそれからなるポリペプチド；ならびにＴＲ７レセプタータンパク質の１部を保有する１、２、３、４以上のエピトープを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチド。さらなる実施形態において、本発明のポリペプチドフラグメントは、上記メンバーの１、２、３、４、５、６、７、または８つ全ての任意の組み合わせを含むか、あるいはそれらからなる。

上記のように、リーダー配列とともにＴＲ７レセプター細胞外ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインを構成するアミノ酸残基は、コンピュータ分析によって予測される。従って、当業者は、これらのドメインからなるアミノ酸残基は、各ドメインを規定するために使用される規準に依存してわずかに変化し得る（例えば、約１～約１５のアミノ酸残基だけ）。これらの核酸および分子によってコードされるポリペプチドもまた、本発明に包含される。

【０１７７】

上記のように、ＴＲ７の１つまたは両方の細胞外システインリッチモチーフは、ＴＲ７とそのリガンド（例えば、ＴＲＡＩＬ）との間の相互作用のために重要であると考えられる。従って、非常に好ましい実施形態において、本発明の抗体は、配列番号３の８４～１３１および／または１３２～１７９のアミノ酸残基を含むか、あるいはそれらからなるＴＲ７ポリペプチドフラグメントに結合する。別の非常に好ましい実施形態において、本発明の抗体は、細胞外システインリッチモチーフ（配列番号３の８４～１７９のアミノ酸残基）の両方を含むか、あるいはそれらからなるＴＲ７ポリペプチドに結合する。別の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ７の細胞外可溶性ドメイン（配列番号２の５２～１８４のアミノ酸残基）を含むか、あるいはそれらからなるＴＲ７ポリペプチドに結合する。他の非常に好ましい実施形態において、ＴＲ７の細胞外可溶性ドメイン（例えば、１つまたは両方のシステインリッチドメイン）の全てまたは一部に結合する本発明の抗体は、ＴＲ７レセプターをアゴナイズする。

【０１７８】

他の非常に好ましい実施形態において、ＴＲ７の細胞外可溶性ドメイン（例えば、１つまたは両方のシステインリッチドメイン）の全てまたは一部に結合する本発明の抗体は、ＴＲ７レセプターを発現する細胞の細胞死を誘導する。

【０１７９】

本発明の抗体はまた、ＴＲ７の構造的性質または機能的性質を含むか、あるいはそれらからなるフラグメントに結合し得る。このようなフラグメントとしては、以下を含むアミノ酸残基が挙げられる：ＴＲ７のα－ヘリックスおよびα－ヘリックス形成領域（「α－領域」）、β－シートおよびβ－シート形成領域（「β－シート領域」）、ターンおよびターン形成領域（「ターン領域」）、コイル領域およびコイル形成領域（「コイル領域」）、親水性領域、疎水性領域、α両親媒性領域、β両親媒性領域、表面形成領域、ならびに高度に抗原性の指標領域（すなわち、Ｊａｍｅｓｏｎ－Ｗｏｌｆプログラムの初期設定パラメータを用いて同定される場合、１．５の抗原性指標、または１．５よりも大きい抗原性指標を有するアミノ酸残基からなるポリペプチドの領域）。特定の好ましい領域は、表４に開示される領域であり、そしてこれらとしては以下が挙げられるが、それらに限定されない：配列番号３のアミノ酸配列の分析によって同定された上述の型の領域、このような好ましい領域としては以下が挙げられる；Ｇａｒｎｉｅｒ　Ｒｏｂｓｏｎの予測したα領域、β領域、ターン領域、およびコイル領域；Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎの予測したα領域、β領域、およびターン領域；Ｋｙｔｅ－Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅの予測した親水性領域およびＨｏｐｐ－Ｗｏｏｄｓの予測した疎水性領域、Ｅｉｓｅｎｂｅｒｇのαおよびβ両親媒性領域；Ｅｍｉｎｉ表面形成領域；ならびにこれらのコンピュータプログラムの初期設定パラメータを用いて予測されるようなＪａｍｅｓｏｎ－Ｗｏｌｆの高い抗原性指標の領域。

【０１８０】

上記のような表４に記載されるＴＲ７の構造的性質または機能的性質を表すデータは、初期設定パラメータに設定されたＤＮＡ＊ＳＴＡＲの種々のモジュールおよびアルゴリズムを用いて生成された。列Ｉは、αヘリックス領域のＧａｒｎｉｅｒ－Ｒｏｂｓｏｎ分析の結果を示す；列ＩＩは、αヘリックス領域のＣｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎ分析の結果を示す；列ＩＩＩは、βシート領域のＧａｒｎｉｅｒ－Ｒｏｂｓｏｎ分析の結果を示す；列ＩＶは、βシート領域のＣｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎ分析の結果を示す；列Ｖは、ターン領域のＧａｒｎｉｅｒ－Ｒｏｂｓｏｎ分析の結果を示す；列ＶＩは、ターン領域のＣｈｏｕ－Ｆａ

ｓｍａｎ分析の結果を示す；列ＶＩＩは、コイル領域のＧａｒｎｉｅｒ－Ｒｏｂｓｏｎ分析の結果を示す；列ＶＩＩＩは、Ｋｙｔｅ－Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ親水性プロットを示す；列ＩＸは、Ｈｏｐｐ－Ｗｏｏｄｓ疎水性プロットを示す；列Ｘは、α両親媒性領域のＥｉｓｅｎｂｅｒｇ分析の結果を示す；列ＸＩは、β両親媒性領域のＥｉｓｅｎｂｅｒｇ分析の結果を示す；列ＸＩＩは、可変性領域のＫａｒｐｌｕｓ－Ｓｃｈｕｌｔｚ分析の結果を示す；列ＸＩＩＩは、Ｊａｍｅｓｏｎ－Ｗｏｌｆ抗原性指標スコアを示す；そして列ＸＩＶは、Ｅｍｉｎｉ表面可能性プロットを示す。

【０１８１】

好ましい実施形態において、表４の列ＶＩＩＩ、ＩＸ、ＸＩＩＩおよびＸＩＶ中に示されるデータは、抗原性に対する高程度の可能性を示すＴＲ７の領域を決定するために使用され得る。高度に抗原性の領域は、抗原認識が、免疫応答の開始プロセスで生じ得る環境中のポリペプチドの表面上に露出される可能性があるポリペプチドの領域を示す値を選択することによって、列ＶＩＩＩ、ＩＸ、ＸＩＩＩおよび／またはＸＩＶ中に示されるデータから決定される。表４における列は、ＴＲ７タンパク質配列の異なる分析結果を示す。

【０１８２】

表４に記載される上記の好ましい領域としては、配列番号３に記載されるアミノ酸配列の分析によって同定される上述の型の領域が挙げられるが、これに限定されない。表４に示されるように、このような好ましい領域としては、Ｇａｒｎｉｅｒ－Ｒｏｂｓｏｎのα領域、β領域、ターン領域、およびコイル領域、Ｃｈｏｕ－Ｆａｓｍａｎのα領域、β領域、およびターン領域、Ｋｙｔｅ－Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅの親水性領域、Ｅｉｓｅｎｂｅｒｇのα両親媒性領域およびβ両親媒性領域、Ｋａｒｐｌｕｓ－Ｓｃｈｕｌｚ可変性領域、高い抗原性指標のＪａｍｅｓｏｎ－Ｗｏｌｆ領域、ならびにＥｍｉｎｉ表面形成領域が挙げられる。好ましくは、本発明の抗体は、ＴＲ７ポリペプチドまたはＴＲ７ポリペプチドフラグメント、およびいくつかの構造的特徴を組み合わせるＴＲ７の領域を含む改変体（例えば、上述、および表４に示されるいくつか（例えば、１個、２個、３個、または４個）の同じか、または異なる領域の特徴）に結合する。

【０１８３】

【表４－１】

表4

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Met	1	A	.	.	.	.	.	.	1.11	-0.70	.	*	.	1.29	2.18
Glu	2	A	.	.	.	.	.	.	1.50	-0.70	.	*	.	1.63	1.69
Gln	3	A	.	.	.	.	T	.	1.89	-0.73	.	*	.	2.17	2.28
Arg	4	.	.	.	.	T	T	.	1.69	-0.76	.	*	.	2.91	3.71
Gly	5	.	.	.	.	T	T	.	1.87	-0.87	.	*	F	3.40	2.17
Gln	6	.	.	.	.	T	T	.	1.88	-0.44	.	*	F	2.76	1.93
Asn	7	.	.	.	.	.	.	C	1.29	-0.34	.	*	F	1.87	1.00
Ala	8	.	.	.	.	.	.	C	0.99	0.16	.	.	F	1.08	1.02
Pro	9	.	.	.	.	.	.	C	0.53	0.11	.	*	.	0.44	0.79
Ala	10	A	.	.	.	.	.	.	0.29	0.14	.	*	.	-0.10	0.48
Ala	11	A	.	.	.	.	T	.	0.40	0.24	.	.	.	0.10	0.48
Ser	12	A	.	.	.	.	T	.	0.44	-0.26	.	*	F	0.85	0.61
Gly	13	A	.	.	.	.	T	.	1.14	-0.69	.	*	F	1.30	1.22
Ala	14	A	.	.	.	.	T	.	1.32	-1.19	.	*	F	1.30	2.36
Arg	15	A	.	.	.	T	.	.	1.57	-1.19	.	*	F	1.50	2.39
Lys	16	.	.	.	.	T	.	.	1.94	-1.14	.	.	F	1.50	2.39
Arg	17	.	.	.	.	T	.	.	1.90	-1.14	.	*	F	1.80	3.66
His	18	.	.	.	.	.	.	C	2.03	-1.21	*	*	F	1.90	1.85
Gly	19	.	.	.	.	.	T	C	2.73	-0.79	*	*	F	2.40	1.43
Pro	20	.	.	.	.	.	T	C	2.62	-0.79	*	*	F	2.70	1.43
Gly	21	.	.	.	.	.	T	C	1.99	-0.79	*	.	F	3.00	1.82
Pro	22	.	.	.	.	.	T	C	1.99	-0.79	.	*	F	2.70	1.86
Arg	23	.	A	.	.	.	.	C	1.68	-1.21	*	.	F	2.30	2.35
Glu	24	.	A	B	.	.	.	.	1.43	-1.21	*	.	F	2.10	2.35
Ala	25	.	A	.	.	T	.	.	1.76	-1.14	*	.	F	2.50	1.54
Arg	26	.	A	.	.	T	.	.	1.89	-1.57	*	.	F	2.50	1.54
Gly	27	.	.	.	.	T	.	.	1.76	-1.14	*	.	F	3.00	1.37
Ala	28	.	.	.	.	T	.	C	1.43	-0.71	*	*	F	2.70	1.35
Arg	29	.	.	.	.	.	T	C	1.54	-0.79	*	*	F	2.66	1.06
Pro	30	.	.	.	.	.	T	C	1.28	-0.79	*	*	F	2.62	2.10
Gly	31	.	.	.	.	.	T	C	0.96	-0.57	*	*	F	2.58	1.54
Pro	32	.	.	.	.	.	T	C	1.34	-0.64	*	*	F	2.54	1.22
Arg	33	.	.	.	.	.	.	C	1.62	-0.64	*	*	F	2.60	1.58
Val	34	.	.	.	.	.	.	C	0.70	-0.59	*	*	F	2.34	2.30
Pro	35	.	.	B	.	.	.	.	0.06	-0.33	*	*	F	1.58	1.23
Lys	36	.	.	B	B	.	.	.	-0.41	-0.11	*	.	F	0.97	0.46
Thr	37	.	.	B	B	.	.	.	-1.06	0.57	*	*	F	-0.19	0.52
Leu	38	.	.	B	B	.	.	.	-2.02	0.57	*	*	.	-0.60	0.25
Val	39	.	.	B	B	.	.	.	-1.76	0.79	.	.	.	-0.60	0.09
Leu	40	A	.	.	B	.	.	.	-2.13	1.29	.	.	.	-0.60	0.06
Val	41	A	.	.	B	.	.	.	-3.03	1.30	.	.	.	-0.60	0.08
Val	42	A	.	.	B	.	.	.	-3.53	1.26	.	.	.	-0.60	0.08
Ala	43	A	.	.	B	.	.	.	-3.53	1.30	.	.	.	-0.60	0.08
Ala	44	A	.	.	B	.	.	.	-3.49	1.30	.	.	.	-0.60	0.09
Val	45	A	.	.	B	.	.	.	-3.53	1.34	.	.	.	-0.60	0.10
Leu	46	A	.	.	B	.	.	.	-2.98	1.34	.	.	.	-0.60	0.07
Leu	47	A	.	.	B	.	.	.	-2.71	1.23	.	.	.	-0.60	0.09
Leu	48	A	.	.	B	.	.	.	-2.12	1.23	.	.	.	-0.60	0.13
Val	49	A	.	.	B	.	.	.	-1.83	0.59	.	.	.	-0.60	0.27
Ser	50	A	.	.	B	.	.	.	-1.57	0.29	.	*	.	-0.30	0.44

【０１８４】

【表４－２】

表4(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Ala	51	A	A	.	.	.	.	.	-1.57	0.10	.	.	.	-0.30	0.54
Glu	52	A	A	.	.	.	.	.	-1.64	0.10	.	.	.	-0.30	0.60
Ser	53	A	A	.	B	.	.	.	-1.14	0.14	.	.	.	-0.30	0.31
Ala	54	A	A	.	B	.	.	.	-0.29	0.24	.	.	.	-0.30	0.45
Leu	55	A	A	.	B	.	.	.	0.01	0.14	.	.	.	-0.30	0.45
Ile	56	A	A	.	B	.	.	.	0.60	0.54	.	.	.	-0.60	0.58
Thr	57	A	A	.	B	.	.	.	-0.21	0.16	.	.	F	-0.15	0.96
Gln	58	A	A	.	B	.	.	.	-0.50	0.34	.	.	F	-0.15	0.96
Gln	59	A	A	.	B	.	.	.	-0.12	0.16	.	.	F	0.00	1.38
Asp	60	.	A	.	B	T	.	.	0.69	-0.10	.	.	F	1.00	1.48
Leu	61	.	A	.	.	.	.	C	1.58	-0.19	.	*	F	0.80	1.48
Ala	62	.	A	.	.	.	.	C	2.00	-0.19	.	*	F	0.80	1.48
Pro	63	.	A	.	.	.	.	C	1.41	-0.59	.	*	F	1.10	1.73
Gln	64	.	A	.	.	T	.	.	0.82	-0.09	.	*	F	1.00	2.13
Gln	65	A	A	.	.	.	.	.	0.61	-0.27	.	*	F	0.60	2.13
Arg	66	A	A	.	.	.	.	.	1.42	-0.34	.	*	F	0.60	2.13
Ala	67	A	A	.	.	.	.	.	2.01	-0.37	.	*	F	0.94	2.13
Ala	68	A	A	.	.	.	.	.	2.27	-0.37	*	*	F	1.28	2.13
Pro	69	A	A	.	.	.	.	.	2.38	-0.77	*	*	F	1.92	2.17
Gln	70	.	A	.	.	T	.	.	2.08	-0.77	*	.	F	2.66	4.21
Gln	71	.	.	.	.	T	T	.	1.67	-0.89	*	*	F	3.40	5.58
Lys	72	.	.	.	.	T	T	.	2.04	-1.00	.	.	F	3.06	4.84
Arg	73	.	.	.	.	T	T	.	2.33	-1.00	.	.	F	2.97	4.32
Ser	74	.	.	.	.	.	T	C	2.54	-1.01	.	.	F	2.68	3.34
Ser	75	.	.	.	.	.	T	C	2.20	-1.41	.	.	F	2.59	2.89
Pro	76	.	.	.	.	T	T	.	1.39	-0.99	.	.	F	2.70	1.46
Ser	77	.	.	.	.	T	T	.	0.68	-0.30	.	.	F	2.50	0.90
Glu	78	.	.	.	.	T	T	.	0.36	-0.11	.	*	F	2.25	0.36
Gly	79	.	.	.	.	T	.	.	0.44	-0.07	.	.	F	1.80	0.36
Leu	80	.	.	.	.	T	.	.	0.40	-0.07	.	.	F	1.55	0.42
Cys	81	.	.	.	.	.	.	C	0.58	-0.03	.	.	.	0.95	0.24
Pro	82	.	.	.	.	.	T	C	0.84	0.47	*	.	F	0.15	0.33
Pro	83	.	.	.	.	T	T	.	-0.04	0.54	*	.	F	0.35	0.54
Gly	84	.	.	.	.	T	T	.	0.00	0.54	*	.	.	0.20	0.70
His	85	.	.	.	.	.	T	C	0.81	0.36	*	.	.	0.30	0.61
His	86	.	.	.	.	.	.	C	1.48	-0.07	*	.	.	0.70	0.68
Ile	87	.	.	.	.	.	.	C	1.34	-0.50	*	*	.	1.19	1.15
Ser	88	.	.	.	.	.	.	C	1.67	-0.50	*	*	F	1.53	0.84
Glu	89	.	.	.	.	T	.	.	2.01	-1.00	*	*	F	2.52	1.21
Asp	90	.	.	.	.	T	.	.	1.38	-1.50	*	*	F	2.86	2.88
Gly	91	.	.	.	.	T	T	.	0.52	-1.61	*	*	F	3.40	1.15
Arg	92	.	.	.	.	T	T	.	1.11	-1.31	*	*	F	2.91	0.47
Asp	93	.	.	.	.	T	T	.	0.74	-0.93	.	*	F	2.57	0.37
Cys	94	.	.	.	.	T	T	.	0.79	-0.36	.	*	.	1.78	0.20
Ile	95	.	.	.	.	T	.	.	0.54	-0.79	.	*	.	1.54	0.21
Ser	96	.	.	.	.	T	.	.	0.54	-0.03	.	*	.	1.18	0.19
Cys	97	.	.	.	.	T	T	.	0.43	0.40	.	*	.	0.76	0.36
Lys	98	.	.	.	.	T	T	.	0.43	0.23	.	.	.	1.34	0.88
Tyr	99	.	.	.	.	T	T	.	0.86	-0.46	.	*	F	2.52	1.10
Gly	100	.	.	.	.	T	T	.	1.44	-0.09	.	*	F	2.80	3.22

【０１８５】

【表４－３】

表4

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Gln	101	.	.	.	.	T	T	.	1.43	-0.27	*	.	F	2.52	2.16
Asp	102	.	.	.	.	T	T	.	2.07	0.21	*	*	F	1.64	1.99
Tyr	103	.	.	.	.	T	T	.	1.73	-0.04	*	*	F	1.96	2.73
Ser	104	.	.	.	.	T	T	.	1.98	0.44	*	.	F	0.78	1.66
Thr	105	.	.	.	.	T	.	.	2.32	0.44	*	.	F	0.30	1.60
His	106	.	.	.	.	T	.	.	1.51	0.44	*	.	.	0.15	1.70
Trp	107	.	.	.	.	T	T	.	0.70	0.37	*	.	.	0.65	1.05
Asn	108	.	.	.	.	T	T	.	0.24	0.67	.	.	.	0.20	0.60
Asp	109	.	.	.	.	T	T	.	-0.12	0.97	*	.	.	0.20	0.38
Leu	110	A	.	.	.	.	T	.	-0.62	1.04	*	*	.	-0.20	0.19
Leu	111	.	.	.	B	T	.	.	-0.48	0.81	*	*	.	-0.20	0.10
Phe	112	.	.	.	B	T	.	.	-0.86	0.41	*	*	.	-0.20	0.12
Cys	113	.	.	.	B	T	.	.	-1.17	0.99	*	*	.	-0.20	0.08
Leu	114	.	.	.	B	T	.	.	-1.06	0.79	.	*	.	-0.20	0.13
Arg	115	.	.	.	B	T	.	.	-0.91	0.10	.	*	.	0.10	0.30
Cys	116	.	.	.	B	T	.	.	-0.10	-0.11	.	.	.	0.70	0.30
Thr	117	.	.	.	B	T	.	.	0.30	-0.69	.	*	.	1.00	0.61
Arg	118	.	.	.	B	T	.	.	0.62	-0.99	.	.	F	1.49	0.42
Cys	119	.	.	.	.	T	T	.	1.43	-0.56	*	.	F	2.23	0.77
Asp	120	.	.	.	.	T	T	.	0.47	-1.13	*	.	F	2.57	0.92
Ser	121	.	.	.	.	T	T	.	1.13	-0.97	.	*	F	2.91	0.35
Gly	122	.	.	.	.	T	T	.	0.63	-0.97	.	*	F	3.40	1.13
Glu	123	.	A	.	.	T	.	.	0.22	-0.86	.	*	F	2.51	0.56
Val	124	A	A	.	.	.	.	.	0.68	-0.47	.	*	F	1.47	0.56
Glu	125	.	A	.	.	T	.	.	0.01	-0.43	.	*	.	1.38	0.87
Leu	126	.	A	.	.	T	.	.	0.00	-0.29	.	*	.	1.04	0.27
Ser	127	.	.	.	.	.	T	C	0.03	0.20	.	*	F	0.45	0.52
Pro	128	.	.	.	.	T	T	.	-0.28	0.04	.	*	F	0.93	0.44
Cys	129	.	.	.	.	T	T	.	0.69	0.53	.	*	F	0.91	0.77
Thr	130	.	.	.	.	T	T	.	0.69	-0.16	.	*	F	2.24	1.12
Thr	131	.	.	.	.	T	.	.	1.19	-0.14	.	*	F	2.32	1.16
Thr	132	.	.	.	.	T	T	.	0.63	-0.09	.	*	F	2.80	3.13
Arg	133	.	.	.	.	T	T	.	0.18	-0.01	.	.	F	2.52	1.61
Asn	134	.	.	.	.	T	T	.	0.84	0.07	.	.	F	1.49	0.60
Thr	135	.	.	.	.	T	T	.	0.49	-0.01	.	.	F	1.81	0.72
Val	136	.	.	.	.	T	.	C	0.80	0.07	*	.	.	0.58	0.20
Cys	137	.	A	.	.	T	.	.	1.11	0.07	*	.	.	0.10	0.21
Gln	138	.	A	B	.	.	.	.	0.66	-0.33	*	.	.	0.30	0.25
Cys	139	.	A	.	.	T	.	.	0.34	-0.39	.	.	.	0.70	0.34
Glu	140	A	A	.	.	.	.	.	-0.04	-0.54	*	*	F	0.75	0.91
Glu	141	A	A	.	.	.	.	.	0.92	-0.33	*	*	F	0.45	0.46
Gly	142	.	A	.	.	T	.	.	1.59	-0.73	.	*	F	1.30	1.67
Thr	143	A	A	.	.	.	.	.	1.59	-1.30	.	*	F	0.90	1.67
Phe	144	A	A	.	.	.	.	.	2.26	-1.30	.	*	F	0.90	1.67
Arg	145	A	A	.	.	.	.	.	1.96	-1.30	.	*	F	0.90	2.81
Glu	146	A	A	.	.	.	.	.	1.74	-1.34	.	*	F	0.90	2.61
Glu	147	A	A	.	.	.	.	.	2.09	-1.40	.	*	F	0.90	4.66
Asp	148	A	A	.	.	.	.	.	1.80	-2.19	.	*	F	0.90	4.12
Ser	149	A	.	.	.	.	T	.	1.83	-1.57	.	*	F	1.30	2.35
Pro	150	A	.	.	.	.	T	.	1.83	-1.00	.	.	F	1.15	0.73

【０１８６】

【表４－４】

表4(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Glu	151	A	.	.	.	.	T	.	1.88	-1.00	*	.	F	1.15	0.85
Met	152	A	.	.	.	.	T	.	1.21	-1.00	*	*	.	1.49	1.28
Cys	153	A	.	.	.	.	T	.	1.32	-0.81	*	*	.	1.68	0.44
Arg	154	A	.	.	.	.	T	.	1.31	-1.24	*	.	.	2.02	0.50
Lys	155	.	.	.	.	T	T	.	1.18	-0.76	*	*	F	2.91	0.73
Cys	156	.	.	.	.	T	T	.	0.51	-0.94	*	.	F	3.40	1.35
Arg	157	.	.	.	.	T	.	.	0.90	-0.94	*	.	F	2.71	0.37
Thr	158	.	.	.	.	T	.	.	1.68	-0.51	*	.	F	2.37	0.28
Gly	159	.	.	.	.	T	.	.	1.22	-0.51	*	.	F	2.43	1.04
Cys	160	.	.	.	.	.	T	C	0.58	-0.66	.	*	F	2.19	0.53
Pro	161	.	.	.	.	T	T	.	0.39	-0.04	.	*	F	2.00	0.36
Arg	162	.	.	.	.	T	T	.	0.32	0.11	.	*	F	1.65	0.27
Gly	163	.	.	.	.	T	T	.	-0.22	-0.31	*	*	.	2.50	1.01
Met	164	.	.	B	B	.	.	.	-0.22	-0.24	*	*	.	1.30	0.48
Val	165	.	.	B	B	.	.	.	0.44	-0.24	*	*	.	1.30	0.24
Lys	166	.	.	B	B	.	.	.	-0.01	-0.24	*	*	.	1.30	0.41
Val	167	.	.	B	.	.	T	.	-0.43	-0.10	*	*	F	1.85	0.22
Gly	168	.	.	.	.	T	T	.	-0.30	-0.23	.	.	F	2.25	0.44
Asp	169	.	.	.	.	T	T	.	0.01	-0.44	.	.	F	2.50	0.34
Cys	170	.	.	.	.	T	T	.	0.57	0.47	.	*	F	1.35	0.48
Thr	171	.	.	.	.	.	T	C	0.52	0.21	.	*	F	1.20	0.65
Pro	172	.	.	.	.	T	T	.	0.49	-0.21	.	*	F	1.75	0.65
Trp	173	.	.	.	.	T	T	.	0.83	0.47	.	*	F	0.60	0.84
Ser	174	A	.	.	.	.	T	.	0.17	-0.10	.	*	F	1.00	1.01
Asp	175	A	A	.	.	.	.	.	-0.02	-0.01	.	.	F	0.45	0.35
Ile	176	A	A	.	.	.	.	.	0.26	0.20	*	*	.	-0.30	0.25
Glu	177	A	A	.	.	.	.	.	0.51	-0.21	*	.	.	0.30	0.25
Cys	178	A	A	.	.	.	.	.	0.80	-0.60	*	.	.	0.60	0.30
Val	179	A	A	.	.	.	.	.	0.80	-0.60	*	*	.	0.60	0.74
His	180	A	A	.	.	.	.	.	0.46	-0.90	.	*	.	0.60	0.58
Lys	181	A	A	.	.	.	.	.	0.46	-0.47	*	.	F	0.60	1.06
Glu	182	A	.	.	.	.	T	.	-0.43	-0.36	*	.	F	1.00	1.00
Ser	183	A	.	.	.	.	T	.	-0.66	-0.31	.	.	F	0.85	0.52
Gly	184	A	.	.	.	T	T	.	-0.14	-0.13	.	.	F	1.25	0.18
Ile	185	A	.	.	.	.	T	.	-0.97	0.30	.	.	.	0.10	0.10
Ile	186	.	.	B	B	.	.	.	-1.32	0.94	.	*	.	-0.60	0.06
Ile	187	.	.	B	B	.	.	.	-2.18	1.04	.	.	.	-0.60	0.08
Gly	188	.	.	B	B	.	.	.	-2.47	1.26	.	*	.	-0.60	0.09
Val	189	.	.	B	B	.	.	.	-2.71	1.07	.	.	.	-0.60	0.13
Thr	190	A	.	.	B	.	.	.	-2.68	0.89	.	*	.	-0.60	0.18
Val	191	A	.	.	B	.	.	.	-2.64	0.84	.	.	.	-0.60	0.14
Ala	192	A	.	.	B	.	.	.	-2.57	1.06	.	*	.	-0.60	0.14
Ala	193	A	.	.	B	.	.	.	-3.11	1.10	.	.	.	-0.60	0.08
Val	194	A	.	.	B	.	.	.	-3.11	1.30	.	.	.	-0.60	0.07
Val	195	A	.	.	B	.	.	.	-3.39	1.30	.	.	.	-0.60	0.05
Leu	196	A	.	.	B	.	.	.	-3.39	1.30	.	.	.	-0.60	0.05
Ile	197	A	.	.	B	.	.	.	-3.50	1.44	.	.	.	-0.60	0.05
Val	198	A	.	.	B	.	.	.	-3.77	1.59	.	.	.	-0.60	0.06
Ala	199	A	.	.	B	.	.	.	-3.58	1.59	.	.	.	-0.60	0.06
Val	200	A	.	.	B	.	.	.	-2.68	1.47	.	.	.	-0.60	0.04

【０１８７】

【表４－５】

表4(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Phe	201	A	.	.	B	.	.	.	-2.17	0.79	.	.	.	-0.60	0.12
Val	202	A	.	.	B	.	.	.	-2.09	0.53	.	.	.	-0.60	0.16
Cys	203	A	.	.	.	.	T	.	-2.04	0.71	.	.	.	-0.20	0.17
Lys	204	A	.	.	.	.	T	.	-1.74	0.76	.	.	.	-0.20	0.17
Ser	205	A	.	.	.	.	T	.	-0.84	0.89	.	.	.	-0.20	0.24
Leu	206	A	.	.	.	.	T	.	-0.10	0.24	.	.	.	0.10	0.88
Leu	207	A	A	.	.	.	.	.	-0.10	-0.33	.	.	.	0.30	0.88
Trp	208	A	A	.	.	.	.	.	-0.24	0.31	.	.	.	-0.30	0.49
Lys	209	A	A	.	.	.	.	.	-0.50	0.61	.	.	.	-0.60	0.49
Lys	210	A	A	.	.	.	.	.	-0.44	0.36	*	.	.	-0.30	0.91
Val	211	A	A	.	.	.	.	.	-0.44	0.43	*	*	.	-0.45	1.36
Leu	212	.	A	B	.	.	.	.	0.41	0.20	*	*	.	-0.30	0.56
Pro	213	.	A	B	.	.	.	.	0.36	0.20	*	.	.	-0.30	0.56
Tyr	214	.	.	.	B	T	.	.	-0.58	0.63	*	.	.	-0.20	0.75
Leu	215	.	.	.	B	T	.	.	-1.29	0.67	*	*	.	-0.20	0.64
Lys	216	.	.	.	B	T	.	.	-0.73	0.56	*	.	.	-0.20	0.22
Gly	217	.	.	B	B	.	.	.	-0.27	0.51	*	.	.	-0.60	0.19
Ile	218	.	.	B	B	.	.	.	-0.40	0.19	*	.	.	-0.30	0.23
Cys	219	.	.	B	.	.	T	.	-0.50	-0.07	*	.	.	0.70	0.11
Ser	220	.	.	.	.	T	T	.	-0.03	0.36	.	*	F	0.65	0.11
Gly	221	.	.	.	.	T	T	.	-0.08	0.36	.	.	F	0.65	0.16
Gly	222	.	.	.	.	T	T	.	0.06	-0.33	.	.	F	1.25	0.49
Gly	223	.	.	.	.	.	.	C	0.94	-0.47	.	.	F	0.85	0.57
Gly	224	.	.	.	.	.	.	C	1.72	-0.86	*	.	F	1.15	0.99
Asp	225	.	.	.	.	.	T	C	1.17	-1.29	.	*	F	1.50	1.97
Pro	226	.	.	.	.	.	T	C	1.51	-1.07	*	.	F	1.84	1.47
Glu	227	.	.	B	.	.	T	.	1.97	-1.50	*	.	F	1.98	2.49
Arg	228	.	.	B	.	.	T	.	2.01	-1.93	*	.	F	2.32	2.92
Val	229	.	.	.	.	T	.	.	2.06	-1.54	*	.	F	2.86	2.53
Asp	230	.	.	.	.	T	T	.	2.06	-1.59	*	.	F	3.40	1.96
Arg	231	.	.	.	.	T	T	.	2.38	-1.19	*	*	F	3.06	1.73
Ser	232	.	.	.	.	T	T	.	2.17	-1.19	*	.	F	2.72	4.57
Ser	233	.	.	.	.	T	T	.	1.71	-1.40	*	*	F	2.72	4.23
Gln	234	.	.	.	.	.	.	C	1.98	-0.97	*	*	F	2.32	2.14
Arg	235	.	.	.	.	.	T	C	1.98	-0.47	*	*	F	2.22	1.61
Pro	236	.	.	.	.	.	T	C	1.87	-0.86	*	*	F	2.86	2.08
Gly	237	.	.	.	.	T	T	.	2.17	-1.24	.	*	F	3.40	2.01
Ala	238	.	.	.	.	.	T	C	1.61	-1.24	.	*	F	2.86	1.65
Glu	239	A	.	.	.	.	.	.	0.80	-0.60	.	*	F	1.97	0.79
Asp	240	A	.	.	.	.	.	.	0.69	-0.34	.	*	F	1.33	0.66
Asn	241	A	.	.	.	.	.	.	0.90	-0.37	*	.	.	0.99	1.05
Val	242	A	.	.	.	.	.	.	0.36	-0.87	*	.	.	0.95	1.05
Leu	243	A	.	.	.	.	.	.	0.09	-0.19	*	.	.	0.50	0.44
Asn	244	A	.	.	B	.	.	.	-0.21	0.46	*	.	.	-0.60	0.20
Glu	245	A	.	.	B	.	.	.	-1.10	0.44	*	.	.	-0.60	0.37
Ile	246	A	.	.	B	.	.	.	-1.91	0.49	*	.	.	-0.60	0.31
Val	247	A	.	.	B	.	.	.	-1.06	0.49	*	.	.	-0.60	0.16
Ser	248	.	.	B	B	.	.	.	-0.46	0.49	*	.	.	-0.60	0.16
Ile	249	.	.	B	B	.	.	.	-0.77	0.91	*	.	.	-0.60	0.35
Leu	250	.	.	.	B	.	.	C	-0.77	0.71	.	.	.	-0.40	0.69

【０１８８】

【表４－６】

表4(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Gln	251	.	.	.	.	.	T	C	-0.73	0.47	.	.	F	0.15	0.89
Pro	252	.	.	.	.	.	T	C	-0.09	0.73	.	.	F	0.15	0.94
Thr	253	.	.	.	.	.	T	C	0.21	0.47	.	.	F	0.30	1.76
Gln	254	.	.	.	.	.	T	C	1.10	-0.21	.	.	F	1.20	1.76
Val	255	.	A	.	.	.	.	C	1.91	-0.21	.	.	F	0.80	1.97
Pro	256	.	A	.	.	.	.	C	1.31	-0.64	.	.	F	1.10	2.37
Glu	257	A	A	.	.	.	.	.	1.52	-0.51	.	*	F	0.90	1.35
Gln	258	A	A	.	.	.	.	.	0.98	-0.91	.	*	F	0.90	3.16
Glu	259	A	A	.	.	.	.	.	0.98	-0.91	.	*	F	0.90	1.51
Met	260	A	A	.	.	.	.	.	1.83	-0.94	.	*	F	0.90	1.51
Glu	261	A	A	.	.	.	.	.	1.83	-0.94	.	*	.	0.75	1.51
Val	262	A	A	.	.	.	.	.	1.24	-0.91	.	*	F	0.90	1.35
Gln	263	A	A	.	.	.	.	.	1.24	-0.41	.	*	F	0.60	1.38
Glu	264	A	A	.	.	.	.	.	1.03	-1.03	.	*	F	0.90	1.38
Pro	265	A	A	.	.	.	.	.	1.32	-0.60	.	*	F	1.18	2.88
Ala	266	A	A	.	.	.	.	.	0.98	-0.76	.	*	F	1.46	2.40
Glu	267	A	.	.	.	.	T	.	0.98	-0.73	.	*	F	2.14	1.37
Pro	268	A	.	.	.	.	T	.	0.98	-0.09	.	.	F	1.97	0.66
Thr	269	.	.	.	.	T	T	.	0.38	-0.11	.	.	F	2.80	1.05
Gly	270	A	.	.	.	.	T	.	-0.22	0.00	.	.	F	1.37	0.60
Val	271	A	.	.	.	.	.	.	0.07	0.69	.	.	.	0.44	0.32
Asn	272	.	.	B	.	.	.	.	-0.14	0.64	.	.	.	0.16	0.30
Met	273	.	.	B	.	.	.	.	-0.28	0.59	.	.	.	0.18	0.46
Leu	274	.	.	.	.	.	.	C	0.03	0.59	.	.	.	0.40	0.62
Ser	275	.	.	.	.	.	T	C	0.08	-0.06	.	.	F	1.95	0.66
Pro	276	.	.	.	.	.	T	C	0.93	-0.07	.	.	F	2.25	0.90
Gly	277	.	.	.	.	.	T	C	0.90	-0.69	.	.	F	3.00	1.89
Glu	278	A	.	.	.	.	T	.	0.69	-0.87	.	.	F	2.50	1.92
Ser	279	A	A	.	.	.	.	.	0.69	-0.57	.	.	F	1.80	1.02
Glu	280	A	A	.	.	.	.	.	0.99	-0.31	.	.	F	1.05	0.85
His	281	A	A	.	.	.	.	.	0.99	-0.74	.	.	F	1.05	0.85
Leu	282	A	A	.	.	.	.	.	0.74	-0.31	.	.	.	0.30	0.98
Leu	283	A	A	.	.	.	.	.	0.74	-0.20	.	.	.	0.30	0.57
Glu	284	A	A	.	.	.	.	.	0.46	-0.20	.	.	F	0.45	0.73
Pro	285	A	A	.	.	.	.	.	0.46	-0.20	.	.	F	0.45	0.89
Ala	286	A	A	.	.	.	.	.	0.60	-0.89	.	.	F	0.90	1.88
Glu	287	A	A	.	.	.	.	.	1.11	-1.57	.	.	F	0.90	2.13
Ala	288	A	A	.	.	.	.	.	1.92	-1.19	.	.	F	0.90	1.84
Glu	289	A	A	.	.	.	.	.	2.03	-1.21	*	.	F	0.90	3.16
Arg	290	A	A	.	.	.	.	.	2.36	-1.71	*	.	F	0.90	3.57
Ser	291	A	.	.	.	.	T	.	3.06	-1.71	*	.	F	1.30	6.92
Gln	292	A	.	.	.	.	T	.	2.24	-2.21	*	.	F	1.30	7.83
Arg	293	A	.	.	.	.	T	.	2.02	-1.53	.	.	F	1.30	3.30
Arg	294	A	.	.	.	.	T	.	1.17	-0.84	.	.	F	1.30	2.03
Arg	295	.	.	.	B	T	.	.	0.84	-0.59	.	*	F	1.15	0.87
Leu	296	.	.	B	B	.	.	.	0.56	-0.56	.	*	.	0.60	0.69
Leu	297	.	.	B	B	.	.	.	0.56	-0.06	.	*	.	0.30	0.35
Val	298	.	.	.	B	.	.	C	0.44	0.34	*	*	.	0.20	0.29
Pro	299	.	.	.	.	.	T	C	-0.01	0.34	*	.	.	0.90	0.61
Ala	300	.	.	.	.	.	T	C	-0.12	0.09	*	*	F	1.35	0.73

【０１８９】

【表４－７】

表4(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Asn	301	.	.	.	.	.	T	C	0.48	-0.60	.	.	F	2.70	1.65
Glu	302	.	.	.	.	.	T	C	0.98	-0.81	.	.	F	3.00	1.65
Gly	303	.	.	.	.	.	.	C	1.83	-0.76	.	.	F	2.50	2.35
Asp	304	.	.	.	.	.	T	C	1.73	-1.26	.	.	F	2.40	2.54
Pro	305	.	.	.	.	.	T	C	1.51	-1.17	.	*	F	2.10	2.11
Thr	306	A	.	.	.	.	T	.	1.62	-0.49	.	*	F	1.30	1.76
Glu	307	A	.	.	.	.	T	.	1.62	-0.91	*	*	F	1.30	2.07
Thr	308	A	.	.	B	.	.	.	1.30	-0.51	*	*	F	0.90	2.31
Leu	309	A	.	.	B	.	.	.	0.60	-0.37	*	*	F	0.45	0.86
Arg	310	A	.	.	B	.	.	.	0.81	-0.07	*	*	.	0.30	0.43
Gln	311	A	.	.	B	.	.	.	1.12	-0.07	*	*	.	0.30	0.50
Cys	312	A	.	.	.	.	T	.	0.42	-0.56	*	*	.	1.15	1.01
Phe	313	A	.	.	.	.	T	.	0.14	-0.46	*	*	.	0.70	0.45
Asp	314	.	.	.	.	T	T	.	0.96	0.04	*	*	.	0.50	0.26
Asp	315	A	.	.	.	.	T	.	0.03	-0.36	*	*	.	0.70	0.81
Phe	316	A	A	.	.	.	.	.	-0.82	-0.24	*	.	.	0.30	0.77
Ala	317	A	A	.	.	.	.	.	-0.37	-0.39	*	.	.	0.30	0.34
Asp	318	A	A	.	.	.	.	.	-0.37	0.04	*	*	.	-0.30	0.32
Leu	319	A	A	.	.	.	.	.	-0.37	0.83	.	.	.	-0.60	0.32
Val	320	.	A	.	.	.	.	C	-0.67	0.04	.	.	.	-0.10	0.52
Pro	321	.	A	.	.	.	.	C	-0.26	-0.07	.	.	.	0.50	0.42
Phe	322	.	.	.	.	T	T	.	0.33	0.84	.	.	.	0.20	0.54
Asp	323	A	.	.	.	.	T	.	0.12	0.16	.	.	.	0.25	1.25
Ser	324	A	.	.	.	.	T	.	0.12	-0.06	.	.	F	1.00	1.25
Trp	325	A	.	.	.	.	T	.	0.38	0.20	*	*	F	0.40	1.19
Glu	326	A	A	.	.	.	.	.	0.70	0.03	*	.	F	-0.15	0.71
Pro	327	A	A	.	.	.	.	.	1.44	0.03	*	.	.	-0.15	1.03
Leu	328	A	A	.	.	.	.	.	0.63	-0.36	*	.	.	0.45	1.96
Met	329	A	A	.	.	.	.	.	0.59	-0.59	*	.	.	0.60	0.93
Arg	330	A	A	.	.	.	.	.	0.07	-0.16	*	.	.	0.30	0.60
Lys	331	A	A	.	.	.	.	.	-0.53	0.10	*	.	.	-0.30	0.60
Leu	332	A	A	.	.	.	.	.	-0.32	0.03	*	.	.	-0.30	0.60
Gly	333	A	A	.	.	.	.	.	0.49	-0.59	*	.	.	0.60	0.51
Leu	334	A	A	.	.	.	.	.	1.09	-0.19	*	.	.	0.30	0.41
Met	335	A	A	.	.	.	.	.	0.09	-0.19	*	*	.	0.30	0.86
Asp	336	A	A	.	.	.	.	.	0.09	-0.19	.	*	F	0.45	0.61
Asn	337	A	A	.	.	.	.	.	0.04	-0.61	*	*	F	0.90	1.48
Glu	338	A	A	.	.	.	.	.	-0.20	-0.66	*	*	F	0.90	1.11
Ile	339	A	A	.	.	.	.	.	0.66	-0.77	*	*	F	0.75	0.67
Lys	340	A	A	.	.	.	.	.	0.67	-0.77	.	*	F	0.75	0.83
Val	341	A	A	.	.	.	.	.	0.67	-0.67	.	*	.	0.60	0.49
Ala	342	A	A	.	.	.	.	.	0.08	-0.67	.	.	.	0.75	1.20
Lys	343	A	A	.	.	.	.	.	-0.51	-0.86	.	*	.	0.60	0.61
Ala	344	A	A	.	.	.	.	.	0.03	-0.36	.	*	.	0.30	0.83
Glu	345	A	A	.	.	.	.	.	-0.04	-0.57	*	.	.	0.60	0.81
Ala	346	A	A	.	.	.	.	.	0.92	-0.57	*	.	.	0.60	0.55
Ala	347	A	A	.	.	.	.	.	1.51	-0.57	.	*	.	0.75	1.07
Gly	348	A	.	.	.	.	.	.	1.16	-1.07	.	*	.	0.95	1.03
His	349	A	.	.	.	.	T	.	0.93	-0.59	.	.	.	1.15	1.47
Arg	350	A	.	.	.	.	T	.	0.69	-0.40	.	.	F	1.00	1.20

【０１９０】

【表４－８】

表4(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Asp	351	A	.	.	.	.	T	.	0.97	-0.14	.	.	F	1.00	1.90
Thr	352	A	.	.	.	.	T	.	0.96	-0.09	.	.	F	1.00	2.02
Leu	353	A	.	.	B	.	.	.	0.49	0.03	.	.	.	-0.15	1.02
Tyr	354	A	.	.	B	.	.	.	-0.37	0.71	.	*	.	-0.60	0.50
Thr	355	A	.	.	B	.	.	.	-0.43	1.40	.	*	.	-0.60	0.24
Met	356	A	.	.	B	.	.	.	-0.72	0.91	*	.	.	-0.60	0.59
Leu	357	A	.	.	B	.	.	.	-1.27	1.14	*	.	.	-0.60	0.40
Ile	358	A	.	.	B	.	.	.	-0.46	1.03	*	*	.	-0.60	0.20
Lys	359	A	.	.	B	.	.	.	-0.17	0.94	*	*	.	-0.60	0.33
Trp	360	A	.	.	B	.	.	.	-0.17	0.33	*	*	.	0.00	0.81
Val	361	A	.	.	B	.	.	.	0.09	0.13	*	*	.	0.45	1.66
Asn	362	.	.	.	.	.	T	C	1.01	-0.13	*	.	F	1.95	0.82
Lys	363	.	.	.	.	.	T	C	1.90	-0.13	*	*	F	2.40	1.53
Thr	364	.	.	.	.	.	T	C	1.27	-1.04	*	.	F	3.00	3.44
Gly	365	.	.	.	.	.	T	C	1.26	-1.19	*	.	F	2.70	2.16
Arg	366	.	A	.	.	T	.	.	1.26	-1.20	*	.	F	2.20	1.45
Asp	367	.	A	.	.	.	.	C	1.22	-0.56	*	.	F	1.55	0.75
Ala	368	A	A	.	.	.	.	.	0.87	-0.54	.	.	F	1.20	1.03
Ser	369	A	A	.	.	.	.	.	0.37	-0.49	.	.	.	0.30	0.76
Val	370	A	A	.	.	.	.	.	-0.10	0.20	.	*	.	-0.30	0.37
His	371	A	A	.	.	.	.	.	-0.21	0.89	.	*	.	-0.60	0.30
Thr	372	A	A	.	.	.	.	.	-0.80	0.39	*	*	.	-0.30	0.38
Leu	373	A	A	.	.	.	.	.	-1.02	0.50	*	*	.	-0.60	0.52
Leu	374	A	A	.	.	.	.	.	-0.72	0.54	*	.	.	-0.60	0.31
Asp	375	A	A	.	.	.	.	.	-0.18	0.04	*	.	.	-0.30	0.38
Ala	376	A	A	.	.	.	.	.	-0.96	0.04	*	.	.	-0.30	0.66
Leu	377	A	A	.	.	.	.	.	-0.99	0.04	*	.	.	-0.30	0.66
Glu	378	A	A	.	.	.	.	.	-0.18	-0.21	*	.	.	0.30	0.39
Thr	379	A	A	.	.	.	.	.	0.74	-0.21	*	*	F	0.45	0.67
Leu	380	A	A	.	.	.	.	.	-0.07	-0.71	*	.	F	0.90	1.59
Gly	381	A	A	.	.	.	.	.	-0.07	-0.71	*	.	F	0.75	0.76
Glu	382	A	A	.	.	.	.	.	0.79	-0.21	*	.	F	0.45	0.53
Arg	383	A	A	.	.	.	.	.	0.79	-0.70	*	.	F	0.90	1.28
Leu	384	A	A	.	.	.	.	.	1.14	-0.99	*	*	F	0.90	2.24
Ala	385	A	A	.	.	.	.	.	1.07	-1.41	*	*	F	0.90	2.59
Lys	386	A	A	.	.	.	.	.	1.41	-0.73	*	.	F	0.75	0.93
Gln	387	A	A	.	.	.	.	.	1.41	-0.73	*	*	F	0.90	1.95
Lys	388	A	A	.	.	.	.	.	1.27	-1.41	*	*	F	0.90	3.22
Ile	389	A	A	.	.	.	.	.	1.27	-1.41	.	*	F	0.90	2.19
Glu	390	A	A	.	.	.	.	.	1.04	-0.73	*	*	F	0.90	1.04
Asp	391	A	A	.	.	.	.	.	0.70	-0.44	.	*	F	0.45	0.43
His	392	A	A	.	.	.	.	.	0.40	-0.06	*	*	.	0.30	0.82
Leu	393	A	A	.	.	.	.	.	0.01	-0.36	*	*	.	0.30	0.64
Leu	394	A	A	.	.	.	.	.	0.94	0.07	*	*	F	-0.15	0.38
Ser	395	A	.	.	.	.	T	.	0.24	0.07	*	*	F	0.25	0.55
Ser	396	A	.	.	.	.	T	.	-0.36	0.36	*	*	F	0.25	0.58
Gly	397	.	.	.	.	T	T	.	-0.57	0.29	.	.	F	0.65	0.70
Lys	398	A	.	.	.	.	T	.	-0.57	0.36	.	.	F	0.25	0.82
Phe	399	A	A	.	.	.	.	.	0.24	0.66	.	.	.	-0.60	0.50
Met	400	.	A	B	.	.	.	.	0.20	0.27	.	*	.	-0.30	0.88

【０１９１】

【表４－９】

表4(つづき)

残基	位置	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV
Tyr	401	.	A	B	.	.	.	.	0.50	0.27	.	*	.	-0.30	0.44
Leu	402	A	A	.	.	.	.	.	0.26	0.67	.	*	.	-0.60	0.81
Glu	403	A	A	.	.	.	.	.	0.21	0.39	.	*	.	-0.30	0.82
Gly	404	A	.	.	.	.	.	.	0.61	-0.23	.	*	F	0.65	0.88
Asn	405	A	.	.	.	.	T	.	0.62	-0.60	.	*	F	1.30	1.43
Ala	406	A	.	.	.	.	T	.	0.27	-0.79	.	*	F	1.15	0.83
Asp	407	A	.	.	.	.	T	.	0.78	-0.17	.	*	F	0.85	0.83
Ser	408	A	.	.	.	.	T	.	0.39	-0.21	.	*	F	0.85	0.69
Ala	409	A	.	.	.	.	.	.	0.34	-0.19	.	*	.	0.50	0.88
Met	410	A	.	.	.	.	.	.	-0.04	-0.26	.	.	.	0.50	0.67
Ser	411	A	.	.	.	.	.	.	0.16	0.17	.	.	.	-0.10	0.64

【０１９２】

別の局面において、本発明は、ＴＲ７の一部を保有する１個、２個、３個、４個、５個以上のエピトープを含むか、あるいはそれらからなるペプチドまたはポリペプチドに結合する抗体を提供する。このポリペプチド部分のエピトープは、本明細書中に記載されるポリペプチドの免疫原性エピトープまたは抗原性エピトープである。「免疫原性エピトープ」は、タンパク質全体が免疫原である場合に、抗体応答を誘因するタンパク質の一部として規定される。その一方で、抗体が結合し得るタンパク質分子の領域は、「抗原性エピトープ」として規定される。タンパク質の免疫原性エピトープの数は、一般に、抗原性エピトープの数よりも少ない。例えば、Ｇｅｙｓｅｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８１：３９９８～４００２（１９８３）を参照のこと。

【０１９３】

抗原性エピトープ（すなわち、抗体が結合し得るタンパク質分子の領域を含む）を保有するペプチドまたはポリペプチドの選択について、タンパク質配列の部分を模倣する比較的短い合成ペプチドは、部分的に模倣されたタンパク質と反応する抗血清を慣用的に誘因し得ることが当該分野で周知である。例えば、Ｊ．Ｇ．Ｓｕｔｃｌｉｆｆｅら、「Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　Ｔｈａｔ　Ｒｅａｃｔ　Ｗｉｔｈ　Ｐｒｅｄｅｔｅｒｍｉｎｅｄ　Ｓｉｔｅｓ　ｏｎ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ」、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２１９：６６０～６６６（１９８３）を参照のこと。タンパク質反応性の血清を誘因し得るペプチドは、タンパク質の１次配列で頻繁に示され、１組の単純な化学的規則によって特徴付けられ得、そしてインタクトなタンパク質の免疫優性領域（すなわち、免疫原性エピトープ）にも、アミノ末端にもカルボキシ末端のいずれにも制限されない。

【０１９４】

故に、抗原性エピトープ保有ペプチドおよびポリペプチドは、抗体（ＴＲ７ポリペプチドに結合するモノクローナル抗体を含む）を惹起するのに有用である。例えば、Ｗｉｌｓｏｎら、Ｃｅｌｌ　３７：７６７～７７８（１９８４）の７７７頁を参照のこと。抗原性エピトープ保有ペプチドおよびポリペプチドは、好ましくは、配列番号３のアミノ酸配列内に含まれる少なくとも７個、より好ましくは少なくとも９個、そして最も好ましくは少なくとも１５個～３０個のアミノ酸の配列を含む。

【０１９５】

本発明の抗体は、１つ以上の抗原性ＴＲ７ポリペプチドまたはペプチドに結合し得、これらとしては以下が挙げられるが、それらに限定されない：配列番号３の約６２～約１１０、配列番号３の約１１９～約１６４、配列番号３の約２２４～約２７１、配列番号３の約２７５～約３７０、配列番号３の約６９～約８０、配列番号３の約８８～約９５、配列番号３の約９９～約１０３、配列番号３の約１１９～約１２３、配列番号３の約１３０～約１３５、配列番号３の約１５２～約１６３、配列番号３の約２２６～約２３８、配列番号３の約２７５～約２７９、配列番号３の約３０１～約３０５、および／または配列番号３の約３６２～約３６７のアミノ酸残基を含むか、あるいはそれらからなるポリペプチド

。この文脈において「約」は、いずれかの末端または両方の末端でのいくつか（５個、４個、３個、２個または１個）のヌクレオチドだけより大きいかまたは小さい、特に列挙された範囲を含む。上述のように、本発明者らは、上記のポリペプチドフラグメントが、ＴＲ７レセプタータンパク質の抗原性領域であることを決定した。

【０１９６】

エピトープ保有ＴＲ７ペプチドおよびポリペプチドは、任意の従来の手段によって生成され得る。Ｒ．Ａ．Ｈｏｕｇｈｔｅｎ，「Ｇｅｎｅｒａｌ Ｍｅｔｈｏｄ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｒａｐｉｄ Ｓｏｌｉｄ－Ｐｈａｓｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ Ｌａｒｇｅ Ｎｕｍｂｅｒｓ ｏｆ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ：Ｓｐｅｃｉｆｉｃｉｔｙ ｏｆ Ａｎｔｉｇｅｎ－Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎ ａｔ ｔｈｅ Ｌｅｖｅｌ ｏｆ Ｉｎｄｉｖｉｄｕａｌ Ａｍｉｎｏ Ａｃｉｄｓ」、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：５１３１～５１３５（１９８５）。この「Ｓｉｍｕｌｔａｎｅｏｕｓ Ｍｕｌｔｉｐｌｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（ＳＭＰＳ）」プロセスは、Ｈｏｕｇｈｔｅｎら（１９８６）に対する米国特許第４，６３１，２１１号にさらに記載される。

【０１９７】

当業者が理解するように、本明細書中に記載されるＴＲ７レセプターポリペプチド、およびそのエピトープ保有フラグメント（例えば、細胞外ドメイン対応する部分（例えば、配列番号３の５２～１８４のアミノ酸残基）は、キメラポリペプチドを生じる免疫グロブリン（ＩｇＧ）の定常ドメインの一部と組み合わされ得る。これらの融合タンパク質は、精製を容易にし、そしてインビボでの半減期の増加を示す。これは、例えば、ヒトＣＤ４ポリペプチドの最初の２つのドメイン、および哺乳動物免疫グロブリンの重鎖または軽鎖の定常領域の種々のドメインからなる、キメラタンパク質について、示されている（ＥＰＡ ３９４，８３７；Ｔｒａｕｎｅｃｋｅｒら、Ｎａｔｕｒｅ ３３１：８４～８６（１９８８））。ＩｇＧ部分に起因するジスルフィド結合した二量体構造を有する融合タンパク質はまた、モノマーのＴＲ７タンパク質またはタンパク質フラグメント単独以外の分子を結合および中和するのにより効果的であり得る（Ｆｏｕｎｔｏｕｌａｋｉｓら、Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２７０：３９５８～３９６４（１９９５））。ＴＲ７融合タンパク質は、抗ＴＲ７抗体を誘因する免疫原として使用され得る。従って、本発明の抗体は、ＴＲ７のようなＴＲ４ポリペプチドの全てまたは一部を含む融合タンパク質と結合し得る。

【０１９８】

当業者に公知の組換えＤＮＡ技術は、一個または複数のアミノ酸の置換、欠損、付加または融合タンパク質を含む新規変異タンパク質「ムテイン」を生成するために使用され得る。このような改変されたポリペプチドは、例えば、増強された活性または増加された安定性を示し得る。さらに、これらは、より高い収率で精製され得、そして少なくとも特定の精製条件および保存条件で対応する天然のポリペプチドによりもより良好な可溶性を示し得る。本発明の抗体はまた、このような改変されたＴＲ７ポリペプチドまたはＴＲ７ポリペプチドフラグメントもしくは改変体に結合し得る。

【０１９９】

例えば、膜結合タンパク質の細胞外ドメインまたは分泌タンパク質の成熟形態を含む、多くのタンパク質について、１つ以上のアミノ酸が、生物学的機能の実質的な損失も特異的抗体によって結合される能力を実質的な損失も伴なわずに、Ｎ末端またはＣ末端から欠失され得ることが、当該分野において公知である。しかし、たとえ、タンパク質のＮ末端またはＣ末端からの１つの以上のアミノ酸の欠失が、タンパク質の１つ以上の生物学的機能の改変または損失を生じるとしても、他のＴＲ７機能的活性は、なお保持され得る。例えば、多くの例において、ＴＲ７を認識する抗体（好ましくは、ＴＲ７に特異的に結合する抗体）を誘導し、そして／またはこれに結合する短縮されたタンパク質の能力は、欠失のサイズまたは位置に関係なく保持される。実際、６個程度のＴＲ７アミノ酸残基から構成されるポリペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。このような免疫学的活性を保持する完全なタンパク質のＮ末端および／またはＣ末端残基を欠く特定のポリペプチドは

、本明細書中に記載される慣用的な方法、さもなくば当該分野において公知の慣用的な方法によって容易に決定され得る。

【０２００】

上述のように、たとえ、タンパク質のＮ末端からの１つ以上のアミノ酸の欠失が、タンパク質の１つ以上の生物学的機能の改変または損失を生じたとしても、他の機能的活性（例えば、生物学的活性、多量体化の能力、ＴＲ７リガンドへ結合する能力）はなお、保持され得る。例えば、ポリペプチド完全形態またはポリペプチドの成熟形態を認識する抗体を誘導および／またはこれに結合する短縮されたＴＲ７ポリペプチドの能力は、一般に、完全なポリペプチドまたは成熟したポリペプチドの残基の少ない部分がＮ末端から除かれる場合に、保持される。このような免疫学的活性を保持する完全なポリペプチドＮ末端の残基を欠く特定のポリペプチドは、本明細書中に記載されるか、さもなくば当該分野において公知の慣用的方法によって容易に決定され得る。多数の欠損したＮ末端アミノ酸残基を伴うＴＲ７ポリペプチドは、いくつかの生物学的活性または免疫学的活性をおそらく保持し得ない。

【０２０１】

従って、本発明は、配列番号３に示されるＴＲ７アミノ酸配列のアミノ末端から、４０６位のアラニン残基から欠失される１つ以上の残基を有するポリペプチドに結合する抗体、およびこのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに提供する。特に、本発明は、配列番号３の残基n^5－４１１のアミノ酸配列を含むポリペプチドに結合する抗体を提供し、ここでn^5は、配列番号３のアミノ酸残基の位置に対応する２～４０６の整数である。

【０２０２】

より詳細には、本発明は、以下の残基のアミノ酸配列を含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体を提供する：配列番号３に示されるＴＲ７配列の

【０２０３】

【数７－１】

E-2～S-411; Q-3～S-411; R-4～S-411; G-5～S-411; Q-6～S-411; N-7～S-411; A-8～S-411; P-9～S-411; A-10～S-411; A-11～S-411; S-12～S-411; G-13～S-411; A-14～S-411; R-15～S-411; K-16～S-411; R-17～S-411; H-18～S-411; G-19～S-411; P-20～S-411; G-21～S-411; P-22～S-411; R-23～S-411; E-24～S-411; A-25～S-411; R-26～S-411; G-27～S-411; A-28～S-411; R-29～S-411; P-30～S-411; G-31～S-411; P-32～S-411; R-33～S-411; V-34～S-411; P-35～S-411; K-36～S-411; T-37～S-411; L-38～S-411; V-39～S-411; L-40～S-411; V-41～S-411; V-42～S-411; A-43～S-411; A-44～S-411; V-45～S-411; L-46～S-411; L-47～S-411; L-48～S-411; V-49～S-411; S-50～S-411; A-51～S-411; E-52～S-411; S-53～S-411; A-54～S-411; L-55～S-411; I-56～S-411; T-57～S-411; Q-58～S-411; Q-59～S-411; D-60～S-411; L-61～S-411; A-62～S-411; P-63～S-411; Q-64～S-411; Q-65～S-411; R-66～S-411; A-67～S-411; A-68～S-411; P-69～S-411; Q-70～S-411; Q-71～S-411; K-72～S-411; R-73～S-411; S-74～S-411; S-75～S-411; P-76～S-411; S-77～S-411; E-78～S-411; G-79～S-411; L-80～S-411; C-81～S-411; P-82～S-411; P-83～S-411; G-84～S-411; H-85～S-411; H-86～S-411; I-87～S-411; S-88～S-411; E-89～S-411; D-90～S-411; G-91～S-411; R-92～S-411; D-93～S-411; C-94～S-411; I-95～S-411; S-96～S-411; C-97～S-411; K-98～S-411; Y-99～S-411; G-100～S-411; Q-101～S-411; D-102～S-411; Y-103～S-411; S-104～S-411; T-105～S-411; H-106～S-411; W-107～S-411; N-108～S-411; D-109～S-411; L-110～S-411; L-111～S-411; F-112～S-411; C-113～S-411; L-114～S-411; R-115～S-411; C-116～S-411; T-117～S-411; R-118～S-411; C-119～S-411; D-120～S-411; S-121～S-411; G-122～S-411; E-123～S-411; V-124～S-411; E-125～S-411; L-126～S-411; S-127～S-411; P-128～S-411; C-129～S-411; T-130～S-411; T-131～S-411; T-132～S-411; R-133～S-411; N-134～S-411; T-135～S-411; V-136～S-411; C-137～S-411; Q-138～S-411; C-139～S-411; E-140～S-411; E-141～S-411; G-142～S-411; T-143～S-411; F-144～S-411; R-145～S-411; E-146～S-411; E-147～S-411; D-148～S-411; S-149～S-411; P-150～S-411; E-151～S-411; M-152～S-411; C-153～S-411; R-154～S-411; K-155～S-411; C-156～S-411; R-157～S-411; T-158～S-411; G-159～S-411; C-160～S-411; P-161～S-411; R-162～S-411; G-163～S-411; M-164～S-411; V-165～S-411; K-166～S-411; V-167～S-411; G-168～S-411; D-169～S-411; C-170～S-411; T-171～S-411; P-172～S-411; W-173～S-411; S-174～S-411; D-175～S-411; I-176

【０２０４】

【数７－２】

～S-411; E-177 ～S-411; C-178 ～S-411; V-179～ S-411; H-180 ～S-411; K-181～ S-411; E-182 ～S-411; S-183 ～S-411; G-184 ～ S-411; I-185 ～S-411; I-186 ～S-411; I-187 ～S-411; G-188～ S-411; V-189 ～S-411; T-190 ～S-411; V-191～ S-411; A-192 ～S-411; A-193～ S-411; V-194 ～S-411; V-195～ S-411; L-196 ～S-411; I-197 ～S-411; V-198～ S-411; A-199 ～S-411; V-200 ～S-411; F-201 ～S-411; V-202 ～S-411; C-203 ～S-411; K-204 ～ S-411; S-205 ～S-411; L-206～ S-411; L-207～ S-411; W-208 ～S-411; K-209～ S-411; K-210 ～S-411; V-211～ S-411; L-212～ S-411; P-213 ～S-411; Y-214 ～S-411; L-215 ～S-411; K-216 ～S-411; G-217 ～S-411; I-218 ～S-411; C-219 ～S-411; S-220 ～S-411; G-221 ～ S-411; G-222 ～S-411; G-223 ～S-411; G-224～ S-411; D-225 ～S-411; P-226 ～S-411; E-227 ～S-411; R-228～ S-411; V-229～ S-411; D-230～ S-411; R-231 ～S-411; S-232 ～S-411; S-233 ～S-411; Q-234 ～S-411; R-235 ～S-411; P-236 ～S-411; G-237～ S-411; A-238 ～S-411; E-239 ～S-411; D-240 ～S-411; N-241～ S-411; V-242 ～S-411; L-243 ～S-411; N-244 ～S-411; E-245 ～S-411; I-246 ～S-411; V-247 ～S-411; S-248 ～S-411; I-249 ～S-411; L-250～ S-411; Q-251～ S-411; P-252～ S-411; T-253 ～S-411; Q-254 ～S-411; V-255～ S-411; P-256 ～S-411; E-257 ～S-411; Q-258～ S-411; E-259～ S-411; M-260～ S-411; E-261 ～S-411; V-262 ～S-411; Q-263 ～S-411; E-264～ S-411; P-265～ S-411; A-266～ S-411; E-267～ S-411; P-268～ S-411; T-269～ S-411; G-270 ～S-411; V-271～ S-411; N-272 ～S-411; M-273～ S-411; L-274 ～S-411; S-275～ S-411; P-276 ～S-411; G-277 to S-411; E-278 ～S-411; S-279 ～S-411; E-280～ S-411; H-281 ～S-411; L-282 ～S-411; L-283 ～S-411; E-284～ S-411; P-285 ～S-411; A-286～ S-411; E-287 ～S-411; A-288～ S-411; E-289 ～S-411; R-290 ～S-411; S-291 ～S-411; Q-292 ～S-411; R-293～ S-411; R-294 ～S-411; R-295 ～S-411; L-296～ S-411; L-297 ～S-411; V-298 ～S-411; P-299～ S-411; A-300～ S-411; N-301 ～S-411; E-302 ～S-411; G-303～ S-411; D-304～ S-411; P-305 ～S-411; T-306 ～S-411; E-307 ～S-411; T-308～ S-411; L-309～ S-411; R-310 ～S-411; Q-311 ～S-411; C-312～ S-411; F-313 ～S-411; D-314 ～S-411; D-315 ～S-411; F-316～ S-411; A-317 ～S-411; D-318 ～S-411; L-319 ～S-411; V-320～ S-411; P-321 ～S-411; F-322 ～S-411; D-323～ S-411; S-324 ～S-411; W-325 ～S-411; E-326～ S-411; P-327 ～S-411; L-328 ～S-411; M-329～ S-411; R-330 ～S-411; K-331 ～S-411; L-332～ S-411; G-333～ S-411; L-334 ～S-411; M-335～ S-411; D-336～ S-411; N-337 ～S-411; E-338～ S-411; I-339 ～S-411; K-340～ S-411; V-341 ～S-411; A-342 ～S-411; K-343 ～S-411; A-344 ～S-411; E-345 ～S-411; A-346 ～S-411; A-347 ～S-411; G-348～ S-411; H-349 ～S-411; R-350 ～S-411; D-351～ S-411; T-352～ S-411; L-353

【０２０５】

【数７－３】

～ S-411; Y-354～ S-411; T-355 ～S-411; M-356 ～S-411; L-357～ S-411; I-358 ～S-411; K-359～ S-411; W-360 ～S-411; V-361 ～S-411; N-362 ～S-411; K-363 ～S-411; T-364 ～S-411; G-365 ～S-411; R-366～ S-411; D-367 ～S-411; A-368～ S-411; S-369 ～S-411; V-370～ S-411; H-371 ～S-411; T-372 ～S-411; L-373 ～S-411; L-374 ～S-411; D-375 ～S-411; A-376 ～S-411; L-377～ S-411; E-378 ～S-411; T-379 ～S-411; L-380 ～S-411; G-381 ～S-411; E-382 ～S-411; R-383 ～S-411; L-384 ～S-411; A-385 ～S-411; K-386 ～S-411; Q-387～ S-411; K-388 ～S-411; I-389～ S-411; E-390 ～S-411; D-391～ S-411; H-392～ S-411; L-393～ S-411; L-394 ～S-411; S-395 ～S-411; S-396 ～S-411; G-397～ S-411; K-398 ～S-411; F-399～ S-411; M-400 ～S-411; Y-401 ～S-411; L-402～ S-411; E-403 ～S-411; G-404 ～S-411; N-405 ～S-411;および/または A-406 ～S-411

【０２０６】

。

【０２０７】

別の実施形態において、ＴＲ７ポリペプチドのＮ末端欠失は、一般式ｎ^{6}－１８４によって記載され得、ここでｎ^{6}は、配列番号３において同定されるアミノ酸配列に対応する１～１７９の数である。特定の実施形態において、本発明の抗体は、以下の残基のアミノ酸配列を含むか、あるいはそれらからなるＴＲ７のＮ末端欠損に結合する：配列番号３において示されるＴＲ７細胞外ドメイン配列の

【０２０８】

【数８－１】

E-2～G-184; Q-3～G-184; R-4～G-184; G-5～G-184; Q-6～G-184; N-7～G-184; A-8～G-184; P-9～G-184; A-10～G-184; A-11～G-184; S-12～G-184; G-13～G-184; A-14～G-184; R-15～G-184; K-16～G-184; R-17～G-184; H-18～G-184; G-19～G-184; P-20～G-184; G-21～G-184; P-22～G-184; R-23～G-184; E-24～G-184; A-25～G-184; R-26～G-184; G-27～G-184; A-28～G-184; R-29～G-184; P-30～G-184; G-31～G-184; P-32～G-184; R-33～G-184; V-34～G-184; P-35～G-184; K-36～G-184; T-37～G-184; L-38～G-184; V-39～G-184; L-40～G-184; V-41～G-184; V-42～G-184; A-43～G-184; A-44～G-184; V-45～G-184; L-46～G-184; L-47～G-184; L-48～G-184; V-49～G-184; S-50～G-184; A-51～G-184; E-52～G-184; S-53～G-184; A-54～G-184; L-55～G-184; I-56～G-184; T-57～G-184; Q-58～G-184; Q-59～G-184; D-60～G-184; L-61～G-184; A-62～G-184; P-63～G-184; Q-64～G-184; Q-65～G-184; R-66～G-184; A-67～G-184; A-68～G-184; P-69～G-184; Q-70～G-184; Q-71～G-184; K-72～G-184; R-73～G-184; S-74～G-184; S-75～G-184; P-76～G-184; S-77～G-184; E-78～G-184; G-79～G-184; L-80～G-184; C-81～G-184; P-82～G-184; P-83～G-184; G-84～G-184; H-85～G-184; H-86～G-184; I-87～G-184; S-88～G-184; E-89～G-184; D-90～G-184; G-91～G-184; R-92～G-184; D-93～G-184; C-94～G-184; I-95～G-184; S-96～G-184; C-97～G-184; K-98～G-184; Y-99

【０２０９】

【数８－２】

～G-184; G-100～G-184; Q-101 ～G-184; D-102～G-184; Y-103～G-184; S-104～G-184; T-105～G-184; H-106 ～G-184; W-107～G-184; N-108～G-184; D-109～G-184; L-110～G-184; L-111～G-184; F-112～G-184; C-113～G-184; L-114～G-184; R-115～G-184; C-116～G-184; T-117～G-184; R-118 ～G-184; C-119～G-184; D-120～G-184; S-121～G-184; G-122～G-184; E-123～G-184; V-124～G-184; E-125～G-184; L-126～G-184; S-127～G-184; P-128～G-184; C-129～G-184; T-130～G-184; T-131～G-184; T-132～G-184; R-133～G-184; N-134～G-184; T-135～G-184; V-136～G-184; C-137～G-184; Q-138～G-184; C-139～G-184; E-140～G-184; E-141～G-184; G-142～G-184; T-143～G-184; F-144～G-184; R-145～G-184; E-146～G-184; E-147～G-184; D-148～G-184; S-149～G-184; P-150～G-184; E-151～G-184; M-152～G-184; C-153～G-184; R-154～G-184; K-155～G-184; C-156～G-184; R-157～G-184; T-158～G-184; G-159～G-184; C-160～G-184; P-161～G-184; R-162～G-184; G-163～G-184; M-164～G-184; V-165～G-184; K-166～G-184; V-167～G-184; G-168～G-184; D-169～G-184; C-170～G-184; T-171～G-184; P-172～G-184; W-173～G-184; S-174～G-184; D-175～G-184; I-176～G-184; E-177～G-184; C-178～G-184; および／または V-179～G-184;

【０２１０】

。

【０２１１】

上述のようにまた、たとえ、タンパク質のＣ末端からの１つ以上のアミノ酸の欠失が、タンパク質の１つ以上の生物学的機能の改変または欠損を生じるとしても、他の機能的活性（例えば、生物学的活性、多量体化の能力、ＴＲ７リガンド（例えば、ＴＲＡＩＬ）に結合する能力）は、なお保持され得る。例えば、完全な形態のポリペプチドまたは成熟形態のポリペプチドを認識する抗体を誘導および／またはそれに結合する短縮されたＴＲ７ポリペプチドの能力は、完全なポリペプチドまたは成熟ポリペプチドの残基のほとんどが、Ｃ末端から除去されない場合に、一般に保持される。このような免疫学的活性を保持する完全なポリペプチドのＣ末端残基を欠く特定のポリペプチドは、本明細書中に記載されるか、さもなくば当該分野において公知の慣用的方法によって容易に決定され得る。多数の欠失したＣ末端アミノ酸残基を有するＴＲ７ポリペプチドは、いくつかの生物学的活性または免疫学的活性をおそらく保持し得ない。実際、６個程度のＴＲ７アミノ酸残基から構成されるペプチドは、しばしば免疫応答を惹起し得る。

【０２１２】

従って、本発明は、配列番号３に示されるＴＲ７ポリペプチドのアミノ酸配列のカルボキシ末端から５２位のグルタミン酸残基までが欠失した１つ以上の残基を有するポリペプチドに結合する抗体をさらに提供する。詳細には、本発明は、配列番号３の残基５２－m^5のアミノ酸配列を含むポリペプチドに結合する抗体を提供し、ここでm^5は、配列番号３のアミノ酸残基の位置に対応する５７～４１０の整数である。

【０２１３】

より詳細には、本発明は、以下の残基のアミノ酸配列を含むか、あるいは、それらからなるポリペプチドに結合する抗体を提供する：配列番号３に示されるＴＲ７配列の

【０２１４】

【数９－１】

E-52～M-410; E-52～A-409; E-52～S-408; E-52～D-407; E-52～A-406; E-52～N-405; E-52～G-404; E-52～E-403; E-52～L-402; E-52～Y-401; E-52～M-400; E-52～F-399; E-52～K-398; E-52～G-397; E-52～S-396; E-52～S-395; E-52～L-394; E-52～L-393; E-52～H-392; E-52～D-391; E-52～E-390; E-52～I-389; E-52～K-388; E-52～Q-387; E-52～K-386; E-52～A-385; E-52～L-384; E-52～R-383; E-52～E-382; E-52～G-381; E-52～L-380; E-52～T-379; E-52～E-378; E-52～L-377; E-52～A-376; E-52～D-375; E-52～L-374; E-52～L-373; E-52～T-372; E-52～H-371; E-52～V-370; E-52～S-369; E-52～A-368; E-52～D-367; E-52～R-366; E-52～G-365; E-52～T-364; E-52～K-363; E-52～N-362; E-52～V-361; E-52～W-360; E-52～K-359; E-52～I-358; E-52～L-357; E-52～M-356; E-52～T-355; E-52～Y-354; E-52～L-353; E-52～T-352; E-52～D-351; E-52～R-350; E-52～H-349; E-52～G-348; E-52～A-347; E-52～A-346; E-52～E-345; E-52～A-344; E-52～K-343; E-52～A-342; E-52～V-341; E-52～K-340; E-52～I-339; E-52～E-338; E-52～N-337; E-52～D-336; E-52～M-335; E-52～L-334; E-52～G-333; E-52～L-332; E-52～K-331; E-52～R-330; E-52～M-329; E-52～L-328; E-52～P-327; E-52～E-326; E-52～W-325; E-52～S-324; E-52～D-323; E-52～F-322; E-52～P-321; E-52～V-320; E-52～L-319; E-52～D-318; E-52～A-317; E-52～F-316; E-52～D-315; E-52～D-314; E-52～F-313; E-52～C-312; E-52～Q-311; E-52～R-310; E-52～L-309; E-52～T-308; E-52～E-307; E-52～T-306; E-52～P-305; E-52～D-304; E-52～G-303; E-52～E-302; E-52～N-301; E-52～A-300; E-52～P-299; E-52～V-298; E-52～L-297; E-52～L-296; E-52～R-295; E-52～R-294; E-52～R-293; E-52～Q-292; E-52～S-291; E-52～R-290; E-52～E-289; E-52～A-288; E-52～E-287; E-52～A-286; E-52～P-285; E-52～E-284; E-52～L-283; E-52～L-282; E-52～H-281; E-52～E-280; E-52～S-279; E-52～E-278; E-52～G-277; E-52～P-276; E-52～S-275; E-52～L-274; E-52～M-273; E-52～N-272; E-52～V-271; E-52～G-270; E-52～T-269; E-52～P-268; E-52～E-267; E-52～A-266; E-52～P-265; E-52～E-264; E-52～Q-263; E-52～V-262; E-52～E-261; E-52～M-260; E-52～E-259; E-52～Q-258; E-52～E-257; E-52～P-256; E-52～V-255; E-52

【０２１５】

【数９－２】

～Q-254; E-52～T-253; E-52～P-252; E-52～Q-251; E-52～L-250; E-52～I-249; E-52～S-248; E-52～V-247; E-52～I-246; E-52～E-245; E-52～N-244; E-52～L-243; E-52～V-242; E-52～N-241; E-52～D-240; E-52～E-239; E-52～A-238; E-52～G-237; E-52～P-236; E-52～R-235; E-52～Q-234; E-52～S-233; E-52～S-232; E-52～R-231; E-52～D-230; E-52～V-229; E-52～R-228; E-52～E-227; E-52～P-226; E-52～D-225; E-52～G-224; E-52～G-223; E-52～G-222; E-52～G-221; E-52～S-220; E-52～C-219; E-52～I-218; E-52～G-217; E-52～K-216; E-52～L-215; E-52～Y-214; E-52～P-213; E-52～L-212; E-52～V-211; E-52～K-210; E-52～K-209; E-52～W-208; E-52～L-207; E-52～L-206; E-52～S-205; E-52～K-204; E-52～C-203; E-52～V-202; E-52～F-201; E-52～V-200; E-52～A-199; E-52～V-198; E-52～I-197; E-52～L-196; E-52～V-195; E-52～V-194; E-52～A-193; E-52～A-192; E-52～V-191; E-52～T-190; E-52～V-189; E-52～G-188; E-52～I-187; E-52～I-186; E-52～I-185; E-52～G-184; E-52～S-183; E-52～E-182; E-52～K-181; E-52～H-180; E-52～V-179; E-52～C-178; E-52～E-177; E-52～I-176; E-52～D-175; E-52～S-174; E-52～W-173; E-52～P-172; E-52～T-171; E-52～C-170; E-52～D-169; E-52～G-168; E-52～V-167; E-52～K-166; E-52～V-165; E-52～M-164; E-52～G-163; E-52～R-162; E-52～P-161; E-52～C-160; E-52～G-159; E-52～T-158; E-52～R-157; E-52～C-156; E-52～K-155; E-52～R-154; E-52～C-153; E-52～M-152; E-52～E-151; E-52～P-150; E-52～S-149; E-52～D-148; E-52～E-147; E-52～E-146; E-52～R-145; E-52～F-144; E-52～T-143; E-52～G-142; E-52～E-141; E-52～E-140; E-52～C-139; E-52～Q-138; E-52～C-137; E-52～V-136; E-52～T-135; E-52～N-134; E-52～R-133; E-52～T-132; E-52～T-131; E-52～T-130; E-52～C-129; E-52～P-128; E-52～S-127; E-52～L-126; E-52～E-125; E-52～V-124; E-52～E-123; E-52～G-122; E-52～S-121; E-52～D-120; E-52～C-119; E-52～R-118; E-52～T-117; E-52～C-116; E-52～R-115; E-52～L-114; E-52～C-113; E-52～F-112; E-52～L-111; E-52～L-110; E-52～D-109; E-52～N-108; E-52～W-107; E-52～H-106; E-52～T-105; E-52～S-104; E-52～Y-103; E-52～D-102; E-52～Q-101; E-52～G-100; E-52～Y-99; E-52～K-98; E-52～C-97; E-52～S-96; E-52～I-95; E-52～C-94; E-52～D-93; E-52～R-92; E-52～G-91; E-52～D-90; E-52～E-89; E-52～S-88; E-52～I-87; E-52～H-86; E-52～H-85; E-52～G-84; E-52～P-83; E-52～P-82; E-52～C-81; E-52～L-80; E-52～G-79; E-52～E-78; E-52～S-77; E-52～P-76; E-52～S-75; E-52～S-74; E-52～R-73; E-52～K-72; E-52～Q-71; E-52～Q-70; E-52～P-69; E-52～A-68; E-52～A-67; E-52～R-66; E-52～Q-65; E-52～Q-64; E-52～P-63; E-52～A-62; E-52

【０２１６】

【数９－３】

～L-61; E-52～D-60; E-52～Q-59; E-52～Q-58;および／またはE-52～T-57;

【０２１７】

。

【０２１８】

別の実施形態において、本発明の抗体は、一般式５２－m^6によって記載されうるＴＲ７ポリペプチドのＣ末端欠失に結合し、ここでm^6は、配列番号３で同定されるアミノ酸配列に対応する５７～１８３の数である。特定の実施形態において、本発明の抗体は、以下のアミノ酸残基を含むか、あるいはそれらからなるＴＲ７ポリペプチドのＣ末端欠失に結合する：配列番号３に示されるＴＲ７細胞外ドメイン配列の

【０２１９】

【数１０－１】

E-52 ～S-183; E-52～E-182; E-52～K-181; E-52～H-180; E-52～V-179; E-52～C-178; E-52～E-177; E-52～I-176; E-52～D-175; E-52～S-174; E-52～W-173; E-52～P-172; E-52～T-171; E-52～C-170; E-52～D-169; E-52～G-168; E-52～V-167; E-52～K-166; E-52～V-165; E-52～M-164; E-52～G-163; E-52～R-162; E-52～P-161; E-52～C-160; E-52～G-159; E-52～T-158; E-52～R-157; E-52～C-156; E-52～K-155; E-52～R-154; E-52～C-153; E-52～M-152; E-52～E-151; E-52～P-150; E-52～S-149; E-52～D-148; E-52～E-147; E-52～E-146; E-52～R-145; E-52～F-144; E-52～T-143; E-52～G-142; E-52～E-141; E-52～E-140; E-52～C-139; E-52～Q-138; E-52～C-137; E-52～V-136; E-52～T-135; E-52～N-134; E-52～R-133; E-52～T-132; E-52～T-131; E-52～T-130; E-52～C-129; E-52～P-128; E-52～S-127; E-52～L-126; E-52～E-125; E-52～V-124; E-52～E-123; E-52～G-122; E-52～S-121; E-52～D-120; E-52～C-119; E-52～R-118; E-52～T-117; E-52～C-116; E-52～R-115; E-52～L-114; E-52～C-113; E-52～F-112; E-52～L-111; E-52～L-110; E-52～D-109; E-52～N-108; E-52～W-107; E-52～H-106; E-52～T-105; E-52～S-104; E-52～Y-103; E-52～D-102; E-52～Q-101; E-52～G-100; E-52～Y-99; E-52～K-98; E-52～C-97; E-52～S-96; E-52～I-95; E-52～C-94; E-52～D-93; E-52～R-92; E-52～G-91; E-52～D-90; E-52～E-89; E-52～S-88; E-52～I-87; E-52～H-86; E-52～H-85; E-52～G-84; E-52～P-83; E-52～P-82; E-52～C-81; E-52～L-80; E-52～G-79; E-52～E-78; E-52～S-77; E-52～P-76; E-52～S-75; E-52～S-74; E-52～R-73; E-52～K-72; E-52～Q-71; E-52～Q-70; E-52～P-69; E-52～A-68; E-52～A-67; E-52～R-66; E-52～Q-65; E-52～Q-64; E-52～P-63; E-52～A-62; E-52～L-61; E-52～D-60; E-52～Q-59; E-52～Q-58; および／または E-52～T-57;

【０２２０】

。

【０２２１】

本発明はまた、ＴＲ７ポリペプチドのアミノ末端およびカルボキシ末端の両方から欠損した１つ以上のアミノを有するポリペプチドに結合する抗体を提供し、このポリペプチドは、配列番号３の残基n^5-m^5および／またはn^6-m^6を有するように一般に記載され、ここでn^5、n^6、m^5、およびm^6は、上記のような整数である。

【０２２２】

ＡＴＣＣ受託番号９７９２０に含まれるｃＤＮＡクローンによってコードされる完全なＴＲ７アミノ酸配列の一部からなるポリペプチドに結合する抗体もまた含まれ、ここでこの部分は、ＡＴＣＣ受託番号９７９２０に含まれるｃＤＮＡクローンによってコードされる完全なアミノ酸配列のアミノ末端から１～約７８アミノ酸を除外するか、もしくはカルボキシ末端から１～約２３３のアミノ酸を除外するか、またはＡＴＣＣ受託番号９７９２０に含まれるｃＤＮＡクローンによってコードされる完全アミノ酸配列の上記のアミノ末端およびカルボキシ末端の欠失の任意の組み合わせを除外する。

【０２２３】

好ましくは、本発明の抗体は、その任意の部分が可溶性であると予測されるので、細胞外ドメインの一部（すなわち、配列番号３の残基５２～１８４内）のみを含むＮ末端欠失変異およびＣ末端欠失変異に結合する。

【０２２４】

ＴＲ７のいくつかのアミノ酸配列が、タンパク質の構造または機能の有意な効果なしで変化し得ることが、当該分野において認識される。配列中のこのような差異が企図される場合、活性を決めるタンパク質の重要な範囲が存在することを考えるべきである。このような範囲は、通常リガンド結合部位または死ドメイン、あるいはこれらのドメインに影響する３次構造を形成する残基を含む。

【０２２５】
従って、本発明は、実質的なＴＲ７タンパク質活性を示すか、または以下に考察されるようなタンパク質部分のようなＴＲ７の領域を含む、種々のＴＲ７タンパク質に結合する抗体をさらに含む。このような変異としては、欠損、挿入、逆位、繰り返し、および型の置換が挙げられる。どのアミノ酸変化が、表現型的にサイレントであるようかに関する指針は、Ｂｏｗｉｅ，Ｊ．Ｕ．ら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４７：１３０６～１３１０（１９９０）中に見出され得る。

【０２２６】
従って、本発明の抗体は、配列番号３のポリペプチドのフラグメント、誘導体、またはアナログに結合し得るか、またはＡＴＣＣ受託番号９７９２０中のｃＤＮＡによってコードされるものに結合し得る。このようなフラグメント、改変体または誘導体は、以下の（ｉ）～（ｉｖ）であり得る：（ｉ）アミノ酸残基の少なくとも１つ以上が、保存アミノ酸残基または非保存アミノ酸残基（好ましくは、保存アミノ酸残基、そしてより好ましくは、少なくとも１つで１０よりも少ない保存アミノ酸残基）で置換され、そしてこのような置換アミノ酸残基が、遺伝子コードによってコードされても、コードされなくてもよいもの、または（ｉｉ）アミノ酸残基の１つ以上が、置換基を含むもの、または（ｉｉｉ）成熟ポリペプチドが、別の化合物（例えば、ポリペプチドの半減期を増加する化合物（例えば、ポリエチレングリコール））に融合されるもの、または（ｉｖ）さらなるアミノ酸が、成熟ポリペプチド（例えば、ＩｇＧ　Ｆｃ融合領域ペプチドまたはリーダー配列もしくは分泌配列、または成熟ポリペプチドまたはプロタンパク質配列の精製のために用いられる配列）に融合される。このようなフラグメント、誘導体およびアナログは、本明細書中での教示から当業者の範囲内であると考えられる。

【０２２７】
荷電したアミノ酸の別の荷電したアミノ酸での置換および中性または陰性に荷電したアミノ酸での置換は、特に興味深い。後者は、ＴＲ７タンパク質の特徴を改善するために減少された陽性の電荷を有するタンパク質を生じる。凝集の防止が、非常に望まれる。タンパク質の凝集は、これらが免疫原性であり得るので、薬学的処方物を調製する場合に、活性の損失のみを生じるだけでなく、問題もまた生じ得る（Ｐｉｎｃｋａｒｄら、Ｃｌｉｎ　Ｅｘｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２：３３１～３４０（１９６７）；Ｒｏｂｂｉｎｓら、Ｄｉａｂｅｔｅｓ　３６：８３８～８４５（１９８７）；Ｃｌｅｌａｎｄら、Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ　Ｄｒｕｇ　Ｃａｒｒｉｅｒ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　１０：３０７～３７７（１９９３））。

【０２２８】
アミノ酸の置換はまた、細胞表面レセプターの結合の選択性を変化し得る。Ｏｓｔａｄｅら、Ｎａｔｕｒｅ　３６１：２６６～２６８（１９９３）は、２つの既知の型のＴＮＦレセプターの１つのみに対するＴＮＦ－αの選択的結合を生じる特定の変異を記載する。従って、本発明の抗体は、天然の変異または人為操作由来のいずれかの１つ以上のアミノ酸の置換、欠失または付加を含む、ＴＲ７レセプターに結合し得る。

【０２２９】
示されるように、変化は、好ましくは軽微な性質のもの（例えば、タンパク質の折り畳みまたは活性に有意に影響しない保存的アミノ酸置換）である（上記の表３を参照のこと）。

【０２３０】
特定の実施形態において、配列番号３および／または本明細書中に記載される任意のポリペプチドフラグメント（例えば、細胞外ドメイン）のアミノ酸配列における置換、付加または欠失の数は、７５、７０、６０、５０、４０、３５、３０、２５、２０、１５、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、１または３０～２０、２０～１５、２０～１０、１５～１０、１０～１、５～１０、１～５、１～３、もしくは１～２である。

【０２３１】
特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ７ポリペプチドまたはそのフラグメン

トもしくは改変体（特に、ＴＲ７の細胞外可溶性ドメインを含むか、あるいはそれらからなるフラグメント）に結合し、これらは、ＴＲ７における以下の保存的変異の任意の１つ以上を含む：配列番号３の

【０２３２】

【数１１－１】

A, G, I, L, S, T, またはVで置換されたM1 ; Dで置換されたE2 ; Nで置換されたQ3 ; H, またはKで置換されたR4 ; A, I, L, S, T,

【０２３３】

【数１１－２】

M, またはVで置換されたG5 ; Nで置換されたQ6 ; Qで置換されたN7 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA8 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA10 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA11 ; A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS12 ; A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG13 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA14 ; H, またはKで置換されたR15 ; H, またはRで置換されたK16 ; H, またはKで置換されたR17 ; K, またはRで置換されたH18 ; A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG19 ; A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG21 ; H, またはKで置換されたR23 ; Dで置換されたE24 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA25 ; H, またはKで置換されたR26 ; A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG27 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA28 ; H, またはKで置換されたR29 ; A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG31 ; H, またはKで置換されたR33 ; A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV34 ; H, またはRで置換されたK36 ; A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT37 ; A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL38 ; A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV39 ; A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL40 ; A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV41 ; A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV42 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA43 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA44 ; A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV45 ; A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL46 ; A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL47 ; A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL48 ; A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV49 ; A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS50 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA51 ; Dで置換されたE52 ; A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS53 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA54 ; A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL55 ; A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI56 ; A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT57 ; Nで置換されたQ58 ; Nで置換されたQ59 ; Eで置換されたD60 ; A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL61 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA62 ; Nで置換されたQ64 ; Nで置換されたQ65 ; H, またはKで置換されたR66 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA67 ; G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA68 ; Nで置換されたQ70 ; Nで置換されたQ71 ; H, またはRで置換されたK72 ; H, またはKで置換されたR73 ; A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS74 ; A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS75 ; A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS77 ; Dで置換されたE78 ; A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG79 ; A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL80 ; A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG84 ; K, またはRで置換されたH85 ; K, またはRで置換されたH86 ; A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI87 ; A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS88 ; Dで置換されたE89 ; Eで置換されたD90 ; A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG91 ; H, またはKで置換されたR92 ; Eで置換されたD93 ; A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI95 ; A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS96 ; H, またはRで置換されたK98 ; F, またはWで置換されたY99 ; A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG100 ; Nで置換されたQ101 ; Eで置換されたD102 ; F, またはWで置換されたY103

【０２３４】

【数１１－３】

；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS104；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT105；K, またはRで置換されたH106；F, またはYで置換されたW107；Qで置換されたN108；Eで置換されたD109；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL110；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL111；W, またはYで置換されたF112；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL114；H, またはKで置換されたR115；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT117；H, またはKで置換されたR118；Eで置換されたD120；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS121；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG122；Dで置換されたE123；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV124；Dで置換されたE125；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL126；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS127；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT130；A G, I, L, S, M, またはVで置換されたT131；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT132；H, またはKで置換されたR133；Qで置換されたN134；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT135；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV136；Nで置換されたQ138；Dで置換されたE140；Dで置換されたE141；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG142；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT143；W, またはYで置換されたF144；H, またはKで置換されたR145；Dで置換されたE146；Dで置換されたE147；Eで置換されたD148；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS149；Dで置換されたE151；A, G, I, L, S, T, またはVで置換されたM152；H, またはKで置換されたR154；H, またはRで置換されたK155；H, またはKで置換されたR157；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT158；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG159；H, またはKで置換されたR162；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG163；A, G, I, L, S, T, またはVで置換されたM164；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV165；H, またはRで置換されたK166；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV167；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG168；Eで置換されたD169；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT171；F, またはYで置換されたW173；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS174；Eで置換されたD175；A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI176；Dで置換されたE177；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV179；K, またはRで置換されたH180；H, またはRで置換されたK181；Dで置換されたE182；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS183；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG184；A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI185；A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI186；A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI187；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG188；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV189；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT190；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV191；G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA192；G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA193；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV194；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV195；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL196；A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI197；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV198；G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA199；

【０２３５】

【数１１－４】

A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV200；W, またはYで置換されたF201；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV202；H, またはRで置換されたK204；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS205；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL206；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL207；F, またはYで置換されたW208；H, またはRで置換されたK209；H, またはRで置換されたK210；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV211；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL212；F, またはWで置換されたY214；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL215；H, またはRで置換されたK216；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG217；A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI218；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS220；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG221；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG222；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG223；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG224；E で置換されたD225；D で置換されたE227；H, またはK で置換されたR228；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV229；E で置換されたD230；H, またはKで置換されたR231；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS232；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS233；N で置換されたQ234；H, またはKで置換されたR235；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG237；G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA238；D で置換されたE239；E で置換されたD240；Q で置換されたN241；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV242；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL243；Q で置換されたN244；D で置換されたE245；A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI246；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV247；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS248；A, G, L, S, T, M, またはVで置換されたI249；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL250；N で置換されたQ251；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT253；N で置換されたQ254；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV255；D で置換されたE257；N で置換されたQ258；D で置換されたE259；A, G, I, L, S, T, またはVで置換されたM260；D で置換されたE261；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV262；N で置換されたQ263；D で置換されたE264；G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA266；D で置換されたE267；A, G, I, L, S, M, またはVで置換されたT269；A, I, L, S, T, M, またはV で置換されたG270；A, G, I, L, S, T, またはMで置換されたV271；Q で置換されたN272；A, G, I, L, S, T, またはVで置換されたM273；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL274；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS275；A, I, L, S, T, M, またはVで置換されたG277；D で置換されたE278；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS279；D で置換されたE280；K, またはR で置換されたH281；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL282；A, G, I, S, T, M, またはVで置換されたL283；D で置換されたE284；G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA286；D で置換されたE287；G, I, L, S, T, M, またはVで置換されたA288；D で置換されたE289；H, またはK で置換されたR290；A, G, I, L, T, M, またはVで置換されたS291；N で置換されたQ292；H, またはK で置換されたR293；H, またはK で置換されたR294；

【０２３６】

【数１１－５】

H,またはKで置換されたR295；A, G, I, S, T, M,またはV で置換された L296；A, G, I, S, T, M,またはV で置換された L297；A, G, I, L, S, T,またはM で置換された V298 ；G, I, L, S, T, M, またはV で置換された A300；Q で置換された N301 ；D で置換された E302 ；A, I, L, S, T, M,またはV で置換された G303； E で置換された D304 ；A, G, I, L, S, M,またはV で置換された T306 ；D で置換された E307； A, G, I, L, S, M,またはV で置換された T308；A, G, I, S, T, M, またはV で置換された L309 ；H,またはK で置換されたR310 ；N で置換された Q311；W,またはY で置換された F313 ；E で置換された D314 ；E で置換された D315；W, または Y で置換された F316 ；G, I, L, S, T, M,またはV で置換された A317 ；E で置換された D318；A, G, I, S, T, M,またはV で置換された L319；A, G, I, L, S, T, またはM で置換された V320 ；W,または Y で置換された F322 ；E で置換されたD323；A, G, I, L, T, M,またはV で置換された S324；F,またはY で置換された W325 ；D で置換された E326 ；A, G, I, S, T, M, またはV で置換された L328 ；A, G, I, L, S, T, またはV で置換された M329 ；H, または K で置換された R330 ；H, または R で置換された K331 ；A, G, I, S, T, M,またはV で置換された L332 ；A, I, L, S, T, M, または V で置換された G333 ；A, G, I, S, T, M,またはV で置換された L334 ；A, G, I, L, S, T,またはV で置換された M335 ；E で置換された D336 ；Q で置換された N337 ；D で置換された E338；A, G, L, S, T, M,またはV で置換された I339 ；H,またはR で置換された K340；A, G, I, L, S, T,またはM で置換された V341；G, I, L, S, T, M,またはV で置換された A342 ；H,またはR で置換された K343 ；G, I, L, S, T, M, またはV で置換された A344 ；D で置換された E345；G, I, L, S, T, M,またはV で置換されたA346 ；G, I, L, S, T, M, または V で置換された A347 ；A, I, L, S, T, M, またはV で置換されたG348 ；K, または R で置換された H349；H,またはK で置換されたR350 ；E で置換された D351 ；A, G, I, L, S, M, またはV で置換された T352 ；A, G, I, S, T, M,またはV で置換された L353 ；F, or W で置換された Y354 ；A, G, I, L, S, M, or V で置換された T355；A, G, I, L, S, T, または V で置換された M356 ；A, G, I, S, T, M,またはV で置換された L357 ；A, G, L, S, T, M, または V で置換された I358 ；H,またはR で置換された K359 ；F, またはY で置換されたW360 ；A, G, I, L, S, T, またはM で置換されたV361 ；Q で置換された N362 ；H,またはR で置換された K363 ；A, G, I, L, S, M,またはV で置換された T364 ；A, I, L, S, T, M, または V で置換された G365 ；H,またはK で置換された R366 ；E で置換された D367；G, I, L, S, T, M,またはV で置換された A368 ；A, G, I, L, T, M,または V で置換された S369 ；A, G, I, L, S, T,またはM で置換された V370 ；K,または R で置換された H371；A, G, I, L, S, M,またはV で置換された T372 ；A, G, I, S, T, M, またはV で置換された L373 ；A, G, I, S, T, M,またはV で置換された L374 ；E で置換された D375 ；G, I, L, S, T, M,または V で置換されたA376 ；A, G, I, S, T, M,または V で置換された L377 ；D で置換された E378；A, G, I, L, S, M,またはV で置換された T379 ；A, G, I, S, T, M, またはV で置換された L380；A, I, L, S, T, M, またはV で置換された G381；D で置換された E382 ；

【０２３７】

【数１１－６】

H, またはKで置換されたR383 ； A, G, I, S, T, M, またはV で置換されたL384 ；G, I, L, S, T, M, またはV で置換されたA385 ；H, またはR で置換されたK386 ； N で置換されたQ387;H, またはR で置換されたK388 ;A, G, L, S, T, M, またはV で置換されたI389 ； D で置換されたE390 ； E で置換されたD391 ； K, またはR で置換されたH392 ； A, G, I, S, T, M, またはV で置換されたL393;A, G, I, S, T, M, またはV で置換されたL394 ； A, G, I, L, T, M, またはV で置換されたS395 ;A, G, I, L, T, M, またはV で置換されたS396 ;A, I, L, S, T, M, またはV で置換されたG397 ； H, またはR で置換されたK398 .; W, またはY で置換されたF399 ； A, G, I, L, S, T, またはV で置換されたM400 ; F, またはW で置換されたY401 ； A, G, I, S, T, M, またはV で置換されたL402 ； D で置換されたE403 ；A, I, L, S, T, M, またはV で置換されたG404 ；Q で置換されたN405 ；G, I, L, S, T, M, またはV で置換されたA406 ；E で置換されたD407 ； A, G, I, L, T, M, またはV で置換されたS408 ；G, I, L, S, T, M, またはV で置換されたA409 ； A, G, I, L, S, T, またはV で置換されたM410; および／またはA, G, I, L, T, M, またはV で置換されたS411

【０２３８】

。

【０２３９】

特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ７ポリペプチドまたはそのフラグメントもしくは改変体（特に、ＴＲ７の細胞外可溶性ドメインを含むか、あるいはそれらからなるフラグメント）に結合し、これは、ＴＲ７における以下の非保存的変異の任意の１つ以上を含む：配列番号３の

【０２４０】

【数１２－１】

D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたM1 ； H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたE2 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはC で置換されたQ3 ; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたR4 ;D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたG5 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V F, W, Y, P, またはC で置換されたQ6 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはC で置換されたN7 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたA8 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC で置換されたP9 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたA10 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたA11 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたS12 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたG13 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたA14; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたR15 ； D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたK16 ； D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたR17 ； D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたH18 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたG19 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC で置換されたP20 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたG21 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC で置換されたP22 ; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたR23 ; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたE24

【０２４１】

【数１２－２】

D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA25；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR26；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG27；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA28；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR29D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP30；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG31；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP32；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR33；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV34；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP35；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたK36；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたT37；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL38；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV39；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL40；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or Cで置換されたV41；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or Cで置換されたV42；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or Cで置換されたA43；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, or Cで置換されたA44；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV45；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL46；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL47；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL48；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV49；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたS50；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA51；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE52；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたS53；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL55；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA54；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたI56；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたT57；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはCで置換されたQ58；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはCで置換されたQ59；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたD60；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA62；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL61；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP63；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはCで置換されたQ64；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはCで置換されたQ65；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR66；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA67；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA68；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP69；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはCで置換されたQ70；

【０２４２】

【数１２－３】

D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはC で置換された Q71 ; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された K72 ; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換されたR73; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたS74 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された S75 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC で置換された P76 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された S77 ; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された E78 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換されたG79; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された L80 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはP で置換された C81 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC で置換された P82 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC で置換された P83 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された G84 ; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された H85 ; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された H86 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された I87 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された S88 ; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された E89 ; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された D90 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された G91 ; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された R92 ; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された D93 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはP で置換されたC94 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された I95 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換されたS96 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, または P で置換されたC97 ; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された K98 ; D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, または C で置換された Y99 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された G100 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはC で置換された Q101 ; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された D102 ; D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, または C で置換された Y103 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された S104 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された T105; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された H106 ; D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, または C で置換された W107 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, または C で置換されたN108 ; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された D109 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC で置換された L110 ; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C で置換された L111 ; D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, または C で置換されたF112 ; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはP で置換されたC113 ;

【０２４３】

【数１２－４】

D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたL114；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたR115；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはPで置換されたC116；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたT117；D, E, A, G, I, L,S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR118；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはPで置換されたC119；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたD120；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたS121；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたG122；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE123；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたV124；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE125；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL126；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたS127；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはCで置換されたP128；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,またはPで置換されたC129；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたT130；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたT131；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたT132；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR133；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはCで置換されたN134；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたT135；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV136；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはPで置換されたC137；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはCで置換されたQ138；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはPで置換されたC139；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたE140；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたE141；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたG142；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたT143；D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはCで置換されたF144；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR145；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE146；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE147；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたD148；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたS149；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP150；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE151；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはCで置換されたM152；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはPで置換されたC153；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR154；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたK155；

【０２４４】

【数１２－５】

D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはPで置換されたC156；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR157；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたT158；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG159；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはPで置換されたC160；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP161；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR162；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG163；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたM164；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV165；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたK166；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV167；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG168；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたD169；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはPで置換されたC170；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたT171；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP172；D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, またはCで置換されたW173；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたS174；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたD175；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたI176；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE177；D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはPで置換されたC178；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV179；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたH180；D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたK181；H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE182；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたS183；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG184；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたI185；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたI186；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたI187；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG188；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV189；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたT190；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV191；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA192；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA193；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV194；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV195；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL196；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたI197；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV198；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA199；D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV200；D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, またはCで置換されたF201

【０２４５】

【数１２－６】

D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV202; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはPで置換されたC203; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたK204; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたS205; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL206; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL207; D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, またはCで置換されたW208; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたK209; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたK210; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV211; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL212; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP213; D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, またはCで置換されたY214; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL215; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたK216; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG217; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたI218; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはPで置換されたC219; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたS220; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG221; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG222; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG223; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG224; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたD225; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP226; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE227; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR228; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV229; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたD230; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR231; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたS232; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたS233; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはCで置換されたQ234; D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたR235; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはCで置換されたP236; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたG237; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたA238; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE239; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたD240; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはCで置換されたN241; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたV242; D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたL243; D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはCで置換されたN244; H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはCで置換されたE245

【０２４６】

【数１２－７】

; I246(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); V247(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); S248(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); I249(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); L250(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); Q251(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, または C); P252(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC; T253(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; Q254(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, または C); V255(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C); P256(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, または C); E257(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC); Q258(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはC); E259(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C); M260(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); E261(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC); V262(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); Q263(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, または C; E264(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC); P265(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC); A266(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; E267(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC); P268(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC); T269(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); G270(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); V271(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C); N272(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, または C); M273(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); L274(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C); S275(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C); P276(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, または C; G277(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); E278(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC); S279(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); E280(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C); H281(以下で置換される: D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, または C); L282(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); L283(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; E284(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC; P285(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, または C); A286(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, または C); E287(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC); A288(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC); E289(以下で置換される:

【０２４７】

【数１２－８】

H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), R290(以下で置換される: D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), S291(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), Q292(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはC), R293(以下で置換される: D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), R294(以下で置換される: D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), R295(以下で置換される: D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), L296(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), L297(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), V298(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), P299(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC), A300(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), N301(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはC), E302(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), G303(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), D304(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), P305(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC), T306(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), E307(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), T308(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), L309(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), R310(以下で置換される: D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), Q311(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはC), C312(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはP), F313(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, またはC), D314(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), D315(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), F316(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, またはC), A317(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), D318(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), L319(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), V320(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), P321(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC), F322(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, またはC), D323(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), S324(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), W325(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, またはC), E326(以下で置換される: H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), P327(以下で置換される: D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, またはC), L328(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), M329(以下で置換される: D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC), R330(以下で置換される: D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC), K331(以下で置換される: D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y,

【０２４８】

【数１２－９】

P,またはC);L332(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);G333(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);L334(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);M335(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);D336(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);N337(以下で置換される:D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC);E338(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);I339(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);K340(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);V341(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);A342(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);K343(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);A344(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);E345(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);A346(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);A347(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);G348(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);H349(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);R350(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);D351(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);T352(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);L353(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);Y354(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC);T355(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);M356(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);L357(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);I358(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);K359(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);W360(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC);V361(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);N362(以下で置換される:D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC);K363(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);T364(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);G365(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);R366(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);D367(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);A368(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);S369(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC;V370(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);H371(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);T372(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);L373(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);L374(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);D375(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC;A376(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC;L377(以下で置換

【０２４９】

【数１２－１０】

される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC);E378(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC);T379(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);L380(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC; G381(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC);E382(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC);R383(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, or C);L384(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC);A385(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC);K386(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);Q387(以下で置換される:D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P,またはC);K388(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);I389(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);E390(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);D391(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P, またはC);H392(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L393(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; L394(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC);S395(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);S396(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; G397(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC; K398(以下で置換される:D, E, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);F399(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P,またはC);M400(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);Y401(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, A, G, I, L, S, T, M, V, P, またはC);L402(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);E403(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);G404(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC);N405(以下で置換される:D, E, H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, F, W, Y, P, またはC);A406(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);D407(以下で置換される:H, K, R, A, G, I, L, S, T, M, V, N, Q, F, W, Y, P,またはC);S408(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P, またはC);A409(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);M410(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC);および/またはS411(以下で置換される:D, E, H, K, R, N, Q, F, W, Y, P,またはC

【０２５０】

。

【０２５１】

機能に必須の本発明のＴＲ７タンパク質におけるアミノ酸は、当該分野において公知の方法（例えば、部位特異的変異誘発、またはアラニンスキャニング変異誘発）によって同定され得る（ＣｕｎｎｉｎｇｈａｍおよびＷｅｌｌｓ，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４４：１０８１～１０８５（１９８９））。後者の手順は、分子の残基ごとに単一のアラニン変異を導入する。次いで、生じた変異分子は、生物学的活性（例えば、レセプター結合またはインビトロもしくはインビトロでの増殖活性）について試験される。リガンド－レセプター結合のために重要な部位はまた、構造分析（例えば、結晶化、核磁気共鳴または光親和性標識）によって決定され得る（Ｓｍｉｔｈら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２４：８９９～９０４（１９９２）およびｄｅ　Ｖｏｓら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２５５：３０６～３１２（１９９２））。好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ７機能に必須のＴＲ７の領域に結合する。他の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ７機能に必須の

領域に結合し、そしてＴＲ７機能を阻害または無効にする。他の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ７機能に必須なＴＲ７の領域に結合し、そしてＴＲ７機能を増強する。

【０２５２】

さらに、タンパク質工学は、ＴＲ７ポリペプチドの特徴を改善または改変するために用いられ得る。当業者に公知の組換えＤＮＡ技術は、単一または複数のアミノ酸の置換、欠失、付加または融合タンパク質を含む新規変異タンパク質またはポリペプチドを生成するために使用され得る。このような改変されたポリペプチドは、例えば、増強された活性または増加された安定性を示し得る。さらに、これらは、高い収率で精製され得、そして少なくとも特定の精製条件および貯蔵条件で、対応する天然のポリペプチドよりも良好な可溶性を示す。本発明の抗体は、このような改変されたＴＲ７ポリペプチドに結合し得る。

【０２５３】

本発明の抗体によって結合され得る天然に存在しないＴＲ７改変体は、当該分野において公知の変異誘発技術を用いて生成され得る、この技術としては、オリゴヌクレオチド媒介変異、アラニンスキャンニング、ＰＣＲ変異誘発、部位特異的変異誘発（例えば、Ｃａｒｔｅｒら、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．１３：４３３１（１９８６）；およびＺｏｌｌｅｒら、Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．１０：６４８７（１９８２）を参照のこと）、カセット変異誘発（例えば、Ｗｅｌｌｓら、Ｇｅｎｅ　３４：３１５（１９８５）を参照のこと）、制限選択変異誘発（例えば、Ｗｅｌｌｓら、Ｐｈｉｌｏｓ．Ｔｒａｎｓ．Ｒ．Ｓｏｃ．Ｌｏｎｄｏｎ　ＳｅｒＡ　３１７：４１５（１９８６）を参照のこと）が挙げられる。

【０２５４】

従って、本発明はまた、選択された宿主細胞において、発現、スケールアップなどにより適したＴＲ７ポリペプチドを生成するために欠失、付加、または置換された１つ以上のアミノ酸残基を有するＴＲ７の誘導体およびアナログに結合する抗体を包含する。例えば、システイン残基は、ジスルフィド結合を除くために別のアミノ酸残基で欠失または置換され得；Ｎ連結グリコシル化部位は、例えば、超グリコシル化Ｎ連結部位として公知の酵母宿主からより簡単に回収および精製される同種の産物の発現を達成するために、改変または除去され得る。この目的のために、ＴＲ７ポリペプチド中のグリコシル化認識配列の任意の１つ以上における第１または第３のアミノ酸位の１つまたは両方での種々のアミノ酸置換、および／または任意の１つ以上のこのような認識配列の第２位でのアミノ酸欠失は、改変されたトリペプチド配列でのＴＲ７のグリコシル化を防ぐ（例えば、Ｍｉｙａｊｉｍｏら、ＥＭＢＯ　Ｊ　５（６）：１１９３～１１９７を参照のこと）。さらに、ＴＲ７ポリペプチドのアミノ酸残基の１つ以上（例えば、アルギニン残基およびリジン残基）は、例えば、フリン（ｆｕｒｉｎ）またはケキシン（ｋｅｘｉｎ）のようなプロテアーゼによる所望されないプロセシングを除くために、欠失または別の残基でケソンまたは置換され得る。

【０２５５】

本発明の抗体としてはまた、リーダーを含む寄託されたｃＤＮＡ（ＡＴＣＣ受託番号９７９２０を有する寄託物）によってコードされるポリペプチドを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体；リーダーを除く寄託されたｃＤＮＡによってコードされる成熟ポリペプチド（すなわち、成熟タンパク質）に結合する抗体；配列番号３の約１～約４１１のアミノ酸を含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体；配列番号３の約２～約４１１のアミノ酸を含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体；配列番号３の約５２～約４１１のアミノ酸を含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体；ＴＲ７細胞外ドメインを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体；ＴＲ７システインリッチドメインを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体；ＴＲ７膜貫通ドメインを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体；ＴＲ７細胞内ドメインを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体；欠失した膜貫通ドメインの全てまた

は１部を有する細胞外および細胞内ドメインを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体；およびＴＲ７死ドメインを含むか、あるいはそれらからなるポリペプチドに結合する抗体；ならびに上記のポリペプチドに少なくとも８０％同一、より好ましくは少なくとも９０％もしくは９５％同一、なおより好ましくは少なくとも９６％、９７％、９８％もしくは９９％同一であるポリペプチドが挙げられ、そしてまた少なくとも３０個のアミノ酸、そしてより好ましくは少なくとも５０個のアミノ酸を有するこのようなポリペプチドの一部に結合する抗体が挙げられる。

【０２５６】

ＴＲ７ポリペプチドの参照アミノ酸配列に対して、例えば、少なくとも９５％「同一」なアミノ酸配列を有するポリペプチドによって、そのポリペプチドのアミノ酸配列が、ＴＲ７ポリペプチドのその参照アミノ酸配列の各１００アミノ酸あたり５つまでのアミノ酸変化を含み得ることを除いて、参照配列に対して同一であることが意図される。換言すれば、参照アミノ酸配列に対して少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドを得るために、その参照配列中のアミノ酸残基の５％までが、欠失され得るかまたは別のアミノ酸で置換され得、あるいは、その参照配列中の総アミノ酸の５％までの多くのアミノ酸が、その参照配列に挿入され得る。この参照配列のこれらの変更は、この参照アミノ酸配列のアミノ末端またはカルボキシ末端の位置に生じ得るか、またはこの参照配列における残基のうちの個々にか、もしくはこの参照配列中の１つ以上の連続した基においてかのいずれかで分散して、これらの末端の位置の間の何処かに生じ得る。

【０２５７】

実際問題として、任意の特定のポリペプチドが、例えば、図１Ａ～Ｂ（配列番号３）に示されるアミノ酸配列、寄託されたｃＤＮＡクローンによってコードされるアミノ酸配列、またはこれらのフラグメントに対して、少なくとも９０％同一、９５％同一、９６％同一、９７％同一、９８％同一、または９９％同一であるか否かは、Ｂｅｓｔｆｉｔプログラム（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｕｎｉｘ（登録商標）用バージョン８，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｐａｒｋ，５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒｉｖｅ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ ５３７１１）のような公知のコンピュータープログラムを使用して従来通りに決定され得る。特定の配列が本発明に従う参照配列に対して、例えば、９５％同一であるか否かを決定するために、Ｂｅｓｔｆｉｔまたは他の任意の配列整列プログラムを使用する場合、当然のことながら、同一性のパーセントがこの参照アミノ酸配列の全長にわたって計算され、そして参照配列内のアミノ酸残基の総数の５％までの相同性におけるギャップが許容されるように、パラメーターを設定する。

【０２５８】

特定の実施形態では、参照（クエリ）配列（本発明の配列）と対象配列との間の同一性（全体的な配列整列ともいわれる）は、Ｂｒｕｔｌａｇら（Ｃｏｍｐ．Ａｐｐ．Ｂｉｏｓｃｉ．６：２３７－２４５（１９９０））のアルゴリズムに基づくＦＡＳＴＤＢコンピュータープログラムを使用して決定される。ＦＡＳＴＤＢアミノ酸整列において使用される好ましいパラメーターは、以下である：マトリクス（Ｍａｔｒｉｘ）＝ＰＡＭ ０、ｋ－タプル（ｔｕｐｌｅ）＝２、ミスマッチペナルティ（Ｍｉｓｍａｔｃｈ Ｐｅｎａｌｔｙ）＝１、ジョイニングペナルティ（Ｊｏｉｎｉｎｇ Ｐｅｎａｌｔｙ）＝２０、ランダム化グループ長（Ｒａｎｄｏｍｉｚａｔｉｏｎ Ｇｒｏｕｐ Ｌｅｎｇｔｈ）＝０、カットオフスコア（Ｃｕｔｏｆｆ Ｓｃｏｒｅ）＝１、ウインドウサイズ（Ｗｉｎｄｏｗ Ｓｉｚｅ）＝配列長、ギャップペナルティ（Ｇａｐ Ｐｅｎａｌｔｙ）＝５、ギャップサイズペナルティ（Ｇａｐ Ｓｉｚｅ Ｐｅｎａｌｔｙ）＝０．０５、ウインドウサイズ（Ｗｉｎｄｏｗ Ｓｉｚｅ）＝５００または対象アミノ酸配列の長さ（いずれかより短い方）である。この実施形態に従って、この対象配列がＮ末端またはＣ末端の欠失のために（内部欠失が理由ではなく）クエリ配列より短い場合、全体的な同一性パーセントを計算する場合にＦＡＳＴＤＢプログラムが対象配列のＮ末端およびＣ末端の短縮を考慮しないという事実を考慮するために、手動の補正がその結果に対してなされる。クエリ配列に対して、

Ｎ末端またはＣ末端で短縮化された対象配列について、同一性パーセントは、対応する対象配列と、一致／整列されない対象配列のＮ末端およびＣ末端であるクエリ配列の残基の数を、クエリ配列の総塩基のパーセントとして、計算することによって補正される。ある残基が一致／整列されるか否かの決定は、ＦＡＳＴＤＢ配列整列の結果によって決定される。次いで、このパーセントが、特定のパラメーターを用いて上記のＦＡＳＴＤＢプログラムによって算定された同一性パーセントから差し引かれ、最終的な同一性パーセントのスコアに到達する。この最終的な同一性パーセントのスコアが、本実施形態の目的に使用されるものである。クエリ配列と一致／整列されていない対象配列のＮ末端およびＣ末端に対する残基のみが、同一性パーセントのスコアを手動で調整する目的に考慮される。すなわち、対象配列の最も遠位のＮ末端残基およびＣ末端残基から外側のクエリ残基の位置のみである。例えば、９０アミノ酸残基と対象配列は、同一性パーセントを決定するために１００残基のクエリ配列と整列される。欠失は、対象配列のＮ末端で生じ、従って、ＦＡＳＴＤＢ整列は、Ｎ末端の最初の１０塩基の一致／整列を示さない。１０個の不対合残基は、配列の１０％（Ｎ末端およびＣ末端で一致していない残基の数／クエリ配列中の残基の総数）を表し、そのため１０％は、ＦＡＳＴＤＢプログラムによって算出された同一性パーセントのスコアから差し引かれる。残りの９０残基が完全に一致する場合、最終的な同一性パーセントは９０％である。別の例では、９０残基の対象配列が、１００残基のクエリ配列と比較される。この場合、欠失は、内部欠失であり、その結果、クエリと一致／整列しない残基は対象配列のＮ末端またはＣ末端に存在しない。この場合、ＦＡＳＴＤＢによって算出される同一性パーセントは、手動で補正されない。再び、ＦＡＳＴＤＢ整列において示される場合、クエリ配列と一致／整列しない対象配列のＮ末端およびＣ末端の外側の残基位置のみが、手動で補正される。他の手動の補正は、本実施形態の目的のためにはなされない。

【０２５９】

本発明のポリペプチドは、当業者に周知の方法を使用して、ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルまたは分子ふるいゲル濾過カラムでの分子量マーカーとして使用され得、そしてＴＲ７ポリペプチドを結合する抗体の作製のための供給源として使用され得る。

【０２６０】

本出願はまた、$n^{5}-m^{5}$および／または$n^{6}-m^{6}$として本明細書中で記載されるＴＲ７ポリペプチド配列に対して、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一なポリペプチドを含むタンパク質を結合する抗体に関する。好ましい実施形態において、本出願は、本明細書中に列挙される特定のＴＲ７のＮ末端欠失およびＣ末端欠失のアミノ酸配列を有するポリペプチドに、少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一なポリペプチドを含むタンパク質を結合する抗体に関する。

【０２６１】

特定の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、本発明のＴＲ７タンパク質を結合し、上記のような融合タンパク質を含み、ここで、ＴＲ７ポリペプチドは、本明細書中で$n^{5}-m^{5}$および$n^{6}-m^{6}$として記載されるポリペプチドである。

【０２６２】

（本発明の抗体は、改変ＴＲＡＩＬレセプターポリペプチドを結合し得る）

本発明の抗体が改変形態のＴＲ４タンパク質（配列番号１）を結合し得ることが、具体的に企図される。本発明の抗体がＴＲ４およびＴＲ７（配列番号３）の両方を特異的に結合する実施形態において、これらの抗体が改変形態のＴＲ４および／またはＴＲ７を結合し得ることもまた、具体的に企図され得る。改変形態のＴＲ７としては、例えば、以下に記載される改変形態のＴＲ４に対応する、改変形態のＴＲ７が挙げられる。

【０２６３】

特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド（例えば、上記のＴＲ４ポリペプチド）を結合し、これらとしては、天然より精製されたＴＲ４ポリペプチド、化学合成手順によって作製されたＴＲ４ポリペプチド、および原核生物宿主または真核生

物宿主（例えば、上記の組換え組成および組換え方法を使用する、細菌細胞、酵母細胞、高等植物細胞、昆虫細胞、および哺乳動物細胞を含む）由来の、組換え技術によって作製されたＴＲ４ポリペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。組換え産生手順において使用される宿主に依存して、これらポリペプチドは、グリコシル化されてもよいし、グリコシル化されなくてもよい。さらに、ＴＲ４ポリペプチドはまた、いくつかの場合において、宿主媒介プロセスの結果として、修飾された開始メチオニン残基を含み得る。

【０２６４】

さらに、本発明の抗体によって結合されるＴＲ４タンパク質は、当該分野で公知の技術を用いて化学合成され得る（例えば、Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｐｒｏｔｅｉｎｓ：Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ＆ Ｃｏ．，Ｎ．Ｙ．（１９８３）およびＨｕｎｋａｐｉｌｌｅｒ，ら，Ｎａｔｕｒｅ，３１０：１０５－１１１（１９８４）を参照のこと）。例えば、ＴＲ４ポリペプチドのフラグメントに対応するペプチドは、ペプチド合成機の使用により合成され得る。さらに、所望される場合、非古典的アミノ酸または化学的アミノ酸アナログが、置換または付加としてＴＲ４ポリペプチド配列に導入され得る。非古典的アミノ酸としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：一般のアミノ酸のＤ異性体、２，４－ジアミノ酪酸、ａ－アミノイソ酪酸、４－アミノ酪酸、Ａｂｕ、２－アミノ酪酸、ｇ－Ａｂｕ、ｅ－Ａｈｘ、６－アミノヘキサン酸、Ａｉｂ、２－アミノイソ酪酸、３－アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、ホモシトルリン、システイン酸、ｔ－ブチルグリシン、ｔ－ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、ｂ－アラニン、フルオロアミノ酸、デザイナー（ｄｅｓｉｇｎｅｒ）アミノ酸（例えば、ｂ－メチルアミノ酸、Ｃａ－メチルアミノ酸、Ｎａ－メチルアミノ酸）、および一般的なアミノ酸アナログ。さらに、アミノ酸は、Ｄ（右旋性）またはＬ（左旋性）であり得る。

【０２６５】

本発明はさらに、翻訳の間または翻訳後に、例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、公知の保護基／ブロック基による誘導体化、タンパク質分解性切断、抗体分子または他の細胞性リガンドへの結合などによって示差的に改変されるＴＲ４ポリペプチドを結合する抗体を含む。任意の多数の化学的改変が、以下を含むがこれらに限定されない公知の技術によって実施され得る：臭化シアン、トリプシン、キモトリプシン、パパイン、Ｖ８プロテアーゼ、$NaBH_4$による特異的化学的切断、アセチル化、ホルミル化、酸化、還元、ツニカマイシンの存在下での代謝合成；など。

【０２６６】

ＴＲ４ポリペプチドに対するさらなる翻訳後修飾としては、例えば、以下が挙げられる：Ｎ結合型もしくはＯ結合型の糖鎖（Ｎ末端またはＣ末端のプロセシング）、アミノ酸骨格への化学部分の結合、Ｎ結合型もしくはＯ結合型の糖鎖の化学修飾、および原核生物宿主細胞発現の結果としてのＮ末端メチオニン残基の付加もしくは欠失。これらのポリペプチドはまた、検出可能な標識（例えば、酵素標識、蛍光標識、同位体標識または親和性標識）を用いて改変して、このタンパク質の検出および単離を可能にし得る。

【０２６７】

本発明によってまた、さらなる利点（例えば、このポリペプチドの溶解度、安定性および循環時間の増加、または免疫原性の減少）を提供し得る、ＴＲ４ポリペプチドの化学修飾誘導体を結合する抗体が、提供される（米国特許第４，１７９，３３７号を参照のこと）。誘導体化のための化学部分は、水溶性ポリマー（例えば、ポリエチレングリコール、エチレングリコール／プロピレングリコールコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコールなど）から選択され得る。これらのポリペプチドは、この分子内のランダムな位置またはこの分子内の所定の位置で改変され得、そして１、２、３個以上の結合した化学部分を含み得る。

【０２６８】

このポリマーは、任意の分子量のポリマーであり得、そして分枝状であっても非分枝状

であってもよい。ポリエチレングリコールについて、好ましい分子量は、取り扱いおよび製造の容易さのために、約１ｋＤａと約１００ｋＤａとの間（用語「約（およそ）」は、ポリエチレングリコールの調製において、いくつかの分子は示した分子量よりも重く、いくつかの分子は示した分子量よりも軽いことを示す）である。所望の治療プロフィール（例えば、所望される持続放出の時間、（存在する場合）生物学的活性に対する効果、取り扱いの容易さ、抗原性の程度または抗原性の欠如、および治療タンパク質またはアナログに対するポリエチレングリコールの他の公知の効果）に依存して、他のサイズが用いられ得る。例えば、ポリエチレングリコールは、約２００ｋＤａ、５００ｋＤａ、１０００ｋＤａ、１５００ｋＤａ、２０００ｋＤａ、２５００ｋＤａ、３０００ｋＤａ、３５００ｋＤａ、４０００ｋＤａ、４５００ｋＤａ、５０００ｋＤａ、５５００ｋＤａ、６０００ｋＤａ、６５００ｋＤａ、７０００ｋＤａ、７５００ｋＤａ、８０００ｋＤａ、８５００ｋＤａ、９０００ｋＤａ、９５００ｋＤａ、１０，０００ｋＤａ、１０，５００ｋＤａ、１１，０００ｋＤａ、１１，５００ｋＤａ、１２，０００ｋＤａ、１２，５００ｋＤａ、１３，０００ｋＤａ、１３，５００ｋＤａ、１４，０００ｋＤａ、１４，５００ｋＤａ、１５，０００ｋＤａ、１５，５００ｋＤａ、１６，０００ｋＤａ、１６，５００ｋＤａ、１７，０００ｋＤａ、１７，５００ｋＤａ、１８，０００ｋＤａ、１８，５００ｋＤａ、１９，０００ｋＤａ、１９，５００ｋＤａ、２０，０００ｋＤａ、２５，０００ｋＤａ、３０，０００ｋＤａ、３５，０００ｋＤａ、４０，０００ｋＤａ、５０，０００ｋＤａ、５５，０００ｋＤａ、６０，０００ｋＤａ、６５，０００ｋＤａ、７０，０００ｋＤａ、７５，０００ｋＤａ、８０，０００ｋＤａ、８５，０００ｋＤａ、９０，０００ｋＤａ、９５，０００ｋＤａ、または１００，０００ｋＤａの平均分子量を有し得る。

【０２６９】

上記のように、ポリエチレングリコールは、分枝構造を有し得る。分枝ポリエチレングリコールは、例えば、米国特許第５，６４３，５７５号；Ｍｏｒｐｕｒｇｏら、Ａｐｐｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．５６：５９－７２（１９９６）；Ｖｏｒｏｂｊｅｖら、Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ １８：２７４５－２７５０（１９９９）；およびＣａｌｉｃｅｔｉら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．１０：６３８－６４６（１９９９）（これらの各々の開示が、本明細書中で参考として援用される）において記載される。

【０２７０】

ポリエチレングリコール分子（または他の化学的部分）は、このタンパク質の機能ドメインまたは抗原性ドメインに対する効果を考慮してこのタンパク質に結合されるべきである。当業者に利用可能な多数の結合方法が存在する（例えば、本明細書中に参考として援用される、ＥＰ ０ ４０１ ３８４（Ｇ－ＣＳＦへのＰＥＧの結合）、Ｍａｌｉｋら，Ｅｘｐ．Ｈｅｍａｔｏｌ．２０：１０２８－１０３５（１９９２）（塩化トレシル（ｔｒｅｓｙｌ ｃｈｌｏｒｉｄｅ）を用いたＧＭ－ＣＳＦのペグ化を報告する）もまた参照のこと）。例えば、ポリエチレングリコールは、反応性基（例えば、遊離アミノ基または遊離カルボキシル基）を介してアミノ酸残基により共有結合され得る。反応性基は、活性化ポリエチレングリコール分子が結合し得る基である。遊離のアミノ基を有するアミノ酸残基としては、リジン残基およびＮ末端アミノ酸残基が挙げられ得；遊離のカルボキシル基を有するアミノ酸残基としては、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基およびＣ末端アミノ酸残基が挙げられ得る。スルフヒドリル基もまた、ポリエチレングリコール分子を結合するための反応性基として用いられ得る。治療目的のために好ましいのは、アミノ基での結合、例えば、Ｎ末端またはリジン基での結合である。

【０２７１】

上記で示唆されるように、ポリエチレングリコールは、任意の多くのアミノ酸残基への連結を介して、タンパク質に結合され得る。例えば、ポリエチレングリコールは、リジン残基、ヒスチジン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、またはシステイン残基への共有結合を介して、タンパク質に連結され得る。１つ以上の反応化学が使用されて、タンパク質の特定のアミノ酸残基（例えば、リジン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グル

タミン酸、またはシステイン）、またはタンパク質の１つより多い型のアミノ酸残基（例えば、リジン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、およびそれらの組み合わせ）にポリエチレングリコールを結合させ得る。

【０２７２】

Ｎ末端で化学修飾されたタンパク質が特に所望され得る。ポリエチレングリコールを本発明の組成物の例示として用いて、種々のポリエチレングリコール分子（分子量、分枝などによって）から、反応混合物中でのタンパク質（または、ポリペプチド）分子に対するポリエチレングリコール分子の比、行われるペグ化反応の型、および選択されたＮ末端ペグ化タンパク質の獲得方法が選択され得る。Ｎ末端ペグ化調製物の獲得方法（すなわち、必要ならば、この部分を他のモノペグ化部分から分離すること）は、ペグ化タンパク質分子の集団からの、Ｎ末端ペグ化物質の精製により行われ得る。Ｎ末端修飾で化学修飾された選り抜きのタンパク質は、特定のタンパク質における誘導体化に利用可能な異なる型の第１級アミノ基（リジン対Ｎ末端）の差示的反応性を利用する還元的アルキル化によって達成され得る。適切な反応条件下では、カルボニル基含有ポリマーを用いた、Ｎ末端でのタンパク質の実質的に選択的な誘導体化が達成される。

【０２７３】

上記で示されたように、本発明のタンパク質のペグ化は、任意の数の手段によって達成され得る。例えば、ポリエチレングリコールは、直接的または介在リンカーによってのいずれかで、タンパク質に結合され得る。タンパク質にポリエチレングリコールを結合させるための無リンカー（ｌｉｎｋｅｒｌｅｓｓ）系は、Ｄｅｌｇａｄｏら、Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｔｈｅｒａ．Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒ Ｓｙｓ．９：２４９－３０４（１９９２）；Ｆｒａｎｃｉｓら、Ｉｎｔｅｒｎ．Ｊ．ｏｆ Ｈｅｍａｔｏｌ．６８：１－１８（１９９８）；米国特許第４，００２，５３１号；米国特許第５，３４９，０５２号；ＷＯ９５／０６０５８；およびＷＯ９８／３２４６６（これらの各々の開示は、本明細書中で参考として援用される）に記載される。

【０２７４】

介在リンカーを伴わずに、タンパク質のアミノ酸残基に直接的にポリエチレングリコールを結合させる１つの系は、トレシル化（ｔｒｅｓｙｌａｔｅｄ）ＭＰＥＧ（これは、塩化トレシル（ｔｒｅｓｙｌｃｈｌｏｒｉｄｅ）（$ClSO_2CH_2CF_3$）を使用して、モノメトキシ（ｍｏｎｍｅｔｈｏｘｙ）ポリエチレングリコール（ＭＰＥＧ）を改変することによって生成される）を使用する。トレシル化ＭＰＥＧとのタンパク質の反応に際して、ポリエチレングリコールは、タンパク質のアミン基に直接結合される。従って、本発明は、本発明のタンパク質を２，２，２－トリフルオロエタン（ｔｒｉｆｌｕｏｒｅｏｔｈａｎｅ）スルホニル基を有するポリエチレングリコール分子と反応させることによって生成される、タンパク質－ポリエチレングリコール結合体を含む。

【０２７５】

ポリエチレングリコールはまた、多くの異なる介在リンカーを使用して、タンパク質に結合され得る。例えば、米国特許第５，６１２，４６０号（この開示全体が、本明細書中で参考として援用される）は、タンパク質にポリエチレングリコールを結合させるためのウレタンリンカーを開示する。ポリエチレングリコールがリンカーによってタンパク質に結合される、タンパク質－ポリエチレングリコール結合体はまた、ＭＰＥＧ－スクシンイミジルスクシネート（ｓｕｃｃｉｎｉｍｉｄｙｌｓｕｃｃｉｎａｔｅ）、１，１’－カルボニルジイミダゾールで活性化されたＭＰＥＧ、ＭＰＥＧ－２，４，５－トリクロロフェニルカルボネート（ｔｒｉｃｈｌｏｒｏｐｅｎｙｌｃａｒｂｏｎａｔｅ）、ＭＰＥＧ－ｐ－ニトロフェノールカルボネート、および種々のＭＰＥＧ－スクシネート誘導体のような化合物とのタンパク質の反応によって生成され得る。タンパク質にポリエチレングリコールを結合させるためのさらなる多くのポリエチレングリコール誘導体および反応化学が、ＷＯ９８／３２４６６（この開示全体が、本明細書中で参考として援用される）に記載される。本明細書中に示される反応化学を使用して生成されるペグ化タンパク質産物は、本発明の範囲内に含まれる。

【０２７６】
各々のＴＲ４ポリペプチドに結合されたポリエチレングリコール部分の数（すなわち、置換の程度）もまた、変動し得る。例えば、本発明のペグ化タンパク質は、平均して、１個、２個、３個、４個、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１２個、１５個、１７個、２０個またはそれより多いポリエチレングリコール分子を連結し得る。同様に、平均の置換の程度は、タンパク質１分子あたり１～３個、２～４個、３～５個、４～６個、５～７個、６～８個、７～９個、８～１０個、９～１１個、１０～１２個、１１～１３個、１２～１４個、１３～１５個、１４～１６個、１５～１７個、１６～１８個、１７～１９個、または１８～２０個のような範囲内のポリエチレングリコール部分である。置換の程度を決定する方法は、例えば、Ｄｅｌｇａｄｏら、Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｔｈｅｒａ．Ｄｒｕｇ Ｃａｒｒｉｅｒ Ｓｙｓ．９：２４９－３０４（１９９２）において考察される。
【０２７７】
上記のように、本発明の抗体は、翻訳後プロセシングのような天然のプロセスまたは当該分野で周知の化学的改変技術のいずれかによって改変され得る、ＴＲ４ポリペプチドを結合し得る。同じ型の改変が、所定のＴＲ４ポリペプチドにおいていくつかの部位で同じ程度に存在してもよいし、または種々の程度で存在してもよいことが、理解される。ＴＲ４ポリペプチドは、例えば、ユビキチン化の結果として分枝状であり得、そして分枝してかまたは分枝せずに、環状でもあり得る。環状ＴＲ４ポリペプチド、分枝ＴＲ４ポリペプチド、および分枝環状ＴＲ４ポリペプチドは、天然の翻訳後プロセスから生じても、合成方法によって作製されてもよい。改変としては、アセチル化、アシル化、ＡＤＰ－リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトール（ｐｈｏｓｐｈｏｔｉｄｙｌｉｎｏｓｉｔｏｌ）の共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有結合架橋の形成、システインの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、γ－カルボキシル化、グリコシル化、ＧＰＩアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、ペグ化（ｐｅｇｙｌａｔｉｏｎ）、タンパク質分解プロセシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、タンパク質へのアミノ酸のトランスファーＲＮＡ媒介付加（例えば、アルギニル化）、およびユビキチン化が挙げられる。（例えば、ＰＲＯＴＥＩＮＳ－ＳＴＲＵＣＴＵＲＥ ＡＮＤ ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＰＲＯＰＥＲＴＩＥＳ，第２版，Ｔ．Ｅ．Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９３）；ＰＯＳＴＴＲＡＮＳＬＡＴＩＯＮＡＬ ＣＯＶＡＬＥＮＴ ＭＯＤＩＦＩＣＡＴＩＯＮ ＯＦ ＰＲＯＴＥＩＮＳ，Ｂ．Ｃ．Ｊｏｈｎｓｏｎ編，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１－１２頁（１９８３）；Ｓｅｉｆｔｅｒら，Ｍｅｔｈ Ｅｎｚｙｍｏｌ １８２：６２６－６４６（１９９０）；Ｒａｔｔａｎら，Ａｎｎ ＮＹ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ６６３：４８－６２（１９９２）を参照のこと）。
【０２７８】
（抗ＴＲ４抗体）
１つの実施形態において、本発明は、ＴＲ４（配列番号１）またはそのフラグメントもしくは改変体を免疫特異的に結合する抗体（例えば、ジスルフィド結合によって一緒に連結された、２つの重鎖および２つの軽鎖を含む抗体）を提供し、ここで、重鎖アミノ酸配列および軽鎖アミノ酸配列は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖまたは細胞株によって発現される、重鎖および軽鎖のアミノ酸配列と同一である。別の実施形態において、本発明は、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体を免疫特異的に結合する抗体（各々が、ジスルフィド架橋によって一緒に連結された２つの重鎖および２つの軽鎖から構成されて、抗体を形成する）を提供し、ここで、重鎖アミノ酸配列または軽鎖アミノ酸配列は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖまたは細胞株によって発現される、重鎖または軽鎖のアミノ酸配列と同一である。ＴＲ４ポリペプチドに対する免疫特異的な結合は、特異的な抗体－抗原結合をアッセイするための、当該分野で公知であるかまたは本明細書中に記載される免疫アッセイによって、決定され得る。ＴＲ４に免疫特異的に結合するこれ

ら抗体のフラグメントまたは改変体を含む分子か、あるいはそれらより構成される分子は、また、これら抗体分子、フラグメントおよび／または改変体（例えば、配列番号５４～６５）をコードする核酸分子がそうであるように、本発明に包含される。

【０２７９】

本発明の１つの実施形態において、ＴＲ４に免疫特異的に結合する抗体、またはそれらのフラグメントもしくは改変体は、表１に参照されるｓｃＦｖまたは細胞株のうちの少なくとも１つによって発現される重鎖のいずれか１つのアミノ酸配列、および／または表１に参照されるｓｃＦｖまたは細胞株のうちの少なくとも１つによって発現される軽鎖のいずれか１つのアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。

【０２８０】

本発明の別の実施形態において、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する抗体が、表１に参照されるｓｃＦｖのうちの少なくとも１つのＶＨドメインのいずれか１つのアミノ酸配列、および／または表１に参照されるｓｃＦｖのうちの少なくとも１つのＶＬドメインのいずれか１つのアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。好ましい実施形態において、本発明の抗体は、表１に参照される１つのｓｃＦｖ由来のＶＨドメインおよびＶＬドメインのアミノ酸配列を含む。代替の実施形態において、本発明の抗体は、表１に参照される異なるｓｃＦｖ由来のＶＨドメインおよびＶＬドメインのアミノ酸配列を含む。ＴＲ４に免疫特異的に結合する、表１に参照される、ｓｃＦｖのうちの少なくとも１つのＶＨドメインおよび／もしくはＶＬドメインの抗体フラグメントもしくは改変体を含む分子、あるいはそれらから構成される分子もまた、核酸分子がこれらのＶＨドメインおよびＶＬドメイン、分子、フラグメントおよび／または改変体をコードしている場合、本発明に包含される。

【０２８１】

本発明はまた、ＴＲ４ポリペプチド、またはＴＲ４ポリペプチドフラグメントもしくはＴＲ４改変体に免疫特異的に結合する抗体を提供し、ここで、この抗体は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖのＶＨドメイン中に含まれる、任意の１つ、２つ、３つ以上のＶＨ　ＣＤＲのアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むか、あるいはこのポリペプチドより構成される。特に、本発明は、ＴＲＡＩＬレセプターを免疫特異的に結合する抗体を提供し、この抗体は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖのＶＨドメイン中に含まれる、ＶＨ　ＣＤＲ１のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むか、あるいはこのポリペプチドより構成される。別の実施形態において、ＴＲ４を免疫特異的に結合する抗体は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖのＶＨドメイン中に含まれる、ＶＨ　ＣＤＲ２のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むか、あるいはこのポリペプチドより構成される。好ましい実施形態において、ＴＲ４を免疫特異的に結合する抗体は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖのＶＨドメイン中に含まれる、ＶＨ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むか、あるいはこのポリペプチドより構成される。ＴＲ４またはＴＲ４のフラグメントもしくはその改変体に免疫特異的に結合する、これらの抗体または抗体フラグメントもしくはその改変体を含む分子、あるいはそれらから構成される分子もまた、これらの抗体、分子、フラグメントおよび／または改変体をコードする核酸分子（例えば、配列番号５４～６５）がそうであるように、本発明に包含される。

【０２８２】

本発明はまた、ＴＲ４ポリペプチド、またはＴＲ４ポリペプチドフラグメントもしくはＴＲ４改変体に免疫特異的に結合する抗体も提供し、ここで、この抗体は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖのＶＬドメイン中に含まれる、任意の１つ、２つ、３つ以上のＶＬ　ＣＤＲのアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むか、あるいはこのポリペプチドより構成される。特に、本発明は、ＴＲ４を免疫特異的に結合する抗体を提供し、この抗体は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖのＶＬドメイン中に含まれる、ＶＬ　ＣＤＲ１のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むか、あるいはこのポリペプチドより構成される。別の実施形態において、ＴＲ４を免疫特異的に結合する抗体は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖのＶＬドメイン中に含まれる、ＶＬ　ＣＤＲ２のアミノ酸配列を有する

ポリペプチドを含むか、あるいはこのポリペプチドより構成される。好ましい実施形態において、ＴＲ４を免疫特異的に結合する抗体は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖのＶＬドメイン中に含まれる、ＶＬ　ＣＤＲ３のアミノ酸配列を有するポリペプチドを含むか、あるいはこのポリペプチドより構成される。ＴＲ４またはＴＲ４のフラグメントもしくはその改変体に免疫特異的に結合する、これらの抗体または抗体フラグメントもしくはその改変体を含む分子、あるいはそれらから構成される分子もまた、これらの抗体、分子、フラグメントおよび／または改変体をコードする核酸分子（例えば、配列番号５４～６５）がそうであるように、本発明に包含される。

【０２８３】

本発明はまた、抗体（抗体フラグメントまたは改変体を含む分子、あるいはそれらから構成される分子を含む）を提供し、この抗体は、ＴＲ４ポリペプチド、またはＴＲ４フラグメントもしくはＴＲ４改変体に免疫特異的に結合し、ここで、この抗体は、表１に参照される、１つ以上のｓｃＦｖのＶＨドメインまたはＶＬドメイン中に含まれるような、１つ、２つ、３つ以上のＶＨ　ＣＤＲ、または１つ、２つ、３つ以上のＶＬ　ＣＤＲを含むか、あるいはこれらより構成される。特に、本発明は、ＴＲ４ポリペプチド、またはＴＲ４ポリペプチドフラグメントもしくはＴＲ４改変体に免疫特異的に結合する抗体を提供し、ここで、この抗体は、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖのＶＨドメインまたはＶＬドメイン中に含まれる、ＶＨ　ＣＤＲおよびＶＬ　ＣＤＲのうち、ＶＨ　ＣＤＲ１およびＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ１およびＶＬ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ１およびＶＬ　ＣＤＲ３、ＶＨ　ＣＤＲ２およびＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２およびＶＬ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ２およびＶＬ　ＣＤＲ３、ＶＨ　ＣＤＲ３およびＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ３およびＶＬ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３およびＶＬ　ＣＤＲ３、またはそれらの任意の組み合わせを含むか、またはこれらより構成される。好ましい実施形態において、これらの組み合せの１つ以上は、表１に開示されるものと同一のｓｃＦｖに由来する。ＴＲ４に免疫特異的に結合する、これらの抗体フラグメントもしくは抗体改変体を含む分子、あるいはそれらから構成される分子もまた、これらの抗体、分子、フラグメントまたは改変体をコードする核酸分子（例えば、配列番号５４～６５）がそうであるように、本発明に包含される。

【０２８４】

（抗ＴＲ４抗体をコードする核酸分子）

本発明はまた、本発明の抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含む分子、あるいはこれらより構成される分子を含む）をコードする核酸分子（一般的には単離されている）を提供する。特定の実施形態において、本発明の抗体をコードする核酸分子は、配列番号５４～６５、またはそのフラグメントもしくは改変体を含むか、あるいはこれらより構成される。

【０２８５】

特定の実施形態において、本発明の核酸分子は、抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含む分子、あるいはこれらより構成される分子を含む）をコードし、表１に参照されるｓｃＦｖのうちの少なくとも１つの、いずれか１つのＶＨドメインのアミノ酸配列を有するＶＨドメイン、および表１に参照されるｓｃＦｖのうちの少なくとも１つのＶＬドメインのアミノ酸配列を有するＶＬドメインを含むか、あるいはこれらより構成される。別の実施形態において、本発明の核酸分子は、抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含む分子、あるいはこれらより構成される分子を含む）をコードし、表１に参照される、ｓｃＦｖのうちの少なくとも１つのいずれか１つのＶＨドメインのアミノ酸配列を有するＶＨドメイン、または表１に参照されるｓｃＦｖのうちの少なくとも１つのＶＬドメインのアミノ酸配列を有するＶＬドメインを含むか、あるいはこれらより構成される。

【０２８６】

本発明はまた、本明細書中に記載された抗体分子（例えば、ＶＨドメインおよび／またはＶＬドメイン）の改変体（誘導体を含む）を含むか、あるいはこれより構成される抗体を提供し、これらの抗体は、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体に免疫特異的

に結合する。当業者に公知の標準的な方法を使用して、本発明の分子をコードする核酸配列中に変異を導入し得、この方法としては、例えば、アミノ酸の置換を生じる、部位特異的変異誘発およびＰＣＲ媒介変異誘発が挙げられる。好ましくは、この改変体（誘導体を含む）は、参照のＶＨドメイン、ＶＨＣＤＲ１、ＶＨＣＤＲ２、ＶＨＣＤＲ３、ＶＬドメイン、ＶＬＣＤＲ１、ＶＬＣＤＲ２、またはＶＬＣＤＲ３に対して、５０アミノ酸未満の置換か、４０アミノ酸未満の置換、３０アミノ酸未満の置換、２５アミノ酸未満の置換、２０アミノ酸未満の置換、１５アミノ酸未満の置換、１０アミノ酸未満の置換、５アミノ酸未満の置換、４アミノ酸未満の置換、３アミノ酸未満の置換、または２アミノ酸未満の置換をコードする。「保存的アミノ酸置換」とは、アミノ酸残基が、類似な電荷を有する側鎖を有するアミノ酸残基と置換される置換である。類似な電荷を有す側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当該分野で規定されている。これらのファミリーは、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、無電荷の極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、無極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、β分枝側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）および芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸を含む。あるいは、変異は、コード配列の全体または一部に沿って、例えば、飽和変異誘発によってランダムに導入され得、そして得られた変異体を、生物学的活性についてスクリーニングして、活性（例えば、ＴＲ４に結合する能力）を保持する変異体を同定し得る。

【０２８７】

例えば、抗体分子のフレームワーク領域のみまたはＣＤＲ領域のみに変異を導入し得る。導入された変異は、サイレントまたは中性のミスセンス変異（すなわち、抗体の抗原結合能に対して全く影響を有さないか、またはほとんど影響を有さない）であり得る。これらの型の変異は、コドン使用を最適化するか、またはハイブリドーマの抗体産生を向上させるために有用であり得る。あるいは、非中性ミスセンス変異は、抗体の抗原結合能を変更し得る。多くのサイレントおよび中性のミスセンス変異の位置は、フレームワーク領域中にあるようである一方、多くの非中性ミスセンス変異の位置は、ＣＤＲ中に存在するようであるが、このことは絶対的要件ではない。当業者は、抗原結合活性の変更または結合活性の変更のないような所望の特性（例えば、抗原結合活性の改善または抗体特異性の変更）を有する変異体分子を設計し得、そして試験し得る。変異誘発の後、コードされたタンパク質は、慣習的に、発現され得、そしてコードされたタンパク質の機能的活性および／または生物学的活性（例えば、免疫特異的にＴＲ４を結合する能力）を、本明細書中に記載される技術を用いるか、または当該分野で公知の慣習的な改変技術によって、決定し得る。

【０２８８】

特定の実施形態において、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体を免疫特異的に結合する、本発明の抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含む分子か、あるいはそれらより構成される分子を含む）は、ストリンジェントな条件下（例えば、約４５℃の６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中でのフィルターに結合したＤＮＡへのハイブリダイゼーション、その後、約５０～６５℃の０．２×ＳＳＣ／０．１％ＳＤＳ中での１回以上の洗浄）か、高度にストリンジェントな条件下（例えば、約４５℃の６×ＳＳＣ中でのフィルターに結合した核酸へのハイブリダイゼーション、その後、６８℃の０．１×ＳＳＣ／０．２％ＳＤＳ中での１回以上の洗浄）か、または当業者に公知の他のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下（例えば、Ａｕｓｕｂｅｌ，Ｆ．Ｍ．ら編、（１９８９）「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，第Ｉ巻，Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ，Ｉｎｃ．およびＪｏｈｎ Ｗｉｅｌｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，６．３．１～６．３．６頁および２．１０．３頁を参照のこと）で、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖの、ＶＨドメインまたはＶＬドメインのうちの１つをコードする配列

に相補的であるヌクレオチド配列にハイブリダイズする核酸配列によってコードされるアミノ酸配列を含むか、あるいはそれらより構成される。これらの抗体をコードする核酸分子もまた、本発明によって包含される。

【０２８９】

同様のアミノ酸配列を有するポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体が、しばしば同様の構造、および同一の生物学的活性の多くを有することは、当該分野で周知である。従って、１つの実施形態において、ＴＲ４またはＴＲ４フラグメントもしくはＴＲ４改変体に免疫特異的に結合する抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含む分子か、あるいはそれらより構成される分子を含む）は、表１に参照されるｓｃＦｖの少なくとも１つのＶＨドメインのアミノ酸配列に対して、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を有するＶＨドメインを含むか、あるいはそれらから構成される。

【０２９０】

別の実施形態において、ＴＲ４またはＴＲ４フラグメントもしくはＴＲ４改変体に免疫特異的に結合する抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含む分子か、あるいはそれらより構成される分子を含む）は、表１に参照されるｓｃＦｖの少なくとも１つのＶＬドメインのアミノ酸配列に対して、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を有するＶＬドメインを含むか、あるいはそれらから構成される。

【０２９１】

（抗体を産生する方法）

本発明に従う抗体は、好ましくは、ｓｃＦｖファージディスプレイライブラリーを利用して調製される。同じことを達成するために利用される技術は、本明細書中に開示される、特許、特許出願、および参考文献において開示される。

【０２９２】

ファージディスプレイ法において、機能的抗体ドメインは、それらをコードするポリヌクレオチド配列を保有するファージ粒子の表面に提示される。特に、ＶＨドメインおよびＶＬドメインをコードするＤＮＡ配列を、動物のｃＤＮＡライブラリー（例えば、リンパ組織のヒトｃＤＮＡライブラリーまたはマウスｃＤＮＡライブラリー）または合成ｃＤＮＡライブラリーから増幅する。ＶＨドメインおよびＶＬドメインをコードするＤＮＡを、ＰＣＲによるｓｃＦｖリンカーによって一緒に連結して、そしてファージミドベクター（例えば、ｐＣＡＮＴＡＢ　６　またはｐＣｏｍｂ　３　ＨＳＳ）中にクローニングする。このベクターを、Ｅ．ｃｏｌｉにエレクトロポレーションするか、またはヘルパーファージを用いてＥ．ｃｏｌｉを感染させる。これらの方法で使用されるファージは、代表的に、ｆｄおよびＭ１３を含む繊維状ファージであり、そしてＶＨドメインおよびＶＬドメインを、通常は、ファージの遺伝子ＩＩＩまたは遺伝子ＶＩＩＩのいずれかと組換えによって融合する。目的の抗原を用いて（すなわち、ＴＲＡＩＬレセプターポリペプチドまたはそのフラグメント）に結合する抗原結合ドメインを発現するファージを、例えば、標識抗原、または固体表面またはビーズに結合された抗原もしくは捕捉された抗原を使用して、抗原を用いて選択または同定され得る。本発明の抗体を作製するために使用され得るファージディスプレイ法の例としては、以下に開示される方法が挙げられるが、これらに限定されない：Ｂｒｉｎｋｍａｎら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　１８２：４１－５０（１９９５）；Ａｍｅｓら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　１８４：１７７－１８６（１９９５）；Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：９５２－９５８（１９９４）；Ｐｅｒｓｉｃら、Ｇｅｎｅ　１８７　９－１８（１９９７）；Ｂｕｒｔｏｎら、Ａｄｖａｎｃｅｓ　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　５７：１

９１－２８０（１９９４）；ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＧＢ９１／０１　１３４；ＰＣＴ公開ＷＯ　９０／０２８０９；ＷＯ　９１／１０７３７；ＷＯ　９２／０１０４７；ＷＯ　９２／１８７１９；ＷＯ　９３／１１２３６；ＷＯ　９５／１５９８２；ＷＯ　９５／２０４０１；ＷＯ　９７／１３８４４；ならびに米国特許第５，６９８，４２６号；同第５，２２３，４０９号；同第５，４０３，４８４号；同第５，５８０，７１７号；同第５，４２７，９０８号；同第５，７５０，７５３号；同第５，８２１，０４７号；同第５，５７１，６９８号；同第５，４２７，９０８号；同第５，５１６，７１７号；同第５，７８０，２２５号；同第５，６５８，７２７号；同第５，７３５，７４３号および同第５，９６９，１０８号（これらの各々は、本明細書中でその全体が参考として援用される）。

【０２９３】

いくつかの使用のために（例えば、本発明の抗体のインビトロ親和性成熟のため）、ファージディスプレイライブラリーにおける単鎖抗体またはＦａｂフラグメントとして、表１に参照される１つ以上のｓｃＦｖのＶＨドメインまたはＶＬドメインを発現することは有用であり得る。例えば、表１中に参照されるｓｃＦｖのＶＨドメインまたはＶＬドメインをコードするｃＤＮＡを、ファージディスプレイライブラリーを使用して、あらゆる可能な組み合わせで発現され得、親和性の向上または解離速度の向上のような、好ましい結合特性を有してＴＲ４ポリペプチドを結合するＶＨ／ＶＬの組み合せの選択を可能とする。さらに、ＶＨセグメントおよびＶＬセグメント（表１に参照されるｓｃＦｖのＶＨドメインおよびＶＬドメインのＣＤＲ領域）は、特に、インビトロで変異誘発され得る。ファージディスプレイライブラリーにおいて「変異体」ＣＤＲを有するＶＨドメインおよびＶＬドメインの発現は、親和性の向上または解離速度の向上のような、好ましい結合特性を有してＴＲ４ポリペプチドを結合するＶＨ／ＶＬの組み合せの選択を可能とする。

【０２９４】

（抗体産生のさらなる方法）

本発明の抗体（抗体フラグメントまたは改変体を含む）を、当該分野で公知の任意の方法によって産生し得る。例えば、本発明に従う抗体を、ハイブリドーマ細胞株以外の細胞株において発現し得ることが認識される。特定の抗体のためのｃＤＮＡクローンまたはゲノムクローンをコードする配列を、適切な哺乳動物宿主細胞または非哺乳動物宿主細胞の形質転換のために使用し得るか、または例えば、ファージディスプレイライブラリーを作製し得る。さらに、本発明のポリペプチド抗体は、化学的に合成されても組換え発現系の使用を介して産生されてもよい。

【０２９５】

本発明の抗体を産生する１つの方法は、表１に参照されるｓｃＦｖのＶＨドメインおよび／またはＶＬドメインをクローニングすることである。ｓｃＦｖを含むベクターでトランスフェクトされた細菌からＶＨドメインおよびＶＬドメインを単離するために、ＶＨヌクレオチド配列またはＶＬヌクレオチド配列に相補的なＰＣＲプライマー（実施例５を参照のこと）を使用して、ＶＨ配列およびＶＬ配列を増幅し得る。次いで、このＰＣＲ産物を、例えば、５’および３’での１つのＴの突出からなるＰＣＲ産物クローニング部位を有するベクターを使用してクローニングし得、この突出は、ＰＣＲ反応のために使用される多くのＤＮＡポリメラーゼによって、ＰＣＲ産物の５’末端および３’末端上に付加される１つのアデニンヌクレオチドの突出に相補的である。次いで、このＶＨドメインおよびＶＬドメインを、当該分野で公知の従来法を使用して、配列決定し得る。あるいは、全体のｓｃＦｖを増幅するように設計されたベクター特異的なプライマーを使用して、このＶＨドメインおよびＶＬドメインを増幅し得る（すなわち、ＶＨドメイン、リンカーおよびＶＬドメイン）。

【０２９６】

クローニングされたＶＨ遺伝子およびＶＬ遺伝子を、１つ以上の適切な発現ベクター中に配置し得る。非限定的な例示の目的で、ＶＨヌクレオチド配列またはＶＬヌクレオチド配列、制限部位、および制限部位を保護するための隣接配列を含むＰＣＲプライマーを使用して、ＶＨ配列またはＶＬ配列を増幅し得る。当業者に公知のクローニング技術を使用

して、ＰＣＲ増幅したＶＨドメインを、適切な免疫グロブリン定常領域（例えば、それぞれ、ＶＨドメインについてはヒトＩｇＧ１定常領域またはＩｇＧ４定常領域、そしてκＶＬドメインおよびλＶＬドメインについては、ヒトκ定常領域またはヒトλ定常領域）を発現するベクター中にクローニングし得る。好ましくは、ＶＨドメインおよびＶＬドメインを発現するためのベクターは、選択された発現系において重鎖および軽鎖の発現を指向するために適切なプロモーター、分泌シグナル、免疫グロブリン可変ドメインについてのクローニング部位、免疫グロブリン定常ドメインについてのクローニング部位、ならびにネオマイシンのような選択マーカーについてのクローニング部位を含む。ＶＨドメインおよびＶＬドメインをまた、必要な定常領域を発現する単一のベクター中にクローニングし得る。次いで、この重鎖転換ベクターおよび軽鎖転換ベクターを細胞株に同時トランスフェクトして、当業者に公知の技術（例えば、Ｇｕｏら、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌ．Ｍｅｔａｂ．８２：９２５－３１（１９９７）およびＡｍｅｓら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　１８４：１７７－８６（１９９５）（これらは、本明細書中でその全体が参考として援用される）を参照のこと）を使用して、全長の抗体（例えば、ＩｇＧ）を発現する安定な細胞株または一過性の細胞株を作製する。

【０２９７】

本発明は、ポリヌクレオチドを提供し、これは、本発明の抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含む分子、あるいはそれらより構成される分子を含む）をコードするヌクレオチド配列を含むか、またはこれより構成される。本発明はまた、例えば、前出に規定されるように、高度なストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下でか、あるいは中程度または低度のストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下で、本発明の抗体またはそのフラグメントもしくは改変体をコードするポリヌクレオチド配列を有する核酸に相補的なポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドを含む。

【０２９８】

これらのポリヌクレオチドを獲得し得、そして当該分野で公知の任意の方法によって、これらのポリヌクレオチドの核酸配列を決定し得る。ＶＨドメイン、ＶＬドメインおよびそのＣＤＲのアミノ酸配列が公知である場合、これらの抗体をコードするヌクレオチド配列は、当該分野で周知の方法を使用して、決定され得る（すなわち、本発明の抗体をコードする核酸を作製するように、特定のアミノ酸をコードすることが既知のヌクレオチドコドンを構築する）。この抗体をコードするこのようなポリヌクレオチドを、化学合成されたオリゴヌクレオチド（例えば、Ｋｕｔｍｅｉｅｒら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１７：２４２（１９９４）に記載されるような）から構築し得る。これは、簡潔に述べると、以下の工程を包含する：抗体をコードする配列の部分を含む重複するオリゴヌクレオチドの合成、これらのオリゴヌクレオチドのアニーリングおよび連結、次いでＰＣＲによって連結されたオリゴヌクレオチドの増幅。

【０２９９】

あるいは、抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含む分子、あるいはそれらより構成される分子を含む）をコードするポリヌクレオチドは、適切な供給源由来の核酸から作製され得る。特定の抗体をコードする核酸を含むクローンは利用可能でないが、その抗体分子の配列が既知である場合、免疫グロブリンをコードする核酸は、化学合成され得るか、適切な供給源（例えば、抗体ｃＤＮＡライブラリー、または抗体を発現する任意の組織もしくは細胞（例えば、本発明の抗体の発現するハイブリドーマ細胞、またはエプスタインバーウイルスで形質転換されたＢ細胞株）から作製されたｃＤＮＡライブラリー、またはそれから単離された核酸（好ましくはポリＡ＋ＲＮＡ））から、例えば、抗体をコードするｃＤＮＡライブラリーからのｃＤＮＡクローンを同定するために、配列の３’末端もしくは５’末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用するＰＣＲ増幅によって、または、例えば、抗体をコードするｃＤＮＡライブラリーからｃＤＮＡクローンを同定するために、特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用するクローニングによって得られ得る。次いで、ＰＣＲによって作製された増幅された核酸は、当該分野で周知の任意の方法を用いて、複製可能なクローニングベクターにクローニングされ

得る。

【０３００】

一旦、抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むか、あるいはそれらからなる分子を含む）のヌクレオチド配列が決定されると、抗体のヌクレオチド配列は、ヌクレオチド配列の操作について当該分野で周知の方法（例えば、組換えＤＮＡ技術、部位特異的変異誘発、ＰＣＲなど（例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、１９９０，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，第２版、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹおよびＡｕｓｕｂｅｌら編、１９９８，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，ＮＹに記載の技術を参照のこと。これらは両方がその全体において本明細書に参考として援用される。））を用いて操作され、例えば、アミノ酸の置換、欠失、および／または挿入を作製するように異なるアミノ酸配列を有する抗体を生成し得る。

【０３０１】

特定の実施形態において、表１において参照される１つ以上のｓｃＦｖｓのＶＨドメインおよびＶＬドメイン、またはそれらのフラグメントもしくは改変体が、当該分野で公知の組換えＤＮＡ技術を使用して、フレームワーク領域内に挿入される。特定の実施形態において、表１において参照される１つ以上のｓｃＦｖｓのＶＨドメインおよび／またはＶＬドメインの、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つもしくはそれ以上のＣＤＲ、またはそれらのフラグメントもしくは改変体が、当該分野で公知の組換えＤＮＡ技術を使用して、フレームワーク領域内に挿入される。このフレームワーク領域は天然に存在し得るか、またはコンセンサスフレームワーク領域であり得、そして好ましくはヒトフレームワーク領域であり得る（例えば、列挙したヒトフレームワーク領域については、Ｃｈｏｔｈｉａら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２７８：４５７－４７９（１９９８）を参照のこと（その内容は、その全体が本明細書中で参考として援用される））。好ましくは、フレームワーク領域およびＣＤＲの組み合わせによって生成されたポリヌクレオチドは、ＴＲＡＩＬレセプターに特異的に結合する抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むか、あるいはそれらからなる分子を含む）をコードする。好ましくは、上記に議論されるように、１つ以上のアミノ酸置換は、フレームワーク領域内で作製され得、そして好ましくは、そのアミノ酸置換は、抗体のその抗原への結合を改善する。さらに、このような方法は、１つ以上の鎖内ジスルフィド結合が欠如した抗体分子または抗体フラグメントもしくは改変体を生成するように、鎖内ジスルフィド結合に関与する１つ以上の可変領域のシステイン残基のアミノ酸置換または欠失を作製するために使用され得る。ポリヌクレオチドへの他の変更は、本発明によって、および当該分野の技術において包含される。

【０３０２】

ＹＡＣにおけるメガベースサイズのヒト遺伝子座をクローン化し、再構築し、そしてマウスの生殖系列にそれらを導入する能力は、非常に大きな遺伝子座または粗野にマッピングされた遺伝子座の機能的構成要素を解明するため、およびヒト疾患の有用なモデルを作成するための、強力なアプローチを提供する。さらに、マウス遺伝子座をヒト等価物で置き換えるための、このような技術の利用は、発達の間のヒト遺伝子産物の発現および調節、他の系との連絡、ならびに、疾患の誘導および進行における改善に、独自の識見を与える。

【０３０３】

このようなストラテジーの重要な実用的適用は、マウス体液性免疫系の「ヒト化」である。ヒト免疫グロブリン（Ｉｇ）遺伝子座を外因性Ｉｇ遺伝子が失活されているマウスに導入することによって、プログラム化された発現の基礎を成す機構および抗体のアセンブリ、ならびにＢ細胞発生におけるそれらの役割を研究する機会が提供される。さらに、このようなストラテジーは、完全なヒトモノクローナル抗体（Ｍａｂ）を産生するのに理想的な供給源を、ヒト疾患における抗体療法の見込みの実現に向けた重要な工程に提供し得る。

【０３０４】
完全なヒト抗体は、マウスまたはマウス誘導体化モノクローナル抗体に対する免疫原応答および対立遺伝子応答を最小にし、それによって、投与される抗体の有効性および安全性を増大させると、予測される。完全なヒト抗体の使用は、繰返し抗体を投与することが必要とされる、慢性および再発性のヒト疾患（例えば、癌）の処置における実質的な利点を提供すると予測され得る。
【０３０５】
この目的への１つのアプローチは、マウスが、マウス抗体の非存在下でヒト抗体の多量のレパートリーを産生するという予測において、ヒトＩｇ遺伝子座の多量のフラグメントを用いて、マウス抗体産物を欠失したマウス系統を操作することであった。大きいヒトＩｇフラグメントは、種々の多量な遺伝子多様性、ならびに抗体の産生および発現の適切な調節を保存する。ヒトタンパク質に対する、抗体の多様性および選択性および免疫学的耐性の欠失に対するマウスの機構を利用することによって、これらのマウス系統における再生されたヒト抗体は、目的の任意の抗原（ヒト抗原を含む）に対して高い親和性の抗体を生じるはずである。ハイブリドーマ技術を使用して、所望の特異性を有する抗原特異的ヒトモノクローナル抗体が、容易に産生および選択され得る。
【０３０６】
この一般的なストラテジーは、１９９４年に公開された、第一のＸｅｎｏＭｏｕｓｅ[TM]系統の産生と関連して実証された。Ｇｒｅｅｎら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ７：１３－２１（１９９４）。ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ[TM]系統は、それぞれ、ヒト重鎖遺伝子座およびκ軽鎖遺伝座（これらは、コア可変領域配列および定常領域配列を含んだ）の２４５ ｋｂおよび１０ １９０ ｋｂサイズの生殖系列配置を含む、酵母人工染色体（ＹＡＣＳ）を用いて操作された。同書。ヒトＩｇ含有ＹＡＣは、抗体の配置と発現の両方についてマウス系と適合性であることを証明し、かつ失活したマウスＩｇ遺伝子を置換することができた。これは、Ｂ細胞の発達を誘導し、完全なヒト抗体の成熟様ヒトレパートリーを産生し、そして抗原特異的ヒトモノクローナル抗体を産生する能力によって実証された。これらの結果はまた、より多くのＶ遺伝子を含有するヒトＩｇ遺伝子座のより大きな部分、さらなる調節エレメント、およびヒトＩｇ定常領域の導入が、感染および免疫化に対するヒト体液性応答の特徴である、実質的に完全なレパートリーを再利用し得ることを示唆する。Ｇｒｅｅｎらの研究は、近年、ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ[TM]マウスを作製するために、それぞれヒト重鎖遺伝子座およびκ軽鎖遺伝子座の、メガベースサイズの生殖系列配置のＹＡＣフラグメントの導入によって、ヒト抗体レパートリーの約８０％よりも高い導入にまで及んだ。Ｍｅｎｄｅｚら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １５：１４６－１５６（１９９７）、ＧｒｅｅｎおよびＪａｋｏｂｏｖｉｔｓ Ｊ Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８８：４８３－４９５（１９９８），Ｇｒｅｅｎ，Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ ２３１：１１－２３（１９９９）および米国特許出願番号０８／７５９，６２０（１９９６年１２月３日出願）（これらの開示は、本明細書中で参考として援用される）を参照のこと。
【０３０７】
このようなアプローチは、さらに以下で議論され、開示される：米国特許出願番号０７／４６６，００８（１９９０年１月１２日出願）、米国特許出願番号０７／７１０，５１５（１９９０年１１月８日出願）、米国特許出願番号０７／１９１９，２９７（１９９２年７月２４日出願）、米国特許出願番号０７／９２２，６４９（１９９２年７月３０日出願）、米国特許出願番号０８／０３１，８０１（１９９３年３月１５日出願）、米国特許出願番号０８／１１２，８４８（１９９３年８月２７日出願）、米国特許出願番号０８／２３４，１４５（１９９４年４月２８日出願）、米国特許第号０８／３７６，２７９（１９９５年１月２０日出願）、米国特許出願番号０８／４３０，９３８（１９９５年４月２７日出願）、米国特許出願番号０８／４６４，５８４（１９９５年６月５日出願）、米国特許出願番号０８／４６４，５８２（１９９５年６月５日出願）、米国特許出願番号０８／４７１，１９１（１９９５年６月５日出願）、米国特許出願番号０８／４６２，８３７

（１９９５年６月５日出願）、米国特許出願番号０８／４８６，８５３（１９９５年６月５日出願）、米国特許出願番号０８／４８６，８５７（１９９５年６月５日出願）、米国特許出願番号０８／４８６，８５９（１９９５年６月５日出願）、米国特許出願番号０８／４６２，５１３（１９９５年６月５日出願）、米国特許出願番号０８／７２４，７５２（１９９６年１０月２日出願）、および米国特許出願番号０８／７５９，６２０（１９９６年１２月３日出願）。Ｍｅｎｄｅｚら、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １５：１４６－１５６（１９９７）、ならびにＧｒｅｅｎおよびＪａｋｏｂｏｖｉｔｓ Ｊ Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８８：４８３ ４９５（１９９８）もまた参照のこと。欧州特許番号ＥＰ ０ ４７１ １５１ Ｂ１（１９９６年６月１２日に譲渡公開）、国際特許出願番号ＷＯ９４／０２６０２（１９９４年２月３日公開）、国際特許出願番号ＷＯ９６／３４０９６（１９９６年１０月３１日公開）、およびＷＯ９８／２４８９３（１９９８年６月１１日公開）もまた参照のこと。上記で引用される特許の各々の開示は、その全体が本明細書中で参考として援用される。

【０３０８】

ヒト抗マウス抗体（ＨＡＭＡ）応答は、キメラ抗体、さもなければヒト化抗体を調製するための産業を導く。キメラ抗体は、ヒト定常領域およびマウス可変領域を有するが、特定のヒト抗キメラ抗体（ＨＡＣＡ）応答が、特に、抗体の長期用量利用または複数用量利用において観察されると予測される。従って、ＴＲ４ポリペプチドに対する完全なヒト抗体を提供して、ＨＡＭＡ応答またはＨＡＣＡ応答の関係および／または有効性を無効にすることが、望ましい。

【０３０９】

ＴＲ４ポリペプチドに特異的なモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術を使用して、調製され得る。（Ｋｏｈｌｅｒら、Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５（１９７５）；Ｋｏｈｌｅｒら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．６：５１１（１９７６）；Ｋｏｈｌｅｒら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．６：２９２（１９７６）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇら：Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ，Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，ｐｐ．５７１－６８１（１９８１））。簡潔には、ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ™マウスは、ＴＲ４ポリペプチドで免疫され得る。免疫後、このようなマウスの脾細胞は、抽出され、そして適切な骨髄腫細胞株と融合された。任意の適切な骨髄腫細胞株は、本発明に従って用いられ得た。しかしＡＴＣＣから利用可能な、親骨髄腫細胞株（ＳＰ２Ｏ）を用いることが、好ましい。融合後、得られたハイブリドーマ細胞は、選択的にＨＡＴ培地で維持され、次いで、Ｗａｎｄｓら（Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ ８０：２２５－２３２（１９８１））によって記載されるような限界希釈によってクローン化される。次いで、このような選択によって得られたハイブリドーマ細胞は、ＴＲ４ポリペプチドを結合し得る抗体を分泌するクローンを同定するためにアッセイされる。

【０３１０】

いくつかの用途（ヒトにおける抗体のインビボでの使用およびインビトロ検出アッセイ）について、ヒト抗体またはキメラ抗体を使用するのが、好ましい。完全なヒト抗体は、ヒト患者の治療的処置のために、特に望ましい。米国特許第４，４４４，８８７号および同第４，７１６，１１１号；ならびにＰＣＴ公開ＷＯ ９８／４６６４５、ＷＯ ９８／５０４３５、ＷＯ ９８／２４８９３、ＷＯ ９８／１６６５４、ＷＯ ９６／３４０９６、ＷＯ ９６／３５７３５、およびＷＯ ９１／１０７４１（これらの各々は、その全体が本明細書中で参考として援用される）もまた参照のこと。特定の実施形態において、本発明の抗体は、本発明の１以上のＶＨドメインおよびＶＬドメイン、ならびに別の免疫グロブリン分子（好ましくは、ヒト免疫グロブリン分子）由来の定常領域を包含する。特定の実施形態において、本発明の抗体は、本発明のＶＨドメインおよびＶＬドメイン、ならびに別の免疫グロブリン分子（好ましくは、ヒト免疫グロブリン分子）由来のフレームワーク領域に対応する、１以上のＣＤＲを包含する。別の実施形態において、本発明の抗体は、ヒト免疫グロブリン分子由来の、表１において参照される１以上のｓｃＦｖｓの１

以上のＶＨドメインまたはＶＬドメイン、あるいはそれらのフラグメントまたは改変体、およびフレームワーク領域（および、必要に応じて、表１において参照されるｓｃＦｖｓによって発現される抗体由来ではない１以上のＣＤＲ）に対応する、１、２、３、４、５、６以上のＶＬ　ＣＤＲまたはＶＨ　ＣＤＲを包含する。好ましい実施形態において、本発明の抗体は、同じｓｃＦｖｓ、または表１において参照されるｓｃＦｖｓから選択される異なるｓｃＦｖｓ、あるいはそれらのフラグメントまたは改変体、およびヒト免疫グロブリン由来のフレームワーク領域に対応する、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ３、またはそれら両方を包含する。

【０３１１】

キメラ抗体は、抗体の異なる部分が、ヒト抗体免疫グロブリン定常領域および非ヒト抗体（例えば、マウス）免疫グロブリン定常領域（逆も同様）由来の可変領域を有する抗体のような、異なる免疫グロブリン分子由来である、分子である。キメラ抗体を作製するための方法は、当該分野で公知である。例えば、Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２２９：１２０２（１９８５）；Ｏｉら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　４：２１４（１９８６）；Ｇｕｌｌｉｅｓら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　１２５：１９１－２０２（１９８９）；米国特許第５，８０７，７１５号；同第４，８１６，５６７号；および同第４，８１６，３９７号（これらは、その全体が本明細書中で参考として援用される）を参照のこと。ヒト種由来の１以上のＣＤＲおよび非ヒト免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域（例えば、マウス、イヌまたはネコの免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域）に対応するキメラ抗体（逆も同様）は、当該分野で公知の種々の技術を使用して作製され得、これらの技術としては、以下が挙げられる：例えば、ＣＤＲ移植（ＥＰ　２３９，４００；ＰＣＴ公開ＷＯ　９１／０９９６７；米国特許第５，２２５，５３９号；同第５，５３０，１０１号；および同第５，５８５，０８９号）、前装または再舗装（ＥＰ　５９２，１０６；ＥＰ　５１９，５９６；Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　２８（４／５）：４８９－４９８（１９９１）；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ　７（６）：８０５－８１４（１９９４）；Ｒｏｇｕｓｋａら、ＰＮＡＳ　９１：９６９－９７３（１９９４））、および鎖シャッフリング（米国特許第５，５６５，３５２号）。好ましい実施形態において、キメラ抗体は、表１において参照される１以上のｓｃＦｖｓのＶＨドメインまたはＶＬドメインのＶＨ　ＣＤＲ３またはＶＬ　ＣＤＲ３のいずれか１つのアミノ酸配列を有するヒトＣＤＲ３、あるいはそれらの改変体、および表１に開示される対応するｓｃＦｖｓにおけるフレームワークの領域とは異なる、非ヒトフレームワーク領域またはヒトフレームワーク領域を含む。しばしば、フレームワーク領域内のフレームワーク残基は、抗原結合を変化させるため（好ましくは、抗原結合を改善するため）に、ＣＤＲドナー抗体由来の対応する残基で置換される。これらのフレームワーク置換は、当該分野で周知の方法によって（例えば、ＣＤＲ残基およびフレームワーク残基の相互作用をモデリングして、抗原結合に重要なフレームワーク残基を同定することによって、ならびに配列を比較して、特定の位置における異常なフレームワーク残基を同定することによって）、同定される。（例えば、Ｑｕｅｅｎら、米国特許第５，５８５，０８９号；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎら、Ｎａｔｕｒｅ　３５２：３２３（１９８８）（これらは、その全体が本明細書中で参考として援用される）を参照のこと。

【０３１２】

細胞内発現抗体（ｉｎｔｒａｂｏｄｙ）は、抗体（しばしば、ｓｃＦｖｓ）であり、組換え核酸分子から発現され、そして細胞間で保持されるように（例えば、細胞質、小胞体、またはペリプラズムに保持されるように）操作される。細胞内発現抗体は、例えば、この細胞内発現抗体を結合するタンパク質の官能基を切断するために使用され得る。細胞内発現抗体の発現はまた、細胞内発現抗体を含む核酸発現ベクターにおける誘導性プロモーターの使用を介して、調節され得る。本明細書中の細胞内発現抗体は、Ｃｈｅｎら、Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．５：５９５－６０１（１９９４）；Ｍａｒａｓｃｏ，Ｗ．Ａ．，Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．４：１１－１５（１９９７）；ＲｏｎｄｏｎおよびＭａｒａｓｃ

o，Annu．Rev．Microbiol．５１：２５７－２８３（１９９７）；Probaら、J．Mol．Biol．２７５：２４５－２５３（１９９８）；Cohenら、Oncogene １７：２４４５－２４５６（１９９８）；OhageおよびSteipe，J．Mol．Biol．２９１：１１１９－１１２８（１９９９）；Ohageら、J．Mol．Biol．２９１：１１２９－１１３４（１９９９）；WirtzおよびSteipe，Protein Sci．８：２２４５－２２５０（１９９９）；Zhuら、J．Immunol．Methods ２３１：２０７－２２２（１９９９）；ならびに本明細書中に列挙される参考文献に開示および総説されるような、当該分野で公知の方法を使用して作製され得る。

【０３１３】

本発明の抗体（そのフラグメントまたは改変体を含む）（例えば、本発明の抗体の重鎖もしくは軽鎖）の組換え発現は、その抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構築を必要とする。一旦、本発明の抗体分子（抗体分子全体、抗体分子の抗体の重鎖もしくは軽鎖、あるいはそれらの部分（好ましくは、重鎖または軽鎖の可変ドメインを含有するが、必ずしも含有するとは限らない））をコードするポリヌクレオチドが得られると、抗体分子の産生のためのベクターは、当該分野で周知の技術を用いる組換えＤＮＡ技術によって生成され得る。従って、抗体をコードするヌクレオチド配列を含有するポリヌクレオチドの発現によってタンパク質を調製するための方法は、本明細書に記載される。当業者に周知の方法は、抗体をコードする配列ならびに適切な転写制御シグナルおよび翻訳制御シグナルを含有する発現ベクターの構築のために使用され得る。これらの方法には、例えば、インビトロの組換えＤＮＡ技術、合成技術、およびインビボの遺伝子組換えが挙げられる。従って、本発明は、プロモーターに作動可能に連結された、本発明の抗体分子（例えば、抗体分子全体、抗体の重鎖もしくは軽鎖、重鎖もしくは軽鎖の可変領域、重鎖もしくは軽鎖のＣＤＲ、単鎖Ｆｖ、またはそれらのフラグメントもしくは改変体）をコードするヌクレオチド配列を含む、複製可能なベクターを提供する。このようなベクターは、抗体分子の定常領域（例えば、ＰＣＴ公開 ＷＯ８６／０５８０７；ＰＣＴ公開 ＷＯ８９／０１０３６；および米国特許第５，１２２，４６４号を参照のこと（これらの各々の内容は、その全体が本明細書中で参考して援用される））をコードするヌクレオチド配列を含み得、そしてこの抗体の可変ドメインは、重鎖全体、軽鎖全体、重鎖または軽鎖の両方の全体の発現のためにこのようなベクターにクローニングされ得る。

【０３１４】

この発現ベクターは、従来技術によって宿主細胞へと移入され、そしてこのトランスフェクトされた細胞は、次いで、本発明の抗体を産生するために、従来技術によって培養される。従って、本発明は、異種プロモーターに作動可能に連結された、本発明の抗体（例えば、抗体全体、その重鎖もしくは軽鎖、またはその部分、または単鎖抗体、またはそれらのフラグメントもしくは改変体）をコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞を含む。全抗体分子の発現についての好ましい実施形態において、重鎖および軽鎖の両方をコードするベクターは、以下に詳述されるように、免疫グロブリン分子全体の発現のために宿主細胞中に同時発現され得る。

【０３１５】

種々の宿主発現ベクター系は、本発明の抗体分子を発現させるために利用され得る。このような宿主発現系は、目的のコード配列が産生され、かつ続いて精製され得るビヒクルを表わすが、また、適切なヌクレオチドをコードする配列で形質転換またはトランスフェクトされる場合に、インサイチュで本発明の抗体分子を発現し得る細胞を表わす。これらには、以下が挙げられるが、これらに限定されない：その抗体フラグメントもしくは改変体を発現するように操作されたバクテリオファージ粒子（単鎖抗体）、抗体をコードする配列を含む組換えバクテリオファージＤＮＡ、プラスミドＤＮＡまたはコスミドＤＮＡ発現ベクターを用いて形質転換された細菌（例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ、Ｂ．ｓｕｂｔｉｌｉｓ）のような微生物；抗体をコードする配列を含む組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（例えば、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｐｉｃｈｉａ）；抗体をコードする配列

を含む組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系；組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、ＣａＭＶ；タバコモザイクウイルス、ＴＭＶ）に感染した植物細胞系または抗体をコードする配列を含む組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Ｔｉプラスミド）で形質転換された植物細胞系；あるいは哺乳動物細胞のゲノムに由来するプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）または哺乳動物のウイルスに由来するプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス７．５Ｋプロモーター）を含む組換え発現構築物を保有する哺乳動物細胞系（例えば、ＣＯＳ細胞、ＣＨＯ細胞、ＢＨＫ細胞、２９３細胞、３Ｔ３細胞、ＮＳ０細胞）。好ましくは、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉのような細菌細胞、そしてより好ましくは、特に、組換え抗体分子全体の発現のために真核生物細胞が、組換え抗体分子の発現のために使用される。例えば、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要即時性初期（ｍａｊｏｒ ｉｎｔｅｒｍｅｄｉａｔｅ ｅａｒｌｙ）遺伝子プロモーターエレメントのようなベクターと組み合わされた、チャイニーズハムスターの卵巣細胞（ＣＨＯ）のような哺乳動物細胞が、抗体のための効果的な発現系である（Ｆｏｅｃｋｉｎｇら、Ｇｅｎｅ ４５：１０１（１９８６）；Ｃｏｃｋｅｔｔら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ８：２（１９９０）；Ｂｅｂｂｉｎｇｔｏｎら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １０：１６９（１９９２）；ＫｅｅｎおよびＨａｌｅ，Ｃｙｔｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １８：２０７（１９９６））。これらの参考文献は、その全体が本明細書中で参考として援用される。

【０３１６】

細菌系において、多くの発現ベクターが、抗体分子の発現を意図する使用に依存して有利に選択され得る。例えば、多量のこのようなタンパク質が産生されるべき場合、抗体分子の薬学的組成物の生成のために、容易に精製される融合タンパク質産物の高レベルの発現を指向するベクターが所望され得る。このようなベクターには、以下が挙げられるが、これらに限定されない：抗体をコードする配列がｌａｃＺをコードする領域と共にベクターにインフレーム（ｉｎ ｆｒａｍｅ）で個別に連結され得、その結果、融合タンパク質が産生されるＥ．ｃｏｌｉ発現ベクターｐＵＲ２７８（Ｒｕｔｈｅｒら、ＥＭＢＯ １．２：１７９１（１９８３））；ｐＩＮベクター（Ｉｎｏｕｙｅ＆Ｉｎｏｕｙｅ、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１３：３１０１－３１０９（１９８５）；Ｖａｎ Ｈｅｅｋｅ＆Ｓｃｈｕｓｔｅｒ、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２４：５５０３－５５０９（１９８９））など。ｐＧＥＸベクターもまた、グルタチオンＳ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）との融合タンパク質として、外来性ポリペプチドを発現させるために使用され得る。一般に、このような融合タンパク質は可溶性であり、そして溶解した細胞から、マトリックスグルタチオン－アガロースビーズへの吸着および結合、それに続く遊離グルタチオン存在下での溶出によって容易に精製され得る。このｐＧＥＸベクターは、トロンビンまたはＸａ因子プロテアーゼ切断部位を含むように設計され、その結果、このクローニングされた標的遺伝子産物は、ＧＳＴ部分から放出され得る。

【０３１７】

昆虫系においては、Ａｕｔｏｇｒａｐｈａ ｃａｌｉｆｏｒｎｉｃａ核多角体病ウィルス（ＡｃＮＰＶ）は、異種遺伝子を発現するためのベクターとして使用され得る。このウイルスは、Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ細胞において増殖する。抗体をコードする配列は、このウイルスの非必須の領域（例えばポリヘドリン遺伝子）に個々にクローニングされ得、そしてＡｃＮＰＶプロモーター（例えばポリヘドリンプロモーター）の制御下に配置され得る。

【０３１８】

哺乳動物宿主細胞においては、多数のウイルスに基づく発現系が利用され得る。アデノウイルスが発現ベクターとして使用される場合においては、目的の抗体をコードする配列は、アデノウイルスの転写／翻訳制御複合体、例えば後期プロモーターおよび３つの部分に分かれるリーダー配列、に連結され得る。次いで、このキメラ遺伝子は、インビトロまたはインビボでの組換えによって、アデノウィルスゲノムに挿入され得る。ウイルスのゲ

ノムの非必須領域（例えば、Ｅ１領域またはＥ３領域）における挿入は、生存可能で、感染した宿主において抗体分子を発現する能力のある組換えウイルスを生じる（例えば、Ｌｏｇａｎ＆Ｓｈｅｎｋ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８１：３５５－３５９（１９８４）を参照のこと）。特異的開始シグナルはまた、挿入された抗体をコードする配列の効率的な翻訳のために必要とされ得る。これらのシグナルは、ＡＴＧ開始コドンおよび隣接する配列を含む。さらに、この開始コドンは、挿入部分全体の翻訳を確実にするために、所望されるコード配列のリーディングフレーム（ｒｅａｄｉｎｇ ｆｒａｍｅ）と相が同じでなければならない。これらの外因性翻訳制御シグナルおよび開始コドンは、種々の起源、天然および合成の両方であり得る。発現の効率は、適切な転写エンハンサー要素、転写ターミネーター、などの含有によって高められ得る（例えば、Ｂｉｔｔｎｅｒら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌ．１５３：５１－５４４（１９８７）を参照のこと）。

【０３１９】

さらに、宿主細胞系統は、選択され得、これは挿入配列の発現を調節し、または、所望される特異的な様式で遺伝子産物を改変し、そしてプロセシングする。タンパク質産物のこのような改変（例えば、グリコシル化）およびプロセシング（例えば切断）は、タンパク質の機能のために重要であり得る。異なる宿主細胞は、タンパク質および遺伝子産物の、翻訳後プロセシングおよび改変のための、特徴的で特異的な機構を有する。適切な細胞株または宿主系は、発現された異種タンパク質の正確な改変およびプロセシングを確実にするように選択され得る。この目的のために、遺伝子産物の、第一の転写、グリコシル化、およびリン酸化の正確なプロセシングのための細胞機構を有する、真核生物宿主細胞が、使用され得る。このような哺乳動物宿主細胞は、ＣＨＯ、ＶＥＲＹ、ＢＨＫ、Ｈｅｌａ、ＣＯＳ、ＮＳＯ、ＭＤＣＫ、２９３、３Ｔ３、Ｗ１３８、そして特に、例えば、ＢＴ４８３、Ｈｓ５７８Ｔ、ＨＴＢ２、ＢＴ２ＯおよびＴ４７Ｄのような乳癌細胞株、ならびに、例えば、ＣＲＬ７Ｏ３ＯおよびＨｓ５７８Ｂｓｔのような正常な乳腺細胞株を含むが、これらに限定されない。

【０３２０】

組換えタンパク質の長期間の高収率産生、安定発現が好ましい。例えば、安定に抗体分子を発現する細胞株が操作され得る。ウイルスの複製起点を含む発現ベクターを使用するよりも、宿主細胞は、適切な発現制御要素（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位、など）、および選択マーカーによって制御されるＤＮＡで形質転換され得る。異種ＤＮＡの導入に続いて、操作された細胞は、１～２日間富化培地で増殖させられ得、次いで、選択培地に切り替えられる。組換えプラスミドにおける選択マーカーは、選択に対する耐性を与え、そして細胞が、プラスミドをその染色体内に安定に組み込み、そして増殖して、細胞増殖巣を形成し、これを今度はクローニングし得、増殖して細胞株になり得ることを可能にする。この方法は、抗体分子を発現する細胞株を操作するために、有利に使用され得る。このような操作された細胞株は、直接的または間接的に抗体分子と相互作用する化合物のスクリーニングおよび評価において、特に有用であり得る。

【０３２１】

多数の選択系が使用され得、この選択系は、単純ヘルペスウィルスチミジンキナーゼ（Ｗｉｇｌｅｒら、Ｃｅｌｌ １１：２２３（１９７７））、ヒポキサンチン－グアニン ホスホリボシルトランスフェラーゼ（Ｓｚｙｂａｌｓｋａ＆Ｓｚｙｂａｌｓｋｉ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ４８：２０２（１９９２））、およびアデニン ホスホリボシルトランスフェラーゼ（Ｌｏｗｙら、Ｃｅｌｌ ２２：８１７（１９８０））の遺伝子を含むが限定されず、これらの遺伝子は、ｔｋ－、ｈｇｐｒｔ－またはａｐｒｔ－細胞においてそれぞれ使用され得る。また、代謝拮抗物質耐性は、以下の遺伝子の選択の根拠として使用され得る：ｄｈｆｒ、これはメトトレキサートに対する耐性を与える（Ｗｉｇｌｅｒら、Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：３５７（１９８０）；Ｏ’Ｈａｒｅら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７８：１５２７

（１９８１））；ｇｐｔ、これはミコフェノール酸に対する耐性を与える（Ｍｕｌｌｉｇａｎ&Ｂｅｒｇ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７８：２０７２（１９８１））；ｎｅｏ、これはアミノグリコシドＧ－４１８に対する耐性を与える（Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｙ １２：４８８－５０５；Ｗｕ ａｎｄ Ｗｕ、Ｂｉｏｔｈｅｒａｐｙ ３：８７－９５（１９９１）；Ｔｏｌｓｔｏｓｈｅｖ、Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｔｏｘｉｃｏｌ． ３２：５７３－５９６（１９９３）；Ｍｕｌｌｉｇａｎ、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６０：９２６－９３２（１９９３）；およびＭｏｒｇａｎ ａｎｄ Ａｎｄｅｒｓｏｎ、Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．６２：１９１－２１７（１９９３）；１９９３年5月、ＴＩＢ ＴＥＣＨ １１（５）：１５５－２１５）；ならびにｈｙｇｒｏ、これはハイグロマイシンに対する耐性を与える（Ｓａｎｔｅｒｒｅら、Ｇｅｎｅ ３０：１４７（１９８４））。組換えＤＮＡ技術の分野で周知の方法は、所望の組換えクローンを選択するために、慣用的に適用され得、そしてこのような方法は、以下に記載されている：例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら（編）、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ&Ｓｏｎｓ、ＮＹ（１９９３）；Ｋｒｉｅｇｌｅｒ、Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ ａｎｄ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ、Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ、ＮＹ（１９９０）；ならびに１２章および１３章、Ｄｒａｃｏｐｏｌｉら（編）、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ&Ｓｏｎｓ、ＮＹ（１９９４）；Ｃｏｌｂｅｒｒｅ－Ｇａｒａｐｉｎら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ． １５０：１（１９８１）（これらはその全体が本明細書中に参考として援用される）。

【０３２２】

抗体分子の発現レベルは、ベクター増幅によって増大され得る（総説として、ＢｅｂｂｉｎｇｔｏｎおよびＨｅｎｔｓｃｈｅｌ、「Ｔｈｅ ｕｓｅ ｏｆ ｖｅｃｔｏｒｓ ｂａｓｅｄ ｏｎ ｇｅｎｅ ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｆｏｒ ｔｈｅ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ｃｌｏｎｅｄ ｇｅｎｅｓ ｉｎ ｍａｍｍａｌｉａｎ ｃｅｌｌｓ」ＤＮＡ ｃｌｏｎｉｎｇ、Ｖｏｌ．３．（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９８７）を参照のこと）。抗体を発現するベクター系におけるマーカーが、増幅可能であると、宿主細胞の培養物に存在するインヒビターのレベルにおける増加は、マーカー遺伝子のコピーの数を増加する。増幅領域は抗体遺伝子のコード配列と結合しているので、抗体の産生もまた増加する（Ｃｒｏｕｓｅら、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．３：２５７（１９８３））。

【０３２３】

選択可能なマーカーとしてグルタミンシンターゼ（ＧＳ）またはＤＨＦＲを使用するベクターは、それぞれ、薬物メチオニンスルホキシミンまたはメトトレキサートの存在下で増幅され得る。グルタミンシンターゼベースのベクターの利点は、グルタミンシンターゼ陰性である細胞株（例えば、マウス骨髄腫細胞株、ＮＳ０）の有効性である。グルタミンシンターゼ発現系はまた、さらなるインヒビターを提供して、外来性遺伝子の機能を防止することによって、グルタミンシンターゼ発現細胞（例えば、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞）において機能し得る。グルタミンシンターゼ発現系およびその成分は、以下に詳述される：ＰＣＴ公開ＷＯ８７／０４４６２；ＷＯ８６／０５８０７；ＷＯ８９／０１０３６；ＷＯ８９／１０４０４；およびＷＯ９１／０６６５７（これらは、その全体が本明細書中で参考として援用される）。従って、本発明に従って使用され得るグルタミンシンターゼ発現ベクターは、例えば、Ｌｏｎｚａ Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ，Ｉｎｃ．（Ｐｏｒｔｓｍｏｕｔｈ，ＮＨ）を含む供給源者から市販されている。マウス骨髄腫細胞においてＧＳ発現系を使用した、モノクローナル抗体の発現および産生は、Ｂｅｂｂｉｎｇｔｏｎら、Ｂｉｏ／ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １０：１６９（１９９２）、ならびにＢｂｌｉａおよびＲｏｂｉｎｓｏｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｐｒｏｇ．１１：１（１９９５）（これらは、その全体が本明細書中で参考として援用される）に記載されている。

【０３２４】

宿主細胞は、本発明の二つの発現ベクター（重鎖由来のポリペプチドをコードする第一のベクターおよび軽鎖由来のポリペプチドをコードする第二のベクター）で、同時トランスフェクトされ得る。これらの二つのベクターは、重鎖および軽鎖のポリペプチドの等しい発現を可能にする、同一の選択マーカーを含み得る。あるいは、単一のベクターが使用され得、これは重鎖および軽鎖両方のポリペプチドをコードし、そして発現することができる。このような状況において、過剰の毒性の遊離重鎖を避けるために、好ましくは、重鎖の前に軽鎖が配置される（Ｐｒｏｕｄｆｏｏｔ、Ｎａｔｕｒｅ ３２２：５２（１９８６）；Ｋｏｈｌｅｒ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：２１９７（１９８０））。重鎖および軽鎖のためのコード配列は、ｃＤＮＡまたはゲノムＤＮＡを含み得る。

【０３２５】

一旦本発明の抗体分子（その抗体フラグメントまたは改変体を含むか、あるいはそれらからなる分子を含む）が、化学的に合成されるか、または組換えにより発現されると、当該分野で公知の、免疫グロブリン分子（またはより一般的には、タンパク質分子）の精製のための任意の方法、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、アフィニティー（特に、プロテインＡの後に特異的抗原に対するアフィニティーによる）、およびサイズカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、溶解度差、またはタンパク質精製のための任意の他の標準的な技術によって、精製され得る。さらに、本発明の抗体は、本明細書中に記載されるかまたはそうでなければ当該分野において公知の、異種ポリペプチド配列に融合され得、精製を容易にする。

【０３２６】

（抗ＴＲ４抗体の特徴付け）

本発明の抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むか、あるいはそれらからなる分子を含む）はまた、ＴＲ４ポリペプチドまたはＴＲ４ポリペプチドのフラグメントもしくは改変体へのそれらの結合によって、記載または特定化され得る。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体に結合し、5×10^{-2}Ｍ、10^{-2}Ｍ、5×10^{-3}Ｍ、10^{-3}Ｍ、5×10^{-4}Ｍ、10^{-4}Ｍ、5×10^{-5}Ｍまたは10^{-5}Ｍ以下の解離定数、すなわちK_Dを有する。より好ましくは、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチドまたはそのフラグメントもしくは改変体に結合し、5×10^{-6}Ｍ、10^{-6}Ｍ、5×10^{-7}Ｍ、10^{-7}Ｍ、5×10^{-8}Ｍ、10^{-8}Ｍ以下の解離定数、すなわちK_Dを有する。さらにより好ましくは、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体に結合し、5×10^{-9}Ｍ、10^{-9}Ｍ、5×10^{-10}Ｍ、10^{-10}Ｍ、5×10^{-11}Ｍ、10^{-11}Ｍ、5×10^{-12}Ｍ、10^{-12}Ｍ、5×10^{-13}Ｍ、10^{-13}Ｍ、5×10^{-14}Ｍ、10^{-14}Ｍ、5×10^{-15}Ｍまたは10^{-15}Ｍ以下の解離定数、すなわちK_Dを有する。本発明は、ＴＲ４ポリペプチドに結合する抗体を包含し、個々の列挙された値の各々の間のいずれか１つの範囲内にある解離定数、すなわちK_Dを有する。

【０３２７】

特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体に結合し、5×10^{-2}秒$^{-1}$、10^{-2}秒$^{-1}$、5×10^{-3}秒$^{-1}$または10^{-3}秒$^{-1}$以下のオフ速度（ｏｆｆ　ｒａｔｅ）（k_{off}）を有する。より好ましくは、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体に結合し、5×10^{-4}秒$^{-1}$、10^{-4}秒$^{-1}$、5×10^{-5}秒$^{-1}$または10^{-5}秒$^{-1}$、5×10^{-6}秒$^{-1}$、10^{-6}秒$^{-1}$、5×10^{-7}秒$^{-1}$または10^{-7}秒$^{-1}$以下のオフ速度（k_{off}）を有する。本発明は、ＴＲ４ポリペプチドに結合し得する抗体を包含し、個々の列挙された値の各々の間のいずれか１つの範囲内にあるオフ速度（k_{off}）を有する。

【０３２８】

他の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体に結合し、10^{3}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、5×10^{3}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、10^{4}Ｍ$^{-}$

^{1}秒$^{-1}$または５×１０^{4}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上のオン速度（ｏｎ　ｒａｔｅ）（ｋ$_{ｏｎ}$）を有する。より好ましくは、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド、またはそのフもしくは改変体に結合し、１０^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、１０^{6}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$または５×１０^{6}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、または１０^{7}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上のオン速度（ｋ$_{ｏｎ}$）を有する。本発明は、ＴＲ４ポリペプチドに結合得する抗体を包含し、個々の列挙された値の各々の間のいずれか１つの範囲内にあるオン速度（ｋ$_{ｏｎ}$）を有する。

【０３２９】

本発明の抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）は、ヒトＴＲ４ポリペプチド（配列番号１）のポリペプチド、またはポリペプチドフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する。別の実施形態において、本発明の抗体は、サルのＴＲ４ポリペプチドのポリペプチド、またはポリペプチドフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する。なお別の実施形態において、本発明の抗体は、マウスＴＲ４ポリペプチドのポリペプチド、またはフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する。１つの実施形態において、本発明の抗体は、ヒトおよびサルのＴＲ４ポリペプチドに免疫特異的に結合する。別の実施形態において、本発明の抗体は、ヒトＴＲ４ポリペプチドおよびマウスＴＲ４ポリペプチドに免疫特異的に結合する。さらに好ましくは、本発明の抗体は、マウスＴＲ４ポリペプチドと比較して、ヒトＴＲ４ポリペプチドに優先的に結合する。

【０３３０】

好ましい実施形態において、本発明の抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）は、ＴＲ４ポリペプチドに免疫特異的に結合し、かつ他の任意の抗原と交差反応しない。好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド（配列番号１またはそのフラグメントもしくは改変体）に免疫特異的に結合し、かつＴｕｍｏｒ　Ｎｅｃｒｏｓｉｓ　Ｆａｃｔｏｒ　Ｔｕｍｏｒ　Ｎｅｃｒｏｓｉｓ　Ｆａｃｔｏｒ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ　Ｆａｍｉｌｙポリペプチドのさらなるメンバー（例えば、ＴＲ１、ＴＲ５、ＴＲ１０、ＢＣＭＡ、ＴＡＣＩ、ＣＤ３０、ＣＤ２７、ＯＸ４０、４－１ＢＢ、ＣＤ４０、ＮＧＦＲ、ＴＮＦＲ１、ＴＮＦＲ２、ＦａｓおよびＮＧＦＲ）と交差反応しない。

【０３３１】

別の実施形態において、本発明の抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）は、ＴＲ４ポリペプチドに免疫特異的に結合し、かつ他の抗原と交差反応しない。別の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４ポリペプチド（配列番号１、またはそのフラグメントもしくは改変体）に免疫特異的に結合し、かつＴｕｍｏｒ　Ｎｅｃｒｏｓｉｓ　Ｆａｃｔｏｒ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ　Ｆａｍｉｌｙポリペプチドのさらなるメンバー（例えば、ＴＲ１、ＴＲ５、ＴＲ１０、ＢＣＭＡ、ＴＡＣＩ、ＣＤ３０、ＣＤ２７、ＯＸ４０、４－１ＢＢ、ＣＤ４０、ＮＧＦＲ、ＴＮＦＲ１、ＴＮＦＲ２、ＦａｓおよびＮＧＦＲ）と交差反応しない。

【０３３２】

好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ１、ＴＲ５、ＴＲ７、またはＴＲ１０（配列番号２～配列番号５）、あるいはそれらのフラグメントまたは改変体に結合するそれらの能力に対して、ＴＲ４（配列番号１）、またはそのフラグメントもしくは改変体に優先的に結合する。他の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ１、ＴＲ５、またはＴＲ１０（配列番号５、配列番号２、および配列番号４）、またはそれらのフラグメントもしくは改変体に結合するそれらの能色に対して、ＴＲ４およびＴＲ７（配列番号１および配列番号３）、またはそれらのフラグメントもしくは改変体に優先的に結合する。別の好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ１、ＴＲ４、ＴＲ５、ＴＲ７、およびＴＲ１０（配列番号５、配列番号１、配列番号２、配列番号３および配列番号４）に結合する。別の抗原と比較して、１つの抗原に優先的に結合する抗体の能力は、当該分野で公知の任意の方法を使用して、決定され得る。

【０３３３】

非限定的な例によって、抗体は、その抗体が、第二の抗原に対する抗体の解離定数（K_D）よりも低いK_Dを有する第一の抗原に結合する場合、第一の抗原に優先的に結合すると考えられ得る。別の非限定的な実施形態において、抗体は、その抗体が、第二の抗原に対する抗体のK_Dよりも少なくとも一次数低い親和性（すなわち、K_D）を有する第一の抗原に結合する場合、第一の抗原に優先的に結合すると考えられ得る。別の非限定的な実施形態において、抗体は、その抗体が、第二の抗原に対する抗体のK_Dよりも少なくとも二次数低い親和性（すなわち、K_D）を有する第一の抗原に結合する場合、第一の抗原に優先的に結合すると考えられ得る。

【０３３４】

別の非限定的な例において、抗体は、その抗体が、第一の抗原に対する抗体のk_{off}未満のk_{off}を有する第一の抗原に結合する場合、第一の抗原に優先的に結合すると考えられ得る。別の非限定的な実施形態において、抗体は、その抗体が、第二の抗原に対する抗体のk_{off}よりも少なくとも一次数小さいk_{off}を有する第一の抗原に結合する場合、第一の抗原に優先的に結合すると考えられ得る。別の非限定的な実施形態において、抗体は、その抗体が、第二の抗原に対する抗体のk_{off}よりも少なくとも二次数小さいk_{off}を有する第一の抗原に結合する場合、第一の抗原に優先的に結合すると考えられ得る。

【０３３５】

本発明はまた、本明細書中に記載される１種以上の抗体と同じ生物学的特徴を１つ以上有する、抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）を包含する。「生物学的特徴」とは、インビトロまたはインビボ活性、あるいは抗体の特性（例えば、ＴＲ４ポリペプチド（例えば、膜包埋ＴＲＡＩＬレセプター）に結合する能力、ＴＲ４媒介性の生物学的活性を刺激する能力（例えば、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する能力：実施例４を参照のこと）、ＴＲＡＩＬレセプターに結合する、ＴＲ４リガンド（例えば、ＴＲＡＩＬ（配列番号６６）（ＡＩＭ－１としてもまた公知）：国際出願ＷＯ　９７／３５８９９および米国特許出願第５，７７１，２２３号）またはそのフラグメント、改変体もしくは融合タンパク質を実質的にブロックする能力（実施例３を参照のこと）、あるいは、細胞表面上でのＴＲ４発現をアップレギュレートする能力）を意味する。ＴＲ４ポリペプチドに対する抗体が有し得る、他の生物学的活性としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ＴＲ４媒介性の生物学的活性を阻害する能力（例えば、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを阻害する能力）、または細胞表面上のＴＲ４発現をダウンレギュレートする能力。必要に応じて、本発明の抗体は、本明細書中で詳細に参照される少なくとも１種の抗体と同じエピトープに結合する。このようなエピトープ結合は、当該分野で公知のアッセイを使用して、慣習的に決定され得る。

【０３３６】

本発明はまた、ＴＲ４媒介性の生物学的活性を刺激する抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）を提供する。１つの実施形態おいて、ＴＲ４媒介性の生物学的活性を刺激する抗体は、表１において参照されるｓｃＦｖｓの少なくとも１つのＶＨドメインおよび／またはＶＬドメイン、またはそれらのフラグメントもしくは改変体を含むか、またはそれらからなる。特定の実施形態において、ＴＲ４媒介性の生物学的活性を刺激する抗体は、表１において参照されるｓｃＦｖｓのいずれか１つのＶＨドメインおよび／またはＶＬドメイン、またはそれらのフラグメントもしくは改変体を含むか、またはそれらからなる。これらの抗体をコードする核酸分子もまた、本発明に包含される。

【０３３７】

本発明はまた、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）を提供する（実施例４を参照のこと）。１つの実施形態において、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する抗体は、表１において参照されるｓｃＦｖｓの少なくとも１つのＶＨドメインおよび／またはＶＬドメイン、またはそれらのフラグメントもしくは改変体を含むか、またはそれらか

らなる。特定の実施形態において、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する抗体は、表１において参照されるｓｃＦｖｓのいずれか１つのＶＨドメインおよび／またはＶＬドメイン、またはそれらのフラグメントもしくは改変体を含むか、またはそれらからなる。これらの抗体をコードする核酸分子もまた、本発明に包含される。

【０３３８】

好ましい実施形態において、本発明はまた、抗体架橋試薬（例えば、抗Ｉｇ　Ｆｃ試薬細胞）の存在下または非存在下において同等に十分、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）を提供する（例えば、実施例４を参照のこと）。特定の実施形態において、本発明の抗体は、抗Ｉｇ　Ｆｃ抗体架橋試薬の存在下または非存在下において同等に十分、ＨｅＬａ細胞のアポトーシスを刺激する。別の特定の実施形態において、本発明の抗体は、２μｇ／ｍｌのシクロヘキシミドの存在下にて、抗Ｉｇ　Ｆｃ抗体架橋試薬の存在下または非存在下において同等に十分、ＨｅＬａ細胞のアポトーシスを刺激する。別の実施形態において、本発明の抗体は、抗Ｉｇ　Ｆｃ抗体架橋試薬の存在下または非存在下において同等に十分、ＳＷ４８０細胞のアポトーシスを刺激する。別の特定の実施形態において、本発明の抗体は、２μｇ／ｍｌのシクロヘキシミドの存在下にて、抗Ｉｇ　Ｆｃ抗体架橋試薬の存在下または非存在下において同等に十分、ＳＷ４８０細胞のアポトーシスを刺激する。

【０３３９】

他の好ましい実施形態において、本発明はまた、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激するＴＲＡＩＬポリペプチド（ＴＲＡＩＬポリペプチドフラグメント、改変体または融合タンパク質を含む）の濃度に少なくとも等しい濃度（例えば、ｎｇ／ｍｌ）の、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）を提供する（例えば、実施例４を参照のこと）。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激するＴＲＡＩＬポリペプチド（ＴＲＡＩＬポリペプチドフラグメント、改変体または融合タンパク質を含む）の濃度より高い濃度（例えば、ｎｇ／ｍｌ）の、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）を刺激する。特定の実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激するＴＲＡＩＬポリペプチド（ＴＲＡＩＬポリペプチドフラグメント、改変体または融合タンパク質を含む）の濃度より高い濃度（例えば、ｎｇ／ｍｌ）の、ＨｅＬａ細胞のアポトーシスを刺激する抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）を刺激する。別の特定の実施形態において、本発明の抗体は、２μｇ／ｍｌのサイトヘキシミドの存在下にて、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激するＴＲＡＩＬポリペプチド（ＴＲＡＩＬポリペプチドフラグメント、改変体または融合タンパク質を含む）の濃度より高い濃度（例えば、ｎｇ／ｍｌ）の、ＨｅＬａ細胞のアポトーシスを刺激する抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）を刺激する。

【０３４０】

他の好ましい実施形態において、本発明はまた、化学療法剤または抗体のいずれか単独がレセプター発現細胞のアポトーシスを刺激するよりも、化学療法剤と併用して投与された場合にＴＲ４発現細胞のアポトーシスをより刺激する、抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）を提供する。特定の実施形態において、本発明の抗体は、Ｔｏｐｏｔｅｃａｎまたは抗体のいずれか単独がレセプター発現細胞のアポトーシスを刺激するよりも、Ｔｏｐｏｔｅｃａｎと併用して投与された場合にＴＲ４発現細胞のアポトーシスをより刺激する。特定の実施形態において、本発明の抗体は、シクロヘキシミンか抗体単独かのいずれかがレセプター発現細胞のアポトーシスを刺激するよりも、シクロヘキシミンと併用して投与された場合にＴＲ４発現細胞のアポトーシスをより刺激する。

【０３４１】

本発明はまた、ＴＲＡＩＬのＴＲ４ポリペプチドへの結合をブロックまたは阻害する抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含有するか、あるいはそれらからなる抗体を含む）を提供する（実施例３を参照のこと）。１つの実施形態において、ＴＲＡＩＬのＴＲ４ポリペプチドへの結合をブロックまたは阻害する抗体は、表１において参照されるｓｃＦｖｓの少なくとも１つのＶＨドメインおよび／またはＶＬドメインまたはそれらのフラグメントもしくは改変体を含むか、あるいはそれらからなる。特定の実施形態において、ＴＲＡＩＬのＴＲ４ポリペプチドへの結合を阻害する抗体は、表１において参照されるｓｃＦｖｓのいずれか１つのＶＨドメインおよびＶＬドメインまたはそれらのフラグメントもしくは改変体を含むか、あるいはそれらからなる。これらの抗体をコードする核酸分子もまた、本発明に包含される。

【０３４２】

本発明はまた、ＴＲ４および異種ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含むか、またはそれからなる分子を含む）を含むか、またはそれらの抗体からなる、融合タンパク質を提供する。好ましくは、この抗体が融合する異種ポリペプチドは、機能するために有用であるか、またはＴＲ４発現細胞を標的化するために有用である。特定の実施形態において、本発明は、１つの抗体結合部位がＴＲ４に特異的であり、そして第二の抗体結合部位が、異種ポリペプチド（例えば、ＴＲ７または腫瘍特異的抗原）に特異的である、二重特異的抗体を包含する。代替の好ましい実施形態において、抗体が融合する異種ポリペプチドは、腫瘍細胞に対する抗体を標的化するために有用である。１つの実施形態において、本発明の融合タンパク質は、本発明の抗体のＶＨドメインの任意の１つ以上のアミノ酸配列、あるいは本発明の抗体またはそのフラグメントもしくは改変体のＶＬドメインの任意の１つ以上のアミノ酸配列を有するポリペプチド、および異種ポリペプチド配列を含むか、またはこれらのポリペプチドからなる。別の実施形態において、本発明の融合タンパク質は、本発明の抗体のＶＨ　ＣＤＲの任意の１つ、２つ、３つ、またはそれより多くのアミノ酸配列、あるいは本発明の抗体またはそのフラグメントもしくは改変体のＶＬ　ＣＤＲの任意の１つ、２つ、３つ、またはそれより多くのアミノ酸配列を有するポリペプチド、および異種ポリペプチド配列を含むか、またはこれらのポリペプチドからなる。好ましい実施形態において、この融合タンパク質は、本発明の抗体のＶＨ　ＣＤＲ３、またはそのフラグメントもしくは改変体のアミノ酸配列を有するポリペプチド、および異種ポリペプチド配列を含むか、またはこれらのポリペプチドからなり、この融合タンパク質は、ＴＲ４に免疫特異的に結合する。別の実施形態において、融合タンパク質は、本発明の抗体の少なくとも１つのＶＨドメインのアミノ酸配列、および本発明の抗体の少なくとも１つのＶＬドメインまたはそのフラグメントもしくは改変体のアミノ酸配列を有するポリペプチド、ならびに異種ポリペプチド配列を含むか、またはこれらのポリペプチドからなる。好ましくは、この融合タンパク質のＶＨドメインおよびＶＬドメインは、本発明の単一の抗体（またはｓｃＦｖフラグメントもしくはＦａｂフラグメント）に対応する。なお別の実施形態において、本発明の融合タンパク質は、本発明の抗体のＶＨ　ＣＤＲの任意の１つ、２つ、３つ、またはそれより多くのアミノ酸配列、および本発明の抗体のＶＬ　ＣＤＲの任意の１つ、２つ、３つ、またはそれより多くのアミノ酸配列、またはそのフラグメントもしくは改変体を有するポリペプチド、ならびに異種ポリペプチド配列を含むか、またはこれらのポリペプチドからなる。好ましくは、ＶＨＣＤＲまたはＶＬＣＤＲの２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、またはそれより多くは、本発明の単一の抗体（またはｓｃＦｖフラグメントもしくはＦａｂフラグメント）に対応する。これらの融合タンパク質をコードする核酸分子もまた、本発明によって包含される。

【０３４３】

本発明の抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含む）は、種々の様式で特徴付けられ得る。特に、本発明の抗体および関連する分子は、本明細書中に記載される技術、または当該分野において公知の慣用的に改変する技術を使用して、ＴＲ４またはＴＲ４のフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合する能力について、アッセイされ得る。本

発明の抗体がＴＲ４またはＴＲ４のフラグメントもしくは改変体を免疫特異的に結合する能力についてのアッセイは、溶液中（例えば、Ｈｏｕｇｈｔｅｎ，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１３：４１２－４２１（１９９２））、ビーズ上（例えば、Ｌａｍ，Ｎａｔｕｒｅ　３５４：８２－８４（１９９１））、チップ上（例えば、Ｆｏｄｏｒ，Ｎａｔｕｒｅ　３６４：５５５－５５６（１９９３））、細菌上（例えば、米国特許第５，２２３，４０９号）、胞子上（例えば、米国特許第５，５７１，６９８号；同第５，４０３，４８４号；および同第５，２２３，４０９号）、プラスミド上（例えば、Ｃｕｌｌら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８９：１８６５－１８６９（１９９２））、またはファージ上（例えば、ＳｃｏｔｔおよびＳｍｉｔｈ，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４９：３８６－３９０（１９９０）；Ｄｅｖｌｉｎ，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４９：４０４－４０６（１９９０）；Ｃｗｉｒｌａら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８７：７１７８－７１８２（１９９０）；およびＦｅｌｉｃｉ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：３０１－３１０（１９９１））（これらの参考文献の各々は、その全体が本明細書中に参考として援用される）において実施され得る。次いで、ＴＲ４またはＴＲ４のフラグメントもしくは改変体に免疫特異的に結合すると同定された抗体は、本明細書中に記載されるかまたはそうでなければ当該分野において公知の技術を使用するかまたは慣用的に改変して、ＴＲ４またはＴＲ４のフラグメントもしくは改変体に対するその特異性および親和性についてアッセイされ得る。

【０３４４】

本発明の抗体は、当該分野において公知の任意の方法によって、ＴＲ４ポリペプチドに対する免疫結合性、および他の抗原との交差反応性について、アッセイされ得る。免疫特異的結合および交差反応性を分析するために使用され得るイムノアッセイとしては、少し例を挙げれば、ＢＩＡｃｏｒｅ分析のような技術を使用する、競合的アッセイ系および非競合アッセイ系（例えば、実施例２を参照のこと）、ＦＡＣＳ（蛍光細胞分析分離装置）分析、免疫蛍光検査法、免疫細胞学、ラジオイムノアッセイ、ＥＬＩＳＡ（酵素結合イムノソルベント検定法）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫沈降アッセイ、ウェスタンブロット、沈降反応、ゲル拡散沈降反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体結合アッセイ、イムノラジオメトリックアッセイ、蛍光イムノアッセイ、およびプロテインＡイムノアッセイが挙げられるが、これらに限定されない。このようなアッセイは、慣用的であり、そして当該分野において周知である（例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら編、１９９４、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，第１巻、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋを参照のこと。これは、その全体が本明細書中に参考として援用される）。例示的なイムノアッセイを、以下に簡単に記載する（が、限定として意図されない）。

【０３４５】

ＥＬＩＳＡは、抗原を調製する工程、９６ウェルマイクロタイタープレートのウェルをこの抗原でコーティングする工程、これらのウェルに結合しなかった抗原を洗浄除去する工程、検出可能な化合物（例えば、酵素基質（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ））に結合した目的の抗体を、これらのウェルに添加し、そしてある期間インキュベートする工程、未結合抗体または非特異的に結合した抗体を洗浄除去する工程、およびウェルをコーティングしている抗原に特異的に結合した抗体の存在を検出する工程を包含する。ＥＬＩＳＡにおいて、目的の抗体は、検出可能な化合物に結合している必要はない；その代わりに、検出可能な化合物に結合した二次抗体（これは、目的の抗体を認識する）が、ウェルに添加され得る。あるいは、抗原は、ウェルに直接コーティングされる必要がない；その代わりに、ＥＬＩＳＡプレートは、抗Ｉｇ　Ｆｃ抗体でコーティングされ得、そしてＴＲＡＩＬレセプター－Ｆｃ融合タンパク質の形態の抗原が、このプレートにコーティングされた抗Ｉｇ　Ｆｃに結合し得る。これは、抗原タンパク質（例えば、ＴＲ４ポリペプチド）を、プレートに直接コーティングされた場合に有し得るよりネイティブなコンホメーションで維持するために、望ましくあり得る。別の代替において、ウェルを抗原でコーティングする代わりに、抗体がウェルにコーティングされ得

る。この場合、検出可能な分子は、酵素基質（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ）のような検出可能な化合物に結合した抗体であり得る。当業者は、検出されるシグナルを増加させるように改変され得るパラメータ、および当該分野において公知のＥＬＩＳＡの他のバリエーションに関して、精通している。ＥＬＩＳＡに関するさらなる考察については、例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら編，１９９４，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，第１巻、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１１．２．１を参照のこと。

【０３４６】

抗原に対する抗体（ｓｃＦｖあるいは抗体フラグメントまたはその改変体を含むか、またはそれからなる他の分子を含む）の結合親和性および抗体－抗原相互作用のオフ速度（ｏｆｆ－ｒａｔｅ）が、競合結合アッセイにより決定され得る。競合結合アッセイの一つの例は、ラジオイムノアッセイであり、このラジオイムノアッセイは、漸増量の非標識抗原の存在下での標識した抗原（例えば、^{3}Ｈまたは^{125}Ｉで標識された抗原）またはそのフラグメントもしくは改変体と目的の抗体とのインキュベーション、および標識した抗原に結合した抗体の検出を含む。本発明の抗体の、ＴＲ４に対する親和性、および結合オフ速度は、スキャッチャードプロット分析によるデータから決定され得る。二次抗体との競合はまた、ラジオイムノアッセイを用いて決定され得る。この場合、ＴＲ４ポリペプチドは、漸増量の非標識二次抗ＴＲ４抗体の存在下で、標識した化合物（例えば、^{3}Ｈまたは^{125}Ｉで標識された化合物）に結合した本発明の抗体とともにインキュベートされる。２つの抗体の間の、この腫の競合アッセイはまた、２つの抗体が同じエピトープを結合するか、異なるエピトープを結合するかを決定するために、使用され得る。

【０３４７】

好ましい実施形態において、ＢＩＡｃｏｒｅ動力学分析を使用して、ＴＲＡＩＬレセプター、またはＴＲＡＩＬレセプターのフラグメントに対する抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含む）に対する結合およびそのオフ速度を決定する。ＢＩＡｃｏｒｅ動力学分析は、実施例２に詳細に記載されるように、チップの表面に固定されたＴＲＡＩＬレセプターを有するチップへの抗体の結合およびそのチップからの抗体の解離を分析する工程を包含する。

【０３４８】

免疫沈降プロトコルは、一般に、タンパク質ホスファターゼインヒビターおよび／またはプロテアーゼインヒビター（例えば、ＥＤＴＡ、ＰＭＳＦ、アプロチニン、バナジン酸ナトリウム）を補充したＲＩＰＡ緩衝液（１％ ＮＰ－４０またはＴｒｉｔｏｎ Ｘ－１００、１％ デオキシコール酸ナトリウム、０．１％ ＳＤＳ、０．１５Ｍ ＮａＣｌ、０．０１Ｍ リン酸ナトリウム（ｐＨ７．２）、１％ Ｔｒａｓｙｌｏｌ）のような溶解緩衝液中で、細胞の集団を溶解する工程、目的の抗体を細胞溶解物に添加する工程、一定時間（例えば、１～４時間）４０℃でインキュベートする工程、プロテインＡセファロースビーズおよび／またはプロテインＧセファロースビーズを細胞溶解物に添加する工程、約１時間以上４０℃でインキュベートする工程、溶解緩衝液中でビーズを洗浄する工程、ならびにＳＤＳ／サンプル緩衝液中でビーズを再懸濁する工程を包含する。目的の抗体が特定の抗原を免疫沈降する能力は、例えば、ウェスタンブロット分析により、評価され得る。当業者は、抗体の抗原への結合を増加するように、そしてバックグラウンドを減少させる（例えば、セファロースビーズを用いて細胞溶解物を事前にきれいにする）ように改変され得るパラメータに関して、精通している。免疫沈降プロトコルに関するさらなる考察については、例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら編，１９９４、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，第１巻、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ、Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１０．１６．１を参照のこと。

【０３４９】

ウェスタンブロット分析は、一般に、タンパク質サンプルを調製する工程、ポリアクリルアミドゲル（例えば、抗原の分子量による８％～２０％ ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）中でのそ

のタンパク質サンプルの電気泳動、そのタンパク質サンプルをそのポリアクリルアミドゲルからニトロセルロース、ＰＶＤＦまたはナイロンのような膜に転写する工程、ブロッキング溶液（例えば、３％　ＢＳＡまたは脱脂粉乳を有するＰＢＳ）中でその膜をブロックする工程、洗浄緩衝液（例えば、ＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎ　２０）中でその膜を洗浄する工程、ブロッキング緩衝液中で希釈された一次抗体（目的の抗体）を用いてその膜をブロックする工程、洗浄緩衝液中でその膜を洗浄する工程、ブロッキング緩衝液中で希釈された酵素基質（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ）あるいは放射性分子（例えば、^{32}Ｐまたは^{125}Ｉ）に結合された二次抗体（一次抗体、例えば、抗ヒト抗体を認識する）を用いて、その膜をブロックする工程、洗浄緩衝液中でその膜を洗浄する工程、ならびにその抗原の存在を検出する工程を包含する。当業者は、検出されるシグナルを増加させるように、そしてバックグラウンドノイズを減少させるように改変され得るパラメータに関して精通している。ウエスタンブロットプロトコルに関するさらなる考察については、例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら編，１９９４，Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，第１巻、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，１０．８．１を参照のこと。

【０３５０】

（抗体結合体）

本発明は、融合タンパク質を作製する、異種ポリペプチド（またはそれらの一部、好ましくは、そのポリペプチドの少なくとも１０個、少なくとも２０個、少なくとも３０個、少なくとも４０個、少なくとも５０個、少なくとも６０個、少なくとも７０個、少なくとも８０個、少なくとも９０個、または少なくとも１００個のアミノ酸）と組換え的に融合したか、あるいは化学的に結合（共有結合および非共有結合の両方を含む）した抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含む）を含む。この融合は、必ずしも直接的である必要はなく、リンカー配列を介して起こり得る。例えば、本発明の抗体は、異種ポリペプチドを、特定の細胞表面抗原に特異的な本発明の抗体、または特定の細胞表面レセプターを結合する抗原を結合する本発明の抗体に融合または結合体化させることによって、インビトロまたはインビボで特定の細胞型（例えば、癌細胞）に対して、異種ポリペプチドを標的化するために、使用され得る。本発明の抗体はまた、アルブミン（組換えヒト血清アルブミンが挙げられるが、これに限定されない（例えば、１９９９年３月２日に発行された米国特許第５，８７６，９６９号、欧州特許第０　４１３　６２２号、および１９９８年６月１６日に発行された米国特許第５，７６６，８８３号（これらの全体は、本明細書中に参考として援用される）を参照のこと））に融合されて、キメラポリペプチドを生じ得る。好ましい実施形態において、本発明のポリペプチドおよび／または抗体（そのフラグメントまたは改変体を含む）は、ヒト血清アルブミンの成熟形態（すなわち、欧州特許第０　３２２　０９４号（これは、その全体が本明細書中に参考として援用される）の図１および２に示されるような、ヒト血清アルブミンのアミノ酸１～５８５）に融合する。別の好ましい局面において、本発明のポリペプチドおよび／または抗体（そのフラグメントまたは改変体を含む）は、米国特許第５，７６６，８８３号（その全体が本明細書中に参考として援用される）に記載されるように、ヒト血清アルブミンのアミノ酸残基１～ｚ（ここで、ｚは、３６９～４１９の整数である）を含むかまたはこれらのアミノ酸残基からなるポリペプチドフラグメントに融合する。本発明のポリペプチドおよび／または抗体（そのフラグメントまたは改変体を含む）は、異種タンパク質（例えば、免疫グロブリンＦｃポリペプチドまたはヒト血清アルブミンポリペプチド）のＮ末端またはＣ末端のいずれかに融合し得る。本発明の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドもまた、本発明によって包含される。このような融合タンパク質は、例えば、精製を容易にし得、そしてインビボでの半減期を増加させ得る。異種ポリペプチドに融合されたかまたは結合された抗体はまた、当該分野で公知の方法を使用してインビトロイムノアッセイおよび精製方法にて使用され得る。例えば、Ｈａｒｂｏｒら、前出およびＰＣＴ公開ＷＯ　９３／２１２３２；ＥＰ　４３９，０９５；Ｎａｒａｍｕｒａら、Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｌｅｔｔ．３９：９１－９９（１９９４）；米国特許第５，４７４，９８１号；Ｇｉｌｌｉｅｓら、ＰＮＡ

Ｓ　８９：１４２８－１４３２（１９９２）；Ｆｅｌｌら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４６：２４４６－２４５２（１９９１）（これらは、それらの全体において参考として援用される）を参照のこと。

【０３５１】

本発明はさらに、抗体フラグメントに融合されたかまたは結合された異種ポリペプチドを含むかまたはそのポリペプチドからなる組成物を含む。例えば、異種ポリペプチドは、Ｆａｂフラグメント、Ｆｄフラグメント、Ｆｖフラグメント、Ｆ（ａｂ）$_2$フラグメント、あるいはその一部に融合または結合され得る。ポリペプチドを抗体部分に融合または結合するための方法は、当該分野において公知である。例えば、米国特許第５，３５６，６０３号；同第５，６２２，９２９号；同第５，３５９，０４６号；同第５，３４９，０５３号；同第５，４４７，８５１号；同第５，１１２，９４６号；ＥＰ　３０７，４３４；ＥＰ　３６７，１６６；ＰＣＴ公開ＷＯ　９６／０４３８８；ＷＯ　９１／０６５７０；Ａｓｈｋｅｎａｚｉら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８８：１０５３５－１０５３９（１９９１）；Ｚｈｅｎｇら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５４：５５９０－５６００（１９９５）；およびＶｉｌら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８９；１１３５７－１１３４１（１９９２）（上記の参考文献は、それらの全体が参考として援用される）を参照のこと。

【０３５２】

本発明のさらなる融合タンパク質は、遺伝子シャッフリング、モチーフシャッフリング、エキソンシャッフリング、および／またはコドンシャッフリング（総称して「ＤＮＡシャッフリング」といわれる）の技術を通じて生成され得る。ＤＮＡシャッフリングは、抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むかまたはそれからなる分子を含む）の活性を調節するために用いられ得、このような方法は、変化した活性を有する抗体（例えば、より高い親和性およびより低い解離速度を有する抗体）を生成するために用いられ得る。一般には、米国特許第５，６０５，７９３号、同第５，８１１，２３８号、同第５，８３０，７２１号、同第５，８３４，２５２号および同第５，８３７，４５８号、ならびにＰａｔｔｅｎら、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．８：７２４－３５（１９９７）；Ｈａｒａｙａｍａ、Ｔｒｅｎｄｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１６（２）：７６－８２（１９９８）；Ｈａｎｓｓｏｎら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２８７：２６５－７６（１９９９）；ならびにＬｏｒｅｎｚｏおよびＢｌａｓｃｏ，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　２４（２）：３０８－１３（１９９８）（これらの特許および刊行物の各々が全体として本明細書中に参考として援用される）を参照のこと。１つの実施形態において、本発明の抗体をコードするポリヌクレオチドは、組換えの前に、誤りがちの（ｅｒｒｏｒ－ｐｒｏｎｅ）ＰＣＲ、ランダムヌクレオチド挿入または他の方法により、ランダムな変異誘発に供されることによって改変され得る。別の実施形態において、ＴＲ４に免疫特異的に結合する抗体をコードするポリヌクレオチドの１つ以上の部分は、１つ以上の異種分子の１つ以上の成分、モチーフ、区切り（ｓｅｃｔｉｏｎ）、部分、ドメイン、フラグメントなどと組み換えられ得る。

【０３５３】

さらに、本発明の抗体（それらの抗体フラグメントまたは改変体を含む）は、精製を容易にするためのポリペプチドのような、マーカー配列と融合され得る。好ましい実施形態において、このマーカーアミノ酸配列は、とりわけ、ｐＱＥベクター（ＱＩＡＧＥＮ、Ｉｎｃ．，９２５９　Ｅｔｏｎ　Ａｖｅｎｕｅ，Ｃｈａｔｓｗｏｒｔｈ，ＣＡ，９１３１１）において提供されるタグのようなヘキサーヒスチジンポリペプチドであり、それらの多くは市販されている。例えば、Ｇｅｎｔｚら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８６：８２１－８２４（１９８９）に記載されるように、ヘキサーヒスチジンは、融合タンパク質の簡便な精製を提供する。精製に有用な他のペプチドタグとしては、インフルエンザ赤血球凝集素タンパク質由来のエピトープに対応する赤血球凝集素「ＨＡ」タグ（Ｗｉｌｓｏｎら、Ｃｅｌｌ　３７：７６７（１９８４））およびＦＬＡＧ（登録商標）タグ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ，Ｌａ　Ｊｏｌｌａ，ＣＡ）が挙げられるが、これらに

限定されない。

【０３５４】

本発明はさらに、診断剤、または治療剤に結合する抗体（それらの抗体フラグメントまたは改変体を含む）を含む。この抗体は、例えば、臨床試験の手順の一部（例えば、所定の治療レジメンの有効性を決定するための）として、腫瘍の発生または進行をモニターまたは予後判定するために診断的に使用され得る。検出は、抗体を検出可能な物質にカップリングすることによって容易にされ得る。検出可能な物質の例としては、種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、生物発光物質、放射性物質、種々の陽電子射出断層撮影法を使用する陽電子射出金属、および非放射性常磁性金属イオンが挙げられるが、これらに限定されない。検出可能な物質は、抗体に、当該分野において公知技術を使用して、直接的にか、またはの中間体（例えば、当該分野において公知のリンカーのような）を通して間接的にかのいずれかで、結合または結合体化され得る。本発明に従う診断薬として使用するための抗体に結合され得る金属イオンとしては、例えば、米国特許第４，７４１，９００号を参照のこと。適切な酵素の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが挙げられるが、これらに限定されない；適切な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン／ビオチンおよびアビジン／ビオチンが挙げられるが、これらに限定されない；適切な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロライドまたはフィコエリトリンが挙げられるが、これらに限定されない；発光物質の例としては、ルミノールが挙げられるが、これらに限定されない；生物発光物質の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリンが挙げられるが、これらに限定されない；そして適切な放射性物質の例としては、ヨウ素（^{121}Ｉ、^{123}Ｉ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ）、炭素（^{14}Ｃ）、硫黄（^{35}Ｓ）、トリチウム（^{3}Ｈ）、インジウム（^{111}Ｉｎ、^{112}Ｉｎ、^{113m}Ｉｎ、^{115m}Ｉｎ）、テクネチウム（^{99}Ｔｃ、^{99m}Ｔｃ）、タリウム（^{201}Ｔｉ）、ガリウム（^{68}Ｇａ、^{67}Ｇａ）、パラジウム（^{103}Ｐｄ）、モリブデン（^{99}Ｍｏ）、キセノン（^{135}Ｘｅ）、フッ素（^{18}Ｆ）、^{153}Ｓｍ、^{177}Ｌｕ、^{159}Ｇｄ、^{149}Ｐｍ、^{140}Ｌａ、^{175}Ｙｂ、^{166}Ｈｏ、^{90}Ｙ、^{47}Ｓｃ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{142}Ｐｒ、^{105}Ｒｈ、および^{97}Ｒｕが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３５５】

さらに、本発明の抗体（その抗体フラグメントもしくは改変体を含むかまたはこれらからなる、ｓｃＦｖまたは他の分子を含む）は、細胞毒（例えば、細胞増殖抑制剤または細胞破壊剤）、治療剤または放射性金属イオン（^{213}Ｂｉのようなα放射体、または例えば、^{103}Ｐｄ、^{135}Ｘｅ、^{131}Ｉ、^{68}Ｇｅ、^{57}Ｃｏ、^{65}Ｚｎ、^{85}Ｓｒ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{153}Ｓｍ、^{153}Ｇｄ、^{169}Ｙｂ、^{51}Ｃｒ、^{54}Ｍｎ、^{75}Ｓｅ、^{113}Ｓｎ、^{90}Ｙ、^{117}Ｔｉｎ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅおよび^{166}Ｈｏのような他の放射性同位元素）のような治療的な部分と結合または結合体化され得る。特定の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、放射性金属（ｒａｄｉｏｍｅｔａｌ）イオン（^{177}Ｌｕ、^{90}Ｙ、^{166}Ｈｏ、および^{153}Ｓｍが挙げられるが、これらに限定されない）をポリペプチドにキレートする大環状キレート剤（ｃｈｅｌａｔｏｒ）に結合する。特定の実施形態において、この大環状キレート剤は、１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ”，Ｎ’’’－四酢酸（ＤＯＴＡ）である。他の特定の実施形態において、ＤＯＴＡは、本発明の抗体またはそのフラグメントに、リンカー分子を介して結合する。ＤＯＴＡをポリペプチドに結合体化させるために有用なリンカー分子の例は、当該分野において通常公知である。例えば、ＤｅＮａｒｄｏら、Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．４（１０）：２４８３－９０，１９９８；Ｐｅｔｅｒｓｏｎら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．１０（４）：５５３－７，１９９９；およびＺｉｍｍｅｒｍａｎら、Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．２６（８）：９４３－５０，１９９９（これらは、その全体が本明細書中に参考として援用される）を参照のこと。

【０３５６】
細胞毒または細胞傷害性の薬剤としては、細胞に有害な任意の薬剤が挙げられる。例としては、パクリタキセル、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、エチジウムブロミド、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド（ｔｅｎｏｐｏｓｉｄｅ）、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、チミジンキナーゼ、エンドヌクレアーゼ、ＲＮＡｓｅ、およびプロマイシンならびにそれらのフラグメント、改変体またはホモログが挙げられるが、これらに限定されない。治療剤としては、代謝拮抗物質（例えば、メトトレキサート、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、５－フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオエパ（ｔｉｏｅｐａ）クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（ＢＳＮＵ）およびロムスチン（ＣＣＮＵ）、シクロトスファミド（ｃｙｃｌｏｔｈｏｓｐｈａｍｉｄｅ）、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン（ｓｔｒｅｐｔｏｚｏｔｏｃｉｎ）、マイトマイシンＣ、およびシスジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）シスプラチン）、アントラサイクリン（ａｎｔｈｒａｃｙｃｌｉｎｅ）（例えば、ダウノルビシン（以前はダウノマイシン）、およびドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前は、アクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（ａｎｔｈｒａｍｙｃｉｎ）（ＡＭＣ））、ならびに抗有糸分裂剤（例えば、ビンクリスチンおよびビンブラスチン）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３５７】
当該分野において公知の技術を適用して、本発明の抗体を標識し得る。このような技術としては、二官能性結合剤（例えば、米国特許第５，７５６，０６５号；同第５，７１４，７１１号；同第５，６９６，２３９号；同第５，６５２，３７１号；同第５，５０５，９３１号；同第５，４８９，４２５号；同第５，４３５，９９０号；同第５，４２８，１３９号；同第５，３４２，６０４号；同第５，２７４，１１９号；同第４，９９４，５６０号；および同第５，８０８，００３号を参照のこと；これらの各々の内容は、その全体が本明細書中に参考として援用される）、ならびに直接結合反応（例えば、Ｂｏｌｔｏｎ－ＨｕｎｔｅｒおよびクロラミンＴ反応）の使用が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３５８】
本発明の抗体は、結合体であり、所定の生物学的応答の改変のために使用され得、この治療剤または薬物部分は、古典的な化学治療剤に制限されると解釈されるべきではない。例えば、この薬物部分は、所望の生物学的活性を保有するタンパク質またはポリペプチドであり得る。このようなタンパク質には、例えば、アブリン、リシンＡ、α毒素、シュードモナス外毒素、またはジフテリア毒素、サポリン、モモルジン（ｍｏｍｏｒｄｉｎ）、ゲロニン（ｇｅｌｏｎｉｎ）、ヨウシュヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、α－サルシン（ｓａｒｃｉｎ）およびコレラ毒素のような毒素；腫瘍壊死因子、α－インターフェロン、β－インターフェロン、神経成長因子、血小板由来増殖因子、組織プラスミノーゲン活性化因子、アポトーシス剤（例えば、ＴＮＦ－α、ＴＮＦ－β、ＡＩＭ　Ｉ（国際出願公開番号ＷＯ９７／３５８９９を参照のこと）、ＡＩＭ　ＩＩ（国際出願公開番号ＷＯ９７／３４９１１を参照のこと）、Ｆａｓリガンド（Ｔａｋａｈａｓｈｉら、Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，６：１５６７－１５７４（１９９４））、ＶＥＧＩ（国際出願公開番号ＷＯ９９／２３１０５を参照のこと））、血栓剤または抗脈管形成剤（例えば、アンジオスタチン（ａｎｇｉｏｓｔａｔｉｎ）またはエンドスタチン（ｅｎｄｏｓｔａｔｉｎ））のようなタンパク質；あるいは、生物学的応答改変剤（例えば、リンホカイン、インターロイキン－１（「ＩＬ－１」）、インターロイキン－２（「ＩＬ－２」）、インターロイキン－６（「ＩＬ－６」）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「ＧＭ－ＣＳＦ」）、顆粒球コロニー刺激因子（「Ｇ－ＣＳＦ」）、または他の増殖因子など）が挙げられ得る

が、これらに限定されない。

【０３５９】

本発明の抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含む）はまた、標的抗原のイムノアッセイまたは精製に特に有用な固体支持体に付着され得る。このような固体支持体には、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリビニルクロリドまたはポリプロピレンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３６０】

治療部分を抗体に結合する技術は周知であり、例えば、Ａｒｎｏｎら、「Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｉｍｍｕｎｏｔａｒｇｅｔｉｎｇ Ｏｆ Ｄｒｕｇｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ」Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ｒｅｉｓｆｅｌｄら（編）、２４３－５６頁（Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．１９８５）；Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍら、「Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ」Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ（第２版）、Ｒｏｂｉｎｓｏｎら（編）、６２３－５３頁（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．１９８７）；Ｔｈｏｒｐｅ、「Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｃａｒｒｉｅｒｓ Ｏｆ Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ａｇｅｎｔｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ：Ａ Ｒｅｖｉｅｗ」Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ‘８４：Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ、Ｐｉｎｃｈｅｒａら（編）、４７５－５０６頁（１９８５）；「Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｒｅｓｕｌｔｓ，Ａｎｄ Ｆｕｔｕｒｅ Ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ Ｏｆ Ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｕｓｅ Ｏｆ Ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ」Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ Ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ｂａｌｄｗｉｎら（編）、３０３－１６頁（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８５）およびＴｈｏｒｐｅら、「Ｔｈｅ Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ Ａｎｄ Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ Ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ｔｏｘｉｎ Ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ」、Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｒｅｖ．６２：１１９－５８（１９８２）を参照のこと。

【０３６１】

あるいは、本発明の抗体は、二次抗体に結合され、米国特許第４，６７６，９８０号（これは、その全体が本明細書に参考として援用される）におけるＳｅｇａｌによる記載のような抗体異種結合体（ｈｅｔｅｒｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ）を形成し得る。

【０３６２】

単独、あるいは細胞傷害性因子および／またはサイトカインと組み合わせて投与される、抗体に結合する治療部分を有するかまたは有さない本発明の抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むか、またはそれからなる他の分子を含む）が、治療薬として使用され得る。

【０３６３】

（本発明の抗体の使用）

本発明の抗体は、例えば、インビトロおよびインビボの両方における診断方法および治療方法を含めて、本発明のポリペプチドを精製、検出および標的化するために使用され得るが、これに限定されない。例えば、この抗体は、生物学的サンプルにおいてＴＲ４ポリペプチドのレベルを定性的および定量的に測定するためのイムノアッセイにおいて用途を有する。例えば、Ｈａｒｌｏｗら，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，第２版，１９８８）（その全体が参考として本明細書中に援用される）を参照のこと。

【０３６４】

（免疫表現型決定（ｉｍｍｕｎｏｐｈｅｎｏｔｙｐｉｎｇ））

本発明の抗体は、細胞株および生物学的サンプルの免疫表現型決定のために利用され得る（例えば、実施例４を参照のこと）。本発明の遺伝子の翻訳産物は、細胞特異的マーカ

ーとして、またより具体的には、特定の細胞型（特に、腫瘍および癌細胞）の分化および／または成熟の種々の段階で、差示的に発現される細胞マーカーとして有用であり得る。特異的なエピトープまたはエピトープの組み合わせに対して指向されるモノクローナル抗体は、マーカーを発現する細胞の集団のスクリーニングを可能にする。種々の技術は、マーカーを発現する細胞の集団をスクリーニングするためのモノクローナル抗体を使用して利用され得、そして種々の技術としては、抗体でコートされた磁気的ビーズを使用する磁気的分離、固体マトリックス（すなわちプレート）に付着された抗体を用いる「パニング（ｐａｎｎｉｎｇ）」、およびフローサイトメトリ（例えば、米国特許第５，９８５，６６０号；およびＭｏｒｒｉｓｏｎら、Ｃｅｌｌ，９６：７３７－４９（１９９９）を参照のこと）、が挙げられる。

【０３６５】

これらの技術は、細胞（例えば血液学的悪性疾患で見出され得るような細胞（すなわち急性白血病患者における微小残存病変（ＭＲＤ））、および対宿主性移植片病（ＧＶＨＤ）を防ぐための移植における「非自己（ｎｏｎ－ｓｅｌｆ）」細胞）の特定の集団のスクリーニングを可能にする。あるいは、これらの技術は、ヒト臍帯血中に見出され得るような、増殖および／または分化を受ける能力のある造血幹細胞および前駆細胞のスクリーニングを可能にする。

【０３６６】

（エピトープマッピング）

本発明は、ＴＲ４ポリペプチドのエピトープを同定するために使用され得る抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含む）を提供する。特に、本発明の抗体は、本明細書中に記載される技術、または当該分野において他に公知の技術を使用して、ヒトＴＲ４ポリペプチド（例えば、配列番号１）またはヒト細胞上で発現されるＴＲ４ポリペプチド；マウスＴＲ４またはマウス細胞上で発現されるＴＲ４ポリペプチド；ラットＴＲ４ポリペプチドまたはラット細胞上で発現されるＴＲ４ポリペプチド；あるいはサルＴＲ４ポリペプチドまたはサル細胞上で発現されるＴＲ４ポリペプチドのエピトープを同定するために使用され得る。エピトープとして機能するフラグメントは、任意の従来の手段により作製され得る。（例えば、Ｈｏｕｇｈｔｅｎ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：５１３１－５１３５（１９８５）（米国特許第４，７１１，２１１号にさらに記載される）を参照のこと）。本発明の抗体の同定されたエピトープは、例えば、ワクチン候補物として（すなわち、個体を免疫して天然に存在する形態のＴＲ４ポリペプチドに対する抗体を惹起するために）使用され得る。

【０３６７】

（抗体の診断的使用）

ＴＲ４ポリペプチドに特異的に結合する、本発明の標識された抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むかまたはそれからなる分子を含む）は、疾患および／または障害を検出、診断、予後判定、またはモニタリングする診断目的で使用され得る。特定の実施形態において、ＴＲ４ポリペプチドに特異的に結合する、本発明の標識された抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むか、またはこれからなる分子を含む）は、ＴＲ４の異常な発現および／または活性に関連する疾患および／または障害を検出、診断、予後判定、またはモニタリングする診断目的で、使用され得る。

【０３６８】

本発明は、ＴＲ４ポリペプチドの発現の検出を提供し、これは、以下の工程を包含する：（ａ）個体由来の生物学的サンプルにおけるＴＲ４ポリペプチドの発現を、ＴＲ４に免疫特異的に結合する本発明の１つ以上の抗体を使用して、アッセイする工程；および（ｂ）この生物学的サンプル中のＴＲ４ポリペプチドのレベルを、ＴＲ４ポリペプチドの標準レベル（例えば、正常な生物学的サンプルにおけるレベル）と比較する工程。

【０３６９】

本発明は、ＴＲ４ポリペプチドの異常な発現の検出を提供し、これは、以下の工程を包含する：（ａ）個体由来の生物学的サンプルにおけるＴＲ４ポリペプチドの発現を、ＴＲ

４に免疫特異的に結合する本発明の１つ以上の抗体を使用して、アッセイする工程；および（ｂ）この生物学的サンプル中のＴＲ４ポリペプチドのレベルを、ＴＲ４ポリペプチドの標準レベル（例えば、正常な生物学的サンプル中のレベル）と比較する工程であって、これによって、ＴＲ４ポリペプチドの標準レベルと比較した、アッセイされたＴＲ４ポリペプチドのレベルの増加または減少が、異常な発現の指標である、工程。

【０３７０】

「生物学的サンプル」とは、個体、体液、身体組織、身体細胞、細胞株、組織培養物、またはＴＲ４ポリペプチドタンパク質またはｍＲＮＡを含み得る他の供給源から得られた任意の流体および／または細胞を意図する。体液としては、血清、血漿、尿、滑液、髄液、唾液、および粘液が挙げられるが、これらに限定されない。組織サンプルは、身体における事実上任意の組織から採取され得る。組織サンプルはまた、検死材料から得られ得る。組織生検および体液を哺乳動物から得るための方法は、当該分野において周知である。生物学的サンプルがｍＲＮＡを含む場合、組織生検が、好ましい供給源である。

【０３７１】

ＴＲ４ポリペプチドに特異的に結合する、本発明の抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むか、またはこれからなる分子を含む）は、癌および他の過剰増殖障害、ならびに／または癌に関連する疾患もしくは状態を検出、診断、予後判定、またはモニタリングする診断目的のために、使用され得る。本発明は、ＴＲ４ポリペプチドの異常な発現の検出を提供し、これは、以下の工程を包含する：（ａ）個体由来の生物学的サンプルにおけるＴＲ４ポリペプチドの発現を、ＴＲ４ポリペプチドに免疫特異的に結合する本発明の１つ以上の抗体を使用して、アッセイする工程；および（ｂ）このＴＲ４ポリペプチドのレベルを、ＴＲ４ポリペプチドの標準レベル（例えば、正常な生物学的サンプルにおけるレベル）と比較する工程であって、これによって、ＴＲ４ポリペプチドの標準レベルと比較された、アッセイされたＴＲ４ポリペプチドのレベルが、癌および／または過剰増殖障害の指標である、工程。

【０３７２】

ＴＲＡＩＬは、いくつかの例において、腫瘍細胞を選択的に殺傷することが示されている（例えば、Ｏｎｃｏｇｅｎｅ　１９：３３６３－７１（２０００）を参照のこと）。このことは、正常細胞および癌細胞における、ＴＲＡＩＬレセプターの差示的な発現の結果であり得る。従って、特定の実施形態において、アッセイされたＴＲ４ポリペプチドのレベルの増加は、癌および／または過剰増殖障害の指標である。

【０３７３】

他の報告は、腫瘍細胞による減少したＴＲ４発現が、腫瘍細胞が免疫系を回避する機構であり得ることを示唆する（例えば、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｏｎｃｏｌ．１６：９１７－２５（２０００）を参照のこと）。従って、他の特定の実施形態において、アッセイされたＴＲ４ポリペプチドのレベルの減少は、癌および／または過剰増殖障害の指標である。

【０３７４】

本発明の１つの局面は、動物（好ましくは哺乳動物であり、最も好ましくはヒト）におけるＴＲ４の異常な発現に関連する疾患または障害の、検出および診断である。１つの実施形態において、診断は、以下を包含する：ａ）ＴＲ４ポリペプチドに免疫特異的に結合する、有効量の本発明の標識された抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むか、またはこれからなる分子を含む）を、被験体に（例えば、非経口的に、皮下に、または腹腔内に）投与する工程；ｂ）標識された抗体を、ＴＲ４ポリペプチドが発現される被験体中の部位に優先的に集中させるため（および結合していない標識分子をバックグラウンドレベルまで除去するため）に、投与後、ある間隔で待機する工程；ｃ）バックグラウンドレベルを決定する工程；およびｄ）被験体における標識された抗体を検出する工程であって、その結果、標識された抗体またはそのフラグメントの、バックグラウンドレベルより高く、そして疾患も障害も有さないヒトにおいて観察されたレベルより高いかまたは低い検出が、この被験体がＴＲ４ポリペプチドの異常な発現に関連する特定の疾患または障害を有することを示す、工程。バックグラウンドレベルは、種々の方法（検出された標識分

子の量を、特定の系について予め決定された標準値と比較することが挙げられる）によって決定され得る。

【０３７５】

被験体の大きさおよび使用される画像化システムが、診断の画像を作成するために必要である画像化部分の量を決定するということは、当該分野において理解される。放射性同位体部分の場合、ヒト被験体について、注入される放射能の量は、通常、約５～２０ミリキュリーの範囲の^{99}Ｔｃである。次いで、標識化抗体は、特定のタンパク質を含む細胞の位置で優先的に蓄積する。インビボでの腫瘍の画像化は、Ｓ．Ｗ．Ｂｕｒｃｈｉｅｌら、「Ｉｍｍｕｎｏｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ ｏｆ Ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔｈｅｉｒ Ｆｒａｇｍｅｎｔｓ」（Ｔｕｍｏｒ Ｉｍａｇｉｎｇ、第１３章：Ｔｈｅ Ｒａｄｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ，Ｓ．Ｗ．ＢｕｒｃｈｉｅｌおよびＢ．Ａ．Ｒｈｏｄｅｓ編、Ｍａｓｓｏｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｉｎｃ．（１９８２）において、記載される。

【０３７６】

使用する標識の型および投与の様式を含む、いくつかの変動に依存して、標識化分子が被験体中の部位に優先的に濃縮することを可能にするため、および結合していない標識化分子がバックグラウンドレベルまで除去されるための投与後の時間間隔は、６～４８時間もしくは６～２４時間または６～１２時間である。別の実施形態において、投与後の時間間隔は、５～２０日間または５～１０日間である。

【０３７７】

１つの実施形態において、疾患および障害をモニターすることは、疾患または障害を診断するための方法を繰り返すことによって実施される（例えば、最初の診断から１ヶ月後、最初の診断から６ヶ月後、最初の診断から１年後、など）。

【０３７８】

標識化分子の存在は、インビボスキャニングについての当該分野で公知の方法を使用して患者中で検出され得る。これらの方法は、使用される標識の型に依存する。当業者は、特定の標識を検出するための適切な方法を決定することができる。本発明の診断方法において使用され得る方法およびデバイスとしては、コンピュータ連動断層撮影法（ＣＴ）、体全体のスキャン（例えば、陽子（ｐｏｓｉｔｉｏｎ）射出断層撮影法（ＰＥＴ））、磁気共鳴画像法（ＭＲＩ）、および超音波診断法が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３７９】

特定の実施形態において、分子を放射性同位体で標識し、そして放射応答外科的機器（ｒａｄｉａｔｉｏｎ ｒｅｓｐｏｎｓｉｖｅ ｓｕｒｇｉｃａｌ ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔ）を使用して患者中で検出する（Ｔｈｕｒｓｔｏｎら、米国特許第５，４４１，０５０号）。別の実施形態において、分子を蛍光化合物で標識し、そして蛍光応答スキャニング機器を使用して患者中で検出する。別の実施形態において、分子を陽電子射出金属で標識し、そして陽子射出断層撮影法を使用して患者中で検出する。さらに別の実施形態において、分子を常磁性標識で標識し、そして磁気共鳴画像法（ＭＲＩ）を使用して患者中で検出する。

【０３８０】

（抗体の治療的使用）

ＴＲ４に免疫特異的に結合する、本発明の１つ以上の抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むか、またはそれからなる分子を含む）は、治療剤として、身体において局所的にかまたは全身的に使用され得る。本発明は、抗体に基づく治療にさらに関し、これは、開示される疾患、障害、または状態の１つ以上を予防または処置するために、本発明の抗体（その抗体フラグメントまたは改変体を含むか、またはそれからなる分子を含む）を、動物（好ましくは哺乳動物であり、そして最も好ましくはヒト）に投与する工程を包含する。本発明の治療化合物としては、本明細書中に記載されるような、本発明の抗体、および本発明の抗体（および抗イディオタイプ抗体）をコードする核酸が挙げられるが、これらに限定されない。１つの実施形態において、本発明の抗体を使用して、疾患、障害

または状態（本明細書中に記載される疾患、障害、または状態の任意の１つ以上が挙げられるが、これらに限定されない）を処置、軽減または予防し得る。疾患、障害、または状態の処置および／または予防としては、これらの疾患、障害または状態に関連する症状を軽減することが挙げられるが、これに限定されない。本発明の抗体は、当該分野において公知であるか、または本明細書中に記載されるような、薬学的に受容可能な組成物中に提供され得る。特定の実施形態において、本発明の抗体の特性は、以下の実施例に詳細に記載されるように、抗体を、以前に記載されたＴＲ４結合抗体より良好な治療剤にする。

【０３８１】

（癌を処置するための、抗体の治療的使用）

非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、癌を処置、予防または軽減するために使用される。特定の実施形態において、本発明の抗体は、癌および他の関連する障害の進行または転移を阻害するために使用される。癌および関連する障害としては、結腸癌、頸部癌、白血病（急性白血病（例えば、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病（骨髄芽球性白血病、前骨髄性白血病、骨髄単球性白血病、単球性白血病、および赤白血病が挙げられる）が挙げられる）および慢性白血病（例えば、慢性骨髄性（顆粒球性）白血病および慢性リンパ性白血病））、真性赤血球増加症、リンパ腫（例えば、ホジキン病および非ホジキン病）、多発性骨髄腫、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、Ｈ鎖病、および固形腫瘍（肉腫および癌腫（例えば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、骨膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原生癌、腎細胞癌、ヘパトーム、胆管癌、絨毛癌、セミノーマ、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、神経膠星状細胞腫、髄芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、脳室上衣細胞腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起神経膠腫、髄膜腫（ｍｅｎａｎｇｉｏｍａ）、黒色腫、神経芽細胞腫、および網膜芽細胞腫が挙げられるが、これらに限定されない）が挙げられるが、これらに限定されない）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３８２】

非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、直腸癌を処置、予防または軽減するために使用される。

【０３８３】

非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、黒色腫を処置、予防または軽減するために使用される。

【０３８４】

非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、肝臓の癌（例えば、ヘパトーム）を処置、予防または軽減するために使用される。

【０３８５】

非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、中枢神経系の癌（例えば、髄芽細胞腫（ｍｅｄｕｌｌｏｂｌａｓｔｉｏｍａ）、神経芽細胞腫、および神経膠芽細胞腫）を処置、予防または軽減するために使用される。

【０３８６】

本発明に従って、ＴＲＡＩＬレセプターＴＲ４の発現は、肺癌組織、膀胱癌組織、および卵巣癌組織においてであることが実証された。さらに、本発明に従って、ＴＲＡＩＬレセプターＴＲ４は、原発性の胸部腫瘍組織、結腸腫瘍組織、肺腫瘍組織、および胃腫瘍組織において発現されることが実証された（実施例９を参照のこと）。従って、非常に好ま

しい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、肺癌を処置するために使用される。他の非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、膀胱癌を処置するために使用される。他の非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、卵巣癌を処置するために使用される。他の非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、乳癌を処置するために使用される。他の非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、結腸癌および．または結腸直腸癌を処置するために使用される。他の非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、胃癌を処置するために使用される。

【０３８７】

他の非常に好ましい実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、結腸癌、黒色腫、膵臓癌および肝臓の癌（例えば、ヘパトーム）を処置、予防または改善するために使用される。

【０３８８】

別の実施形態において、ＴＲ４を結合し、そしてＴＲ４発現細胞のアポトーシスを刺激する、本発明の抗体は、増加した細胞生存性、またはアポトーシスの阻害に関連する疾患および／または障害を処置するために使用される。この疾患および／または障害としては、癌（例えば、濾胞性リンパ腫、ｐ５３変異を伴う癌腫、およびホルモン依存性腫瘍（結腸癌、心臓腫瘍、膵臓癌、黒色腫、網膜芽細胞腫、神経膠芽細胞腫、肺癌、腸癌、精巣癌、胃癌、神経芽細胞腫、粘液腫、筋腫、リンパ腫、内皮腫、骨芽細胞腫、巨骨細胞腫、骨肉腫、軟骨肉腫、腺腫、乳癌、前立腺癌、カポージ肉腫、および卵巣癌が挙げられるが、これらに限定されない））；自己免疫障害（例えば、多発性硬化症、シェーグレン症候群、橋本甲状腺炎、胆汁性肝硬変、ベーチェット病（Ｂｅｈｃｅｔ’ｓ　ｄｉｓｅａｓｅ）、クローン病、多発性筋炎、全身性エリテマトーデスおよび免疫関連糸球体腎炎、慢性関節リウマチ）ならびにウイルス感染（例えば、ヘルペスウイルス、ポックスウイルスおよびアデノウイルス）、情報（ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ）対宿主性移植片病、急性移植拒絶、および慢性移植拒絶が挙げられる。好ましい実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、癌（特に、上に列挙された癌）の増殖、進行および／または転移を阻害するために使用される。好ましい実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、インビトロまたはインビボで、肝毒性ではない。

【０３８９】

（抗体のさらなる治療用途）

別の実施形態において、本発明は、ＴＲ４発現細胞の増殖を阻害するかまたは死滅させるための方法および組成物を提供する。この方法は、ＴＲ４発現細胞のこのような増殖阻害または死滅が所望される動物に、ＴＲ４発現細胞の増殖を阻害するかまたは死滅させるのに有効な量で、本発明の抗体または抗体組成物（例えば、本発明の抗体フラグメントおよび改変体、抗体混合物、抗体多量体、融合タンパク質、ならびに他の治療剤（例えば、化学療法剤）と組み合わせた抗体）を投与する工程を包含するか、あるいはこの工程からなる。

【０３９０】

１つの局面において、本発明は、ＴＮＦファミリーリガンド（特に、ＴＲＡＩＬ（配列番号６６））により誘導されるアポトーシスを増強するための方法を提供する。この方法は、ＴＲ４ポリペプチドを発現する細胞に、ＴＲ４により媒介されるシグナル伝達を誘導し得るかまたは増大し得る、有効量の本発明の抗体、好ましくは、アゴニスト性抗ＴＲ４抗体を投与する工程を包含する。好ましくは、ＴＲ４により媒介されるシグナル伝達は、本発明の抗体により増大または誘導され、減少したアポトーシスまたは減少したサイトカインおよび接着分子の発現が示される疾患が処置される。

【０３９１】
さらなる局面において、本発明は、ＴＮＦファミリーリガンド（特に、ＴＲＡＩＬ（配列番号６６））により誘導されるアポトーシスを阻害するための方法を提供する。この方法は、ＴＲ４ポリペプチドを発現する細胞に、ＴＲ４により媒介されるシグナル伝達を減少し得る、有効量の本発明の抗体、好ましくは、アンタゴニスト性抗ＴＲ４抗体を投与する工程を包含する。好ましくは、ＴＲ４により媒介されるシグナル伝達が減少され、増大したアポトーシスまたはＮＦκＢ発現が示される疾患が処置される。
【０３９２】
ＴＲ４「アゴニスト」は、ＴＲＡＩＬレセプターにより媒介されるアポトーシスを増強し得るかまたは強化し得る、天然に存在する化合物および合成化合物を意図する。ＴＲ４「アンタゴニスト」は、ＴＲＡＩＬレセプターにより媒介されるアポトーシスを阻害し得る、天然に存在する化合物および合成化合物を意図する。本発明の任意の候補「アゴニスト」または「アンタゴニスト」が、それぞれ、増強または阻害し得ようとし得まいと、アポトーシスは、当該分野で公知のＴＮＦファミリーリガンド／レセプターの細胞応答アッセイ（以下でより詳細に記載されるアッセイを含む）を用いて決定される。
【０３９３】
本発明の抗体は、ＴＲ４またはＴＲ４リガンドの異常な発現および／または活性に関連する疾患、障害、または状態（本明細書中に記載される疾患、障害、または状態の任意の１つ以上が挙げられるがこれらに限定されない）を処置、回復、または防止するために使用され得る。異常なＴＲ４発現および／または活性あるいは異常なＴＲ４リガンド発現および／または活性に関連する疾患、障害、または状態の処置および／または防止としては、それらの疾患、障害、または状態に関連する症候の軽減が挙げられるがこれらに限定されない。本発明の抗体は、当該分野で公知であるかまたは本明細書中に記載されるような薬学的に受容可能な組成物中で提供され得る。
【０３９４】
さらに、ＴＲＡＩＬレセプターにより媒介される生物学的活性（例えば、ＴＲＡＩＬレセプター発現細胞におけるアポトーシスの誘導）を活性化する本発明の抗体（それらの抗体フラグメントまたは改変体を含むか、あるいはこれらからなる分子を含む）が、哺乳動物に投与され、本明細書中に記載される疾患または障害（特に、癌および他の過剰増殖障害）が処置、防止、または回復され得る。これらの抗体は、ＴＲＡＩＬレセプターの生物学的活性の全てまたはそのサブセットのいずれかを、例えば、ＴＲＡＩＬレセプターにおけるコンホメーション変化を誘導することにより強化または活性化し得る。特定の実施形態において、その抗体の非存在下でのＴＲ４活性に対して、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、少なくとも２倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍、ＴＲ４活性を増大する本発明の抗体が、動物に投与されて、疾患または障害が処置、防止、または回復される。別の実施形態において、その抗体もしくは抗体フラグメントおよび／または抗体改変体の非存在下でのＴＲ４活性に対して、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、少なくとも２倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍、ＴＲ４活性を増大する抗体の組み合わせ、抗体フラグメントの組み合わせ、抗体改変体の組み合わせ、または抗体、抗体フラグメント、および／もしくは抗体改変体の組み合わせが、動物に

投与されて、疾患または障害が処置、防止、または回復される。

【０３９５】

さらに、ＴＲ４により媒介される生物学的活性（例えば、ＴＲ４発現細胞におけるアポトーシスの誘導）を活性化する本発明の抗体（それらの抗体フラグメントまたは改変体を含むか、あるいはこれらからなる分子を含む）が、動物に投与され、異常なＴＲ４発現、ＴＲ４機能の欠失、異常なＴＲ４リガンドの発現、またはＴＲ４リガンド機能の欠失に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復され得る。これらの抗体は、ＴＲＡＩＬレセプターの生物学的活性の全てまたはそのサブセットのいずれかを、例えば、ＴＲＡＩＬレセプターにおけるコンホメーション変化を誘導することにより強化または活性化し得る。特定の実施形態において、その抗体の非存在下でのＴＲ４活性に対して、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、少なくとも２倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍、ＴＲ４活性を増大する本発明の抗体が、動物に投与されて、異常なＴＲ４発現、ＴＲ４機能の欠失、異常なＴＲ４リガンドの発現、またはＴＲ４リガンド機能の欠失に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復される。別の実施形態において、その抗体もしくは抗体フラグメントおよび／または抗体改変体の非存在下でのＴＲ４活性に対して、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、少なくとも２倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍、ＴＲ４活性を増大する抗体の組み合わせ、抗体フラグメントの組み合わせ、抗体改変体の組み合わせ、または抗体、抗体フラグメント、および／もしくは抗体改変体の組み合わせが、動物に投与されて、異常なＴＲ４発現、ＴＲ４機能の欠失、異常なＴＲ４リガンドの発現、またはＴＲ４リガンド機能の欠失に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復される。

【０３９６】

ＴＲＡＩＬレセプター（好ましくは、ＴＲ４シグナル伝達のレセプター）のアゴニストまたはアンタゴニストとして機能する本発明の抗体（それらの抗体フラグメントまたは改変体を含むか、あるいはこれらからなる分子を含む）が、動物に投与され、異常なＴＲ４発現、ＴＲ４機能の欠失、異常なＴＲ４リガンドの発現、またはＴＲ４リガンド機能の欠失に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復され得る。例えば、ＴＲ４へのＴＲＡＩＬの結合作用を完全にかまたは部分的に模倣する本発明の抗体（ＴＲ４アゴニスト）が動物に投与され、異常なＴＲ４発現、ＴＲ４機能の欠失、異常なＴＲ４リガンドの発現、またはＴＲ４リガンド機能の欠失に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復され得る。代替の例として、ＴＲ４とそのリガンドとの間の相互作用を破壊もしくは防止するかまたはＴＲ４を通したシグナル伝達を阻害、減少、または防止する本発明の抗体が動物に投与され、異常なＴＲ４発現、ＴＲ４機能の欠失、異常なＴＲ４リガンドの発現、もしくはＴＲ４リガンド機能の欠失に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復され得る。ＴＲ４がそのリガンドに結合するのを妨げないが、ＴＲ４のシグナル伝達を阻害またはダウンレギュレートする本発明の抗体が動物に投与され、異常なＴＲ４発現、ＴＲ４機能の欠失、異常なＴＲ４リガンドの発現、またはＴＲ４リガンド機能の欠失に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復され得る。ＴＲ４シグナル伝達を増強、阻害、アップレギュレート、またはダウンレギュレートする本発明の抗体の能力は、本明細書中に記載される技術またはそうでなければ当該分野で公知の技術により決定され得る

。例えば、ＴＲＡＩＬにより誘導されるレセプターの活性化およびシグナル伝達分子の活性化は、免疫沈降後のウェスタンブロット分析（例えば、本明細書中に記載されるように）により、ＴＲ４とアダプタータンパク質（例えば、ＦＡＤＤおよびＴＲＡＤＤ）との結合を検出することにより決定され得る。

【０３９７】

さらに、ＴＲ４により媒介される生物学的活性（例えば、ＴＲ４発現細胞におけるアポトーシスの誘導）を活性化する本発明の抗体（それらの抗体フラグメントまたは改変体を含むか、あるいはこれらからなる分子を含む）が、動物に投与され、異常なＴＲ４発現、ＴＲ４機能の欠失、異常なＴＲ４リガンドの発現、またはＴＲ４リガンド機能の欠失に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復され得る。これらの抗体は、ＴＲＡＩＬレセプターの生物学的活性の全てまたはそのサブセットのいずれかを、例えば、ＴＲＡＩＬレセプターにおけるコンホメーション変化を誘導することにより強化または活性化し得る。特定の実施形態において、その抗体の非存在下でのＴＲ４活性に対して、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、少なくとも２倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍、ＴＲ４活性を増大する本発明の抗体が、動物に投与されて、異常なＴＲ４発現、ＴＲ４機能の欠失、異常なＴＲ４リガンドの発現、またはＴＲ４リガンド機能の欠失に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復される。別の実施形態において、その抗体もしくは抗体フラグメントおよび／または抗体改変体の非存在下でのＴＲ４活性に対して、少なくとも５％、少なくとも１０％、少なくとも１５％、少なくとも２０％、少なくとも２５％、少なくとも３０％、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９９％、少なくとも２倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも１０倍、少なくとも２０倍、少なくとも５０倍、または少なくとも１００倍、ＴＲ４活性を増大する抗体の組み合わせ、抗体フラグメントの組み合わせ、抗体改変体の組み合わせ、または抗体、抗体フラグメント、および／もしくは抗体改変体の組み合わせが、動物に投与されて、異常なＴＲ４発現、ＴＲ４機能の欠失、異常なＴＲ４リガンドの発現、またはＴＲ４リガンド機能の欠失に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復される。

【０３９８】

特定の実施形態において、その抗体の非存在下でのＴＲ４活性に対して、少なくとも９５％、少なくとも９０％、少なくとも８５％、少なくとも８０％、少なくとも７５％、少なくとも７０％、少なくとも６０％、少なくとも５０％、少なくとも４５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも３５％、少なくとも３０％、少なくとも２５％、少なくとも２０％、または少なくとも１０％、ＴＲ４活性（例えば、アポトーシスの刺激）を完全にかまたは部分的に阻害またはダウンレギュレートする本発明の抗体（それらの抗体フラグメントまたは改変体を含むか、あるいはこれらからなる分子を含む）が、動物に投与されて、異常なＴＲ４発現、過剰なＴＲ４機能、異常なＴＲ４リガンドの発現、または過剰なＴＲ４リガンド機能に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復される。別の実施形態において、その抗体、抗体フラグメント、および／または抗体改変体の非存在下でのＴＲ４活性に対して、少なくとも９５％、少なくとも９０％、少なくとも８５％、少なくとも８０％、少なくとも７５％、少なくとも７０％、少なくとも６５％、少なくとも６０％、少なくとも５５％、少なくとも５０％、少なくとも４５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも３５％、少なくとも３０％、少なくとも２５％、少なくとも２０％、または少なくとも１０％、ＴＲ４活性を阻害またはダウンレギュレー

トする抗体の組み合わせ、抗体フラグメントの組み合わせ、抗体改変体の組み合わせ、または抗体、抗体フラグメント、および／もしくは抗体改変体の組み合わせが、動物に投与されて、異常なＴＲ４発現、過剰なＴＲ４機能、異常なＴＲ４リガンドの発現、または過剰なＴＲ４リガンド機能に関連する疾患または障害が処置、防止、または回復される。

【０３９９】

１つの実施形態において、本発明の治療組成物または薬学的組成物が、動物に投与されて、ＡＩＤＳ、神経変性障害（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜炎、小脳変性）、筋萎縮性側索硬化症（例えば、再生不良性貧血）、虚血性障害（例えば、心筋梗塞、発作および再灌流障害によって引き起こされる障害）、毒素誘導肝疾患（例えば、アルコールによって引き起こされる障害）、敗血症性ショック、悪液質および食欲不振が挙げられるがこれらに限定されない、増加したアポトーシスに関連する疾患または障害が処置、防止、または回復される。別の実施形態において、本発明の治療組成物または薬学的組成物が、動物に投与され、骨髄機能不全（例えば、再生不良性貧血および脊髄形成異常症候群）を処置、防止、または回復される。

【０４００】

本発明の治療組成物または薬学的組成物はまた、器官拒絶もしくは移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）および／またはそれらに関連する状態を処置、防止、または回復するために投与され得る。器官拒絶は、免疫応答を通じた、移植された組織の宿主免疫細胞の破壊により生じる。同様に、免疫応答はまた、ＧＶＨＤに関与するが、この場合、外来移植免疫細胞が、宿主組織を破壊する。免疫細胞エフェクター機能により誘導される細胞死は、アポトーシス死である。従って、本発明の抗体（例えば、アポトーシスを阻害する抗体）の投与は、器官拒絶またはＧＶＨＤを防止する上で有効な治療であり得る。

【０４０１】

別の実施形態において、本発明の治療組成物または薬学的組成物が、動物に投与されて、感染疾患が処置、防止、または回復される。感染疾患としては、酵母、真菌、ウイルス、および細菌の感染に関連する疾患が挙げられる。本発明に従って処置または防止され得るウイスル感染に関連するウイルスとしては、レトロウイルス（例えば、ヒトＴ細胞リンパ向性ウイルス（ＨＴＬＶ）Ｉ型およびＩＩ型ならびにヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ））、ヘルペスウイルス（例えば、単純ヘルペスウイルス（ＨＳＶ）Ｉ型およびＩＩ型、エプスタイン－バーウイルス、ＨＨＶ６－ＨＨＶ８、ならびにサイトメガロウイルス）、アレナウイルス（例えば、ラッサ熱ウイルス）、パラミクソウイルス（例えば、はしかウイルス、ヒト呼吸器合胞体ウイルス、おたふく風邪ウイルス、およびニューモウイルス）、アデノウイルス、ブンヤウイルス（例えば、ハンタウイルス）、コルナウイルス、フィロウイルス（例えば、エボラウイルス）、フラビウイルス（例えば、Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）、黄熱ウイルス、および日本脳炎ウイルス）、ヘパドナウイルス（例えば、Ｂ型肝炎（ＨＢＶ））、オルトミオウイルス（例えば、インフルエンザＡ、Ｂ、およびＣ）、パポバウイルス（例えば、パピローマウイルス）、ピコルナウイルス（例えば、リノウイルス、エンテロウイルス、およびＡ型肝炎ウイルス）、ポックスウイルス、レノウイルス（例えば、ロタウイルス）、トガウイルス（例えば、ルベラウイルス）、ラブドウイルス（例えば、狂犬病ウイルス）が挙げられるがこれらに限定されない。細菌感染に関連する微生物病原体としては、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｙｏｇｅｎｅｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｇｏｎｏｒｒｈｏｅａ、Ｎｅｉｓｓｅｒｉａ ｍｅｎｉｎｇｉｔｉｄｉｓ、Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｄｉｐｈｔｈｅｒｉａｅ、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｂｏｔｕｌｉｎｕｍ、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｐｅｒｆｒｉｎｇｅｎｓ、Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｔｅｔａｎｉ、Ｈａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａｅ、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｏｚａｅｎａｅ、Ｋｌｅｂｓｉｅｌｌａ ｒｈｉｎｏｓｃｌｅｒｏｍｏｔｉｓ、Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ、Ｖｉｂｒｉｏ ｃｈｏｌｅｒａｅ、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ、Ｃａｍｐｙｌｏｂａｃｔｅｒ（Ｖｉｂｒｉｏ） ｆｅｔｕｓ、Ｃａｍｐｙｌｏ

ｂａｃｔｅｒ ｊｅｊｕｎｉ、Ａｅｒｏｍｏｎａｓ ｈｙｄｒｏｐｈｉｌａ、Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｃｅｒｅｕｓ、Ｅｄｗａｒｄｓｉｅｌｌａ ｔａｒｄａ、Ｙｅｒｓｉｎｉａ ｅｎｔｅｒｏｃｏｌｉｔｉｃａ、Ｙｅｒｓｉｎｉａ ｐｅｓｔｉｓ、Ｙｅｒｓｉｎｉａ ｐｓｅｕｄｏｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ、Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｄｙｓｅｎｔｅｒｉａｅ、Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｆｌｅｘｎｅｒｉ、Ｓｈｉｇｅｌｌａ ｓｏｎｎｅｉ、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍ、Ｔｒｅｐｏｎｅｍａ ｐａｌｌｉｄｕｍ、Ｔｒｅｐｏｎｅｍａ ｐｅｒｔｅｎｕｅ、Ｔｒｅｐｏｎｅｍａ ｃａｒａｔｅｎｅｕｍ、Ｂｏｒｒｅｌｉａ ｖｉｎｃｅｎｔｉｉ、Ｂｏｒｒｅｌｉａ ｂｕｒｇｄｏｒｆｅｒｉ、Ｌｅｐｔｏｓｐｉｒａ ｉｃｔｅｒｏｈｅｍｏｒｒｈａｇｉａｅ、Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ、Ｔｏｘｏｐｌａｓｍａ ｇｏｎｄｉｉ、Ｐｎｅｕｍｏｃｙｓｔｉｓ ｃａｒｉｎｉｉ、Ｆｒａｎｃｉｓｅｌｌａ ｔｕｌａｒｅｎｓｉｓ、Ｂｒｕｃｅｌｌａ ａｂｏｒｔｕｓ、Ｂｒｕｃｅｌｌａ ｓｕｉｓ、Ｂｒｕｃｅｌｌａ ｍｅｌｉｔｅｎｓｉｓ、Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ ｓｐｐ．、Ｒｉｃｋｅｔｔｓｉａ ｐｒｏｗａｚｅｋｉ、Ｒｉｃｋｅｔｔｓｉａ ｔｓｕｔｓｕｇｕｍｕｓｈｉ、Ｃｈｌａｍｙｄｉａ ｓｐｐ．、およびＨｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ ｐｙｌｏｒｉが挙げられるがこれらに限定されない。

【０４０２】

別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＡＩＤＳ、神経変性障害（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜炎、小脳変性）、脳腫瘍またはプリオン関連疾患；自己免疫障害（例えば、多発性硬化症、慢性関節リウマチ、シェーグレン症候群、橋本甲状腺炎、胆汁性肝硬変、ベーチェット病、クローン病、多発性筋炎、全身性エリスマトーデス、および免疫関連糸球体炎、ならびに慢性関節リウマチ）、脊髄形成異常症候群（例えば、再生不良性貧血）、対宿主性移植片病、虚血障害（例えば、心筋梗塞、発作および再灌流障害によって引き起こされる障害）、肝臓障害（例えば、肝炎関連肝臓損傷、虚血／再灌流障害、うっ滞（胆管）、および肝臓癌）；毒素誘導肝疾患（例えば、アルコールによって引き起こされる障害）、敗血症性ショック、悪液質および食欲不振が挙げられるがこれらに限定されない、増加したアポトーシスに関連する疾患を処置、防止、または回復するために使用される。好ましい実施形態において、ＴＲＡＩＬレセプターに結合して、抗体がＴＲＡＩＬレセプターに結合するのを防止するが、アポトーシスを引き起こす生物学的シグナルを伝達しない、抗ＴＲ４アンタゴニスト性抗体が、上記に列挙される疾患および障害を処置するために使用される。

【０４０３】

ＨＩＶに関連する多くの病理（ＨＩＶ誘導腎症およびＨＩＶ脳炎を含む）は、アポトーシスによって媒介される。従って、さらなる好ましい実施形態において、本発明の抗体（好ましくは、アンタゴニスト性抗ＴＲ４抗体）はＡＩＤＳおよびＡＩＤＳに関連する病理を処置するために使用される。本発明の別の実施形態は、ＨＩＶ感染患者においてＴＲＡＩＬにより媒介されるＴ細胞の死を低減するための、本発明の抗体の使用に関する。

【０４０４】

さらなる実施形態においては、本発明の抗体（特にアンタゴニスト性抗ＴＲ４抗体）は、Ｔ細胞アポトーシスの他のインヒビターと組み合わせて投与される。例えば、Ｆａｓにより媒介されるアポトーシスは、ＨＩＶ個体におけるＴ細胞の損失に関係している（Ｋａｔｓｉｋｉｓら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８１：２０２９～２０３６、１９９５）。従って、Ｆａｓリガンドにより媒介されるＴ細胞死およびＴＲＡＩＬにより媒介されるＴ細胞死の両方に対して感受性の患者は、ＴＲＡＩＬ／ＴＲ４相互作用をブロックする薬剤およびＦａｓリガンド／Ｆａｓ相互作用をブロックする薬剤の両方を用いて処置され得る。Ｆａｓに対するＦａｓリガンドの結合をブロックするための適切な薬剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：可溶性Ｆａｓポリペプチド；可溶性Ｆａｓポリペプチドの多量体形態（例えば、ｓＦａｓ／Ｆｃの二量体）；アポトーシスを生じる生物学的シグナルを伝達することなく、Ｆａｓに結合する抗Ｆａｓ抗体；ＦａｓへのＦａｓリガンドの結合をブロックする抗Ｆａｓリガンド抗体；およびＦａｓに結合するが、アポトーシ

スを生じる生物学的シグナルを伝達しないＦａｓリガンドのムテイン。好ましくは、この方法に従って使用される抗体は、モノクローナル抗体である。Ｆａｓリガンド／Ｆａｓ相互作用をブロックする（抗Ｆａｓモノクローナル抗体をブロックすることを含む）ための適切な薬剤の例は、国際出願公開ＷＯ９５／１０５４０（本明細書中に参考として援用される）に記載される。

【０４０５】

ＴＲＡＩＬのＴＲ４への結合をブロックし、本発明の抗体と共に投与され得る適切な薬剤としては、可溶性ＴＲ４ポリペプチド（例えば、ＯＰＧ、ＴＲ５の可溶性形態（国際出願公開番号ＷＯ　９８／３０６９３）；ＴＲ４の可溶性形態（国際出願公開番号ＷＯ　９８／３２８５６）；ＴＲ７／ＤＲ５（国際出願公開番号ＷＯ　９８／４１６２９）；およびＴＲ１０（国際出願公開番号ＷＯ　９８／５４２０２）；可溶性ＴＲ４ポリペプチドの多量体形態；ならびにアポトーシスを生じる生物学的シグナルを伝達せずにＴＲ４に結合するＴＲ４抗体、１つ以上のＴＲＡＩＬレセプターへのＴＲＡＩＬの結合をブロックする抗ＴＲＡＩＬ抗体、およびＴＲＡＩＬレセプターを結合するが、アポトーシスを生じる生物学的シグナルを伝達しないＴＲＡＩＬのムテインが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４０６】

同種移植片の拒絶においては、レシピエント動物の免疫系が、応答するためにあらかじめプライムされていない。なぜなら、大部分についての免疫系は、環境抗原によってのみプライムされるからである。同一の種の他のメンバー由来の組織は、同じ様式（例えば、ウイルスおよび細菌が提示されている）で提示されていない。同種移植片拒絶の場合、免疫抑制性レジメンは、免疫系がエフェクター段階に到達するのを妨げるように設計される。しかし、異種移植片拒絶の免疫プロフィールは、同種移植片拒絶よりも疾患の再発に類似し得る。疾患の再発の場合、天然の島細胞の破壊によって証明されるように、免疫系はすでに活性化されている。従って、疾患の再発において、免疫系はすでにエフェクター段階にある。本発明の抗体（例えば、本発明のアゴニスト性抗体）は、同種移植片および異種移植片の両方に対する免疫応答を抑制し得る。なぜなら、活性化リンパ球およびエフェクター細胞に分化したリンパ球が、ＴＲ４ポリペプチドを発現し、それによって、アポトーシスを増強する化合物に対して感受性であるからである。従って、本発明はさらに、免疫特権のある組織（ｉｍｍｕｎｅ　ｐｒｉｖｉｌｅｇｅｄ　ｔｉｓｓｕｅ）を作製するための方法を提供する。本発明のアンタゴニストはさらに、炎症性腸疾患の処置に使用され得る。

【０４０７】

本発明の抗体および抗体組成物は、炎症疾患（例えば、慢性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬、敗血症、および炎症性腸疾患）を処置するために有用であり得る。

【０４０８】

さらに、ＴＲ４ポリペプチドのリンパ芽球発現に起因して、本発明の抗体および抗体組成物は、この形態の癌を処置するために使用され得る。さらに、本発明の抗体および抗体組成物は、種々の慢性形態および急性形態の炎症（例えば、慢性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬、敗血症、および炎症性腸疾患）を処置するために使用され得る。

【０４０９】

１つの実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、四肢虚血のような心血管障害（末梢動脈疾患を含む）を処置するために使用され得る。

【０４１０】

心臓血管障害としては、動動脈瘻（ａｒｔｅｒｉｏ－ａｒｔｅｒｉａｌ　ｆｉｓｔｕｌａ）、動静脈瘻、大脳動静脈先天異常、先天性心欠陥（ｃｏｎｇｅｎｉｔａｌ　ｈｅａｒｔ　ｄｅｆｅｃｔｓ）、肺動脈弁閉鎖症、およびシミター症候群のような心臓血管異常が挙げられる。先天性心欠陥としては、大動脈縮窄、三房心、冠状脈管奇形（ｃｏｒｏｎａｒｙ　ｖｅｓｓｅｌ　ａｎｏｍａｌｉｅｓ）、交差心、右胸心、開存性動脈管（ｐａｔｅｎｔ　ｄｕｃｔｕｓ　ａｒｔｅｒｉｏｓｕｓ）、エブスタイン奇形、アイゼンメンガー複

合体、左心室発育不全症候群、左胸心、ファロー四徴症、大血管転位症、両大血管右室起始症、三尖弁閉鎖症、動脈管遺残、および心中隔欠損症（ｈｅａｒｔ ｓｅｐｔａｌ ｄｅｆｅｃｔｓ）（例えば、大動脈肺動脈中隔欠損症（ａｏｒｔｏｐｕｌｍｏｎａｒｙ ｓｅｐｔａｌ ｄｅｆｅｃｔ）、心内膜床欠損症、リュタンバッシェ症候群、ファロー三徴症、および心室心中隔欠損症（ｖｅｎｔｒｉｃｕｌａｒ ｈｅａｒｔ ｓｅｐｔａｌ ｄｅｆｅｃｔｓ））が挙げられる。

【０４１１】

心臓血管障害としてはまた、不整脈、カルチノイド心臓病、高心拍出量（ｈｉｇｈ ｃａｒｄｉａｃ ｏｕｔｐｕｔ）、低心拍出量（ｌｏｗ ｃａｒｄｉａｃ ｏｕｔｐｕｔ）、心タンポナーデ、心内膜炎（細菌性を含む）、心臓動脈瘤、心停止、うっ血性心不全、うっ血性心筋症、発作性呼吸困難、心臓水腫、心肥大、うっ血性心筋症、左心室肥大、右心室肥大、梗塞後心破裂（ｐｏｓｔ－ｉｎｆａｒｃｔｉｏｎ ｈｅａｒｔ ｒｕｐｔｕｒｅ）、心室中隔破裂、心臓弁疾患、心筋疾患、心筋虚血、心内膜液浸出、心外膜炎（梗塞性および結核性を含む）、気心膜症、心膜切開後症候群、右心疾患、リウマチ性心疾患、心室機能不全、充血、心臓血管妊娠合併症（ｃａｒｄｉｏｖａｓｃｕｌａｒ ｐｒｅｇｎａｎｃｙ ｃｏｍｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ）、シミター症候群、心血管梅毒、および心血管結核（ｃａｒｄｉｏｖａｓｃｕｌａｒ ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ）のような心臓病が挙げられる。

【０４１２】

不整脈としては、以下が挙げられる：洞不整脈、心房細動、心房粗動、徐脈、期外収縮、アダムズ－ストークス症候群、脚ブロック、洞ブロック、長ＱＴ症候群、副収縮、ローン－ギャノング－レヴァイン症候群、マハイム型早期興奮症候群、ウォルフ－パーキンソン－ホワイト症候群、洞不全症候群、頻拍、および心室細動。頻拍としては、以下が挙げられる：発作頻拍、上室頻拍、加速性心室固有調律、房室結節性再入頻拍、異所性心房頻拍、異所性接合部頻拍、洞房結節性再入頻拍、洞頻拍、Ｔｏｒｓａｄｅｓ ｄｅ Ｐｏｉｎｔｅｓおよび心室頻拍。

【０４１３】

心臓弁疾患としては、以下が挙げられる：大動脈弁不全、大動脈弁狭窄、雑音（ｈｅａｒ ｍｕｒｍｕｒｓ）、大動脈弁脱出、僧帽弁脱出、三尖弁脱出、僧帽弁不全、僧帽弁狭窄、肺動脈弁閉鎖、肺動脈弁不全、肺動脈弁狭窄、三尖弁閉鎖、三尖弁不全、および三尖弁狭窄。

【０４１４】

心筋疾患としては、以下が挙げられる：アルコール性心筋症、うっ血性心筋症、肥大型心筋症、弁下部大動脈狭搾症、弁下部肺動脈狭搾症、拘束型心筋症、シャーガス心筋症、心内膜線維弾性症、心内膜心筋線維症、キーンズ症候群、心筋再灌流障害、および心筋炎。

【０４１５】

心筋性虚血としては、狭心症、冠動脈瘤、冠動脈硬化、冠動脈血栓症、冠動脈血管痙攣、心筋梗塞、および心筋気絶（ｍｙｏｃａｒｄｉａｌ ｓｔｕｎｎｉｎｇ）のような冠動脈疾患が挙げられる。

【０４１６】

心臓血管疾患としてはまた、動脈瘤、血管形成異常、血管腫症、細菌性血管腫症状、ヒッペル－リンダラ疾患（Ｈｉｐｐｅｌ－Ｌｉｎｄａｕ Ｄｉｓｅａｓｅ）、クリペル－トルノネー－ウェーバー症候群、スタージ－ウェーバー症候群、血管運動神経性水腫、大動脈疾患、高安動脈炎、大動脈炎、ルリーシュ症候群、動脈閉塞疾患、動脈炎、動脈内膜炎（ｅｎａｒｔｅｒｉｔｉｓ）、結節性多発性動脈炎、脳血管障害、糖尿病性血管障害、糖尿病性網膜症、塞栓症、血栓症、先端紅痛症、痔、肝静脈閉塞疾患、高血圧、低血圧、虚血、末梢血管疾患、静脈炎、肺静脈閉塞疾患、レーノー病、ＣＲＥＳＴ症候群、網膜静脈閉塞、シミター症候群、上大静脈症候群、毛細血管拡張症、毛細血管拡張性運動失調（ａｔａｃｉａ ｔｅｌａｎｇｉｅｃｔａｓｉａ）、遺伝性出血性毛細管拡張症、精索静脈瘤

、拡張蛇行静脈、静脈瘤性潰瘍、脈管炎、および静脈機能不全のような血管疾患が挙げられる。

【０４１７】

動脈瘤としては、解離性動脈瘤、偽動脈瘤、感染した動脈瘤、破裂した動脈瘤、大動脈性動脈瘤、大脳性動脈瘤、冠動脈瘤、心動脈瘤、および腸骨性動脈瘤が挙げられる。

【０４１８】

動脈閉塞疾患としては、動脈硬化症、間欠性跛行、頸動脈狭窄症、線維筋性形成異常、腸間膜性血管閉塞、モヤモヤ病、腎動脈閉塞、網膜動脈閉塞、および閉塞性血栓性血管炎が挙げられる。

【０４１９】

脳血管障害としては、頸動脈疾患、脳のアミロイド血管症、大脳動脈瘤、大脳無酸素症、大脳動脈硬化、大脳動静脈先天異常、大脳動脈疾患、大脳の閉塞症および血栓症、頸動脈血栓症、洞血栓症、ヴァレンベルク症候群、大脳出血、硬膜上血腫、硬膜下血腫、クモ膜下出血（ｓｕｂａｒａｘｈｎｏｉｄ　ｈｅｍｏｒｒｈａｇｅ）、大脳梗塞、大脳虚血（一過性を含む）、鎖骨下動脈盗血症候群、室周白軟化症（ｐｅｒｉｖｅｎｔｒｉｃｕｌａｒ　ｌｅｕｋｏｍａｌａｃｉａ）、血管性頭痛、群発性頭痛、片頭痛、および椎骨基部（ｖｅｒｔｅｂｒｏｂａｓｉｌａｒ）機能不全が挙げられる。

【０４２０】

塞栓症としては、空気塞栓症、羊水塞栓症、コレステロール塞栓症、爪先チアノーゼ症候群、脂肪塞栓症、肺動脈塞栓症、および血栓塞栓症が挙げられる。血栓症としては、冠状動脈血栓症、肝静脈血栓症、網膜静脈閉塞、頸動脈血栓症、洞血栓症、ヴァレンベルク症候群、および血栓性静脈炎が挙げられる。

【０４２１】

虚血としては、大脳虚血、虚血性大腸炎、区画症候群、前区画症候群、心筋虚血、再灌流傷害、および末梢四肢虚血が挙げられる。脈管炎としては、大動脈炎、動脈炎、ベーチェット（Ｂｅｈｃｅｔ）症候群、チャーグ－ストラウス症候群、皮膚粘膜リンパ節症候群、閉塞性血栓性血管炎、過敏性血管炎、シェーンライン紫斑病（Ｓｃｈｏｅｎｌｅｉｎ－Ｈｅｎｏｃｈ　ｐｕｒｐｕｒａ）、アレルギー性皮膚血管炎およびヴェーゲナー肉芽腫症が挙げられる。

【０４２２】

一つの実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、血栓性微小血管症を処置するために使用される。このような障害の一つは、血栓性血小板減少性紫斑病（ＴＴＰ）である（Ｋｗａａｎ，Ｈ．Ｃ．、Ｓｅｍｉｎ．Ｈｅｍａｔｏｌ．２４：７１（１９８７）；Ｔｈｏｍｐｓｏｎら、Ｂｌｏｏｄ　８０：１８９０（１９９２））。漸増ＴＴＰ関連死亡率が、米国疾病管理センターによって報告されている（Ｔｏｒｏｋら、Ａｍ．Ｊ．Ｈｅｍａｔｏｌ．５０：８４（１９９５））。ＴＴＰで冒された患者（ＨＩＶ＋およびＨＩＶ－患者を含む）由来の血漿は、皮膚の微小血管起源のヒト内皮細胞のアポトーシスを誘導するが、大血管起源のヒト内皮細胞のアポトーシスは誘導しない（Ｌａｕｒｅｎｃｅら、Ｂｌｏｏｄ　８７：３２４５（１９９６））。従って、ＴＴＰ患者の血漿は、直接的または間接的にアポトーシスを誘導する１つ以上の因子を含むと考えられる。国際特許出願番号ＷＯ９７／０１７１５（本明細書により参考として援用される）に記載されるように、ＴＲＡＩＬは、ＴＴＰ患者の血清に存在し、そして微小血管内皮細胞のアポトーシスを誘導する役割を果たすようである。別の血栓微小血管症は、溶血性尿毒症症候群（ＨＵＳ）である（Ｍｏａｋｅ，Ｊ．Ｌ．、Ｌａｎｃｅｔ、３４３：３９３、（１９９４）；Ｍｅｌｎｙｋら、（Ａｒｃｈ．Ｉｎｔｅｒｎ．Ｍｅｄ．、１５５：２０７７（１９９５）；Ｔｈｏｍｐｓｏｎら、前出）。従って、一つの実施形態において、本発明は、しばしば、「成人ＨＵＳ」（子供も同様に襲われ得るが）といわれる状態を処置するための本発明の抗体および抗体組成物の使用に関する。小児期／下痢に関連するＨＵＳとして公知の障害は、成人ＨＵＳとは病因において異なる。別の実施形態において、小血管の凝固によって特徴付けられる状態は、本発明の抗体および抗体組成物を使用して処置され得る。このような

状態としては、本明細書中に記載される状態が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、約５～１０％の小児ＡＩＤＳ患者において見られる心臓の問題は、小血管の凝固が関与すると考えられる。心臓における微小血管の崩壊が、複数の硬化症患者において報告されている。さらなる例としては、全身性紅斑性狼瘡（ＳＬＥ）の処置が意図される。一つの実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物（好ましくは、本発明のアンタゴニスト性抗ＴＲ４抗体）は、血栓性微小血管症に冒された患者にインビボで投与され得る。従って、本発明は、有効量の本発明の抗体または抗体組成物の使用を含む、血栓性微小血管症を処置するための方法を提供する。

【０４２３】

本発明の抗体および抗体組成物は、特定の障害を処置する際に有用な他の薬剤と組み合わせて使用され得る。例えば、Ｌａｕｒｅｎｃｅら（Ｂｌｏｏｄ　８７：３２４５、１９９６）によって報告されたインビトロ研究において、微小血管内皮細胞のＴＴＰ血漿媒介アポトーシスのいくぶんかの減少が、抗Ｆａｓブロッキング抗体、オーリントリカルボン酸、または凍結沈降物を枯渇した正常血漿を使用することによって達成された。従って、患者は、内皮細胞のＦａｓリガンド媒介アポトーシスを阻害する薬剤（例えば、上記に記載した薬剤など）と組み合わせて本発明の抗体または抗体組成物を用いて処置され得る。１つの実施形態において、本発明の抗体および抗ＦＡＳブロッキング抗体物は、ＴＴＰまたはＨＵＳのような血栓性細小血管症によって特徴付けられる障害に罹患した患者に両方投与される。Ｆａｓ抗原（ＣＤ９５）を指向するブロッキングモノクローナル抗体の例は、本明細書中で参考として援用される、国際出願公開番号ＷＯ９５／１０５４０において記載される。

【０４２４】

内因性刺激因子と新脈管形成のインヒビターとの間の天然に存在するバランスは、阻害的な影響が優勢なバランスである（Ｒａｓｔｉｎｅｊａｄら、Ｃｅｌｌ　５６：３４５－３５５（１９８９））。新生血管形成が通常の生理学的条件下（例えば、創傷治癒、組織再生、胚発生、および女性の生殖プロセス）で起こるまれな例において、新脈管形成は、厳密に調節され、そして空間的かつ時間的に限定される。固形腫瘍増殖を特徴付けるような病理学的な新脈管形成の条件下で、これらの調節制御は失敗する。調節されない新脈管形成は、病理学的になり、そして多くの腫瘍性疾患および非腫瘍性疾患の進行を持続する。多くの重篤な疾患は、異常な新生血管形成（固形腫瘍増殖および転移、関節炎、いくつかの型の眼の障害、および乾癬を含む）によって支配される。例えば、Ｍｏｓｅｓら、Ｂｉｏｔｅｃｈ．９：７１０－７１４（１９９１）による概説；Ｆｏｌｋｍａｎら、Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３５３：１７５７－１７７１（１９９５）；Ａｕｅｒｂａｃｈら、Ｊ．Ｍｉｃｒｏｖａｓｃ．Ｒｅｓ．２９：４０１－４１１（１９８５）；Ｆｏｌｋｍａｎ、Ａｄｖａｎｃｅｓ　ｉｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ、ＫｌｅｉｎおよびＷｅｉｎｈｏｕｓｅ編、Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、１７５－２０３頁（１９８５）；Ｐａｔｚ、Ａｍ．Ｊ．Ｏｐｔｈａｌｍｏｌ．９４：７１５－７４３（１９８２）；およびＦｏｌｋｍａｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２２１：７１９－７２５（１９８３）を参照のこと。多くの病理学的な状態において、新脈管形成のプロセスは、疾患状態に寄与する。例えば、固形腫瘍の増殖が新脈管形成に依存していることを示唆する有意なデータが蓄積されている。ＦｏｌｋｍａｎおよびＫｌａｇｓｂｒｕｎ、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２３５：４４２－４４７（１９８７）。

【０４２５】

本発明は、本発明の抗体または抗体組成物の投与による新生血管形成に関連する疾患または障害の処置を提供する。本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドを用いて処置され得る悪性および転移性の状態には、本明細書中に記載され、そしてさもなくば当該分野で公知の悪性疾患、固形腫瘍、および癌が含まれるがこれらに限定されない（このような障害の概説としては、Ｆｉｓｈｍａｎら、Ｍｅｄｉｃｉｎｅ、第２版、Ｊ．Ｂ．Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ　Ｃｏ．、Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ（１９８５）を参照のこと）。

【０４２６】

さらに、本発明の抗体または抗体組成物で処置され得る、新生血管形成と関連した眼の障害には、血管新生緑内障、糖尿病性網膜症、網膜芽細胞腫、水晶体後線維増殖症、ブドウ膜炎、未熟児黄斑変性の網膜症、角膜移植新生血管形成、ならびに他の眼の炎症性疾患、眼の腫瘍、および脈絡膜または虹彩の新生血管形成に関連する疾患が含まれるがこれらに限定されない。例えば、Ｗａｌｔｍａｎら、Ａｍ．Ｊ．Ｏｐｈｔｈａｌ．８５：７０４－７１０（１９７８）およびＧａｒｔｎｅｒら、Ｓｕｒｖ．Ｏｐｈｔｈａｌ．２２：２９１－３１２（１９７８）による概説を参照のこと。

【０４２７】

さらに、本発明の抗体または抗体組成物を用いて処置され得る障害には、血管腫、関節炎、乾癬、血管線維腫、アテローム硬化性斑、創傷治癒の遅延、顆粒化、血友病性関節、過形成性瘢痕、偽関節破損、オースラーウェーバー症候群、化膿性肉芽腫、強皮症、トラコーマ、および脈管接着が含まれるがこれらに限定されない。

【０４２８】

本発明の抗体または抗体組成物は、広範な疾患および／または状態の診断および処置または予防において有用である。このような疾患および状態には、以下が挙げられるがこれらに限定されない：癌（例えば、免疫細胞関連癌、乳癌、前立腺癌、卵巣癌、濾胞性リンパ腫、ｐ５３の変異または変化と関連した癌、脳腫瘍、膀胱癌、子宮頸部癌、結腸癌、結腸直腸癌、肺の非小細胞癌、肺の小細胞癌、胃癌など）、リンパ増殖性障害（例えば、リンパ節症）、微生物（例えば、ウイルス、細菌など）感染（例えば、ＨＩＶ－１感染、ＨＩＶ－２感染、ヘルペスウイルス感染（ＨＳＶ－１、ＨＳＶ－２、ＣＭＶ、ＶＺＶ、ＨＨＶ－６、ＨＨＶ－７、ＥＢＶを含むがこれらに限定されない）、アデノウイルス感染、ポックスウイルス感染、ヒトパピローマウイルス感染、肝炎感染（例えば、ＨＡＶ、ＨＢＶ、ＨＣＶなど）、Ｈｅｌｉｃｏｂａｃｔｅｒ　ｐｙｌｏｒｉ感染、侵襲性Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｉａなど）、寄生生物感染、腎炎、骨疾患（例えば、骨粗しょう症）、アテローム性動脈硬化症、疼痛、心臓血管障害（例えば、新生血管形成、低血管形成または循環の減少（例えば、虚血性疾患（例えば、心筋梗塞、発作など））））、ＡＩＤＳ、アレルギー、炎症、神経変性性疾患（例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、色素性網膜症、小脳変性など）、移植拒絶（急性および慢性）、対宿主性移植片病、骨髄形成異常症に起因する疾患（例えば、再生不良性貧血など）、リウマチにおける関節組織破壊、肝臓疾患（例えば、急性および慢性肝炎、肝臓損傷、および肝硬変）、自己免疫疾患（例えば、多発性硬化症、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、自己免疫リンパ増殖性症抗群（ＡＬＰＳ）、免疫複合体性糸球体腎炎、自己免疫性糖尿病、自己免疫性血小板減少性紫斑病、グレーヴズ病、橋本甲状腺炎など）、心筋症（例えば、拡張型心筋症）、糖尿病、糖尿病性合併症（例えば、糖尿病性腎症、糖尿病性ニューロパシー、糖尿病性網膜症）、インフルエンザ、ぜん息、乾癬、糸球体腎炎、敗血症性ショック、および潰瘍性大腸炎。

【０４２９】

本発明の抗体および抗体組成物は、新脈管形成の促進、創傷治癒（例えば、創傷、熱傷、および骨折）において有用である。

【０４３０】

本発明の抗体および抗体組成物はまた、抗ウイルス免疫応答のような特定の抗原に対する免疫応答性を増強するためのアジュバントとして有用である。

【０４３１】

より一般的には、本発明の抗体および抗体組成物は、免疫応答を調節する（すなわち、上昇または減少させる）際に有用である。例えば、本発明の抗体および抗体組成物は、手術、外傷、放射線治療、化学療法、および移植からの準備または回復において有用であり得、また、高齢のおよび免疫無防備状態の個体において免疫応答および／または回復をブーストするために使用され有る。あるいは、本発明の抗体および抗体組成物は、例えば、自己免疫障害の処置または予防おける免疫抑制剤として有用である。特定の実施形態において、本発明の抗体または抗体組成物は、慢性的炎症、アレルギーまたは自己免疫状態（

例えば、本明細書中に記載されるか、またはさもなくば当該分野で公知の状態）を処置または予防するために使用される。

【０４３２】

（治療的／予防的な組成物および投与）

本発明は、被験体への有効量の本発明の抗体（またはそのフラグメントまたは改変体）または薬学的組成物、好ましくは本発明の抗体の投与による処置、阻害および予防の方法を提供する。好ましい局面において、抗体またはそのフラグメントもしくは改変体は実質的に精製されている（すなわち、その効果を制限するかまたは望ましくない副作用を生じる物質は実質的にない）。被験体は好ましくは、ウシ、ブタ、ウマ、ニワトリ、ネコ、イヌなどの動物が挙げられるがそれらに限定されない動物であり、そして好ましくは哺乳動物であり、そして最も好ましくはヒトである。

【０４３３】

化合物が核酸または免疫グロブリンを含む場合に使用され得る処方および投与方法は、上記に記載され；さらなる適切な処方および投与経路は、本明細書中で以下に記載されたものの中から選択され得る。

【０４３４】

様々な送達系が公知であり、そして本発明の抗体またはそのフラグメントもしくは改変体を投与するために用いられ得る（例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセル、この抗体または抗体フラグメントの発現が可能な組換え細胞中でのカプセル化、レセプター媒介エンドサイトーシス（例えば、ＷｕおよびＷｕ，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６２：４４２９－４４３２（１９８７）を参照のこと）、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築など）。導入方法としては、皮内、筋内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、および経口経路が挙げられるがそれらに限定されない。組成物は、任意の好都合な経路により（例えば、注入またはボーラス注射により、上皮または粘膜内層（例えば、口腔粘膜、直腸粘膜および腸粘膜など）を通しての吸収により）投与され得、そして他の生物学的に活性な薬剤と一緒に投与され得る。投与は、全身的または局所的であり得る。さらに、本発明の薬学的組成物を、任意の適切な経路（脳室内注射および髄腔内注射を包含し；脳室内注射は、例えば、Ｏｍｍａｙａレザバのようなレザバに取り付けられた脳室内カテーテルにより容易にされ得る）により中枢神経系に導入することが望まれ得る。例えば、吸入器または噴霧器の使用、およびエアゾール化剤を用いた処方により、肺投与もまた使用され得る。

【０４３５】

特定の実施形態において、本発明の薬学的組成物を、処置の必要な領域に局所的に投与することが望まれ得る；これは、制限する目的ではないが、例えば、手術中の局部注入、局所適用（例えば、手術後の創傷包帯との組み合わせて）により、注射により、カテーテルにより、坐剤により、またはインプラント（このインプラントは、シアラスティック（ｓｉａｌａｓｔｉｃ）膜のような膜または繊維を含む、多孔性、非多孔性、または膠様材料である）により達成され得る。好ましくは、抗体を含む本発明のタンパク質を投与する際、タンパク質が吸収されない材料を使用するために注意が払われなければならない。

【０４３６】

別の実施形態において、組成物は、小胞、特に、リポソーム中へ送達され得る（Ｌａｎｇｅｒ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：１５２７－１５３３（１９９０）；Ｔｒｅａｔら，Ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ ｉｎ ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ｏｆ Ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ Ｄｉｓｅａｓｅ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ，Ｌｏｐｅｚ－ＢｅｒｅｓｔｅｉｎおよびＦｉｄｌｅｒ（編），Ｌｉｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，３５３～３６５頁（１９８９）；Ｌｏｐｅｚ－Ｂｅｒｅｓｔｅｉｎ，同書３１７～３２７頁を参照のこと；広く同書を参照のこと）。

【０４３７】

さらに別の実施形態において、組成物は、制御された放出系中で送達され得る。１つの実施形態において、ポンプが用いられ得る（Ｌａｎｇｅｒ，（前出）；Ｓｅｆｔｏｎ，ＣＲＣ Ｃｒｉｔ．Ｒｅｆ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｅｎｇ．１４：２０１（１９８７）；Ｂｕｃｈ

ｗａｌｄら，Ｓｕｒｇｅｒｙ ８８：５０７（１９８０）；Ｓａｕｄｅｋら，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３２１：５７４（１９８９）を参照のこと）。別の実施形態において、高分子材料が用いられ得る（Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，ＬａｎｇｅｒおよびＷｉｓｅ（編），ＣＲＣ Ｐｒｅｓ．，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，Ｆｌｏｒｉｄａ（１９７４）；Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｂｉｏａｖａｉｌａｂｉｌｉｔｙ，Ｄｒｕｇ Ｐｒｏｄｕｃｔ Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ，ＳｍｏｌｅｎおよびＢａｌｌ（編），Ｗｉｌｅｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４）；ＲａｎｇｅｒおよびＰｅｐｐａｓ，Ｊ．Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｓｃｉ．Ｒｅｖ．Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｃｈｅｍ．２３：７１（１９８３）を参照のこと；Ｌｅｖｙら，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２８：１９０（１９８５）；Ｄｕｒｉｎｇら，Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．２５：３５１（１９８９）；Ｈｏｗａｒｄら，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．７１：１０５（１９８９）もまた参照のこと）。さらに別の実施形態において、制御された放出系は、治療標的、即ち、脳の近くに置かれ得、従って、全身用量の一部のみを必要とする（例えば、Ｇｏｏｄｓｏｎ，Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，（前出），第２巻，１１５～１３８頁（１９８４）を参照のこと）。

【０４３８】

他の制御された放出系は、Ｌａｎｇｅｒ（Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：１５２７－１５３５（１９９０））による総説において議論される。

【０４３９】

本発明の組成物がタンパク質をコードする核酸である、特定の実施形態において、その核酸は、それを適切な核酸発現ベクターの一部として構成し、そしてそれが細胞内になるように投与することにより（例えば、レトロウイルスベクターの使用により（米国特許第４，９８０，２８６号を参照のこと）、または直接注射により、または微粒子ボンバードメント（例えば、遺伝子銃；Ｂｉｏｌｉｓｔｉｃ，Ｄｕｐｏｎｔ）の使用により、または脂質もしくは細胞表面レセプターもしくはトランスフェクト剤でコーティングすることにより、または核に入ることが公知であるホメオボックス様ペプチドと結合させて投与すること（例えば、Ｊｏｌｉｏｔら，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８８：１８６４－１８６８（１９９１）を参照のこと）などにより、そのコードされたタンパク質の発現を促進するようにインビボで投与され得る。あるいは、核酸は、細胞内に導入され得、そして、発現のために相同組換えにより宿主細胞ＤＮＡ内に組み込まれ得る。

【０４４０】

本発明はまた、薬学的組成物を提供する。このような組成物は、治療有効量の抗体またはそのフラグメント、および薬学的に受容可能なキャリアを含む。具体的な実施形態において、用語「薬学的に受容可能な」とは、動物における、そしてさらに特にヒトにおける使用のために、連邦規制当局もしくは米国政府により認められたか、または米国薬局方もしくは他の一般に認められた薬局方に列挙されたことを意味する。用語「キャリア」とは、治療剤とともに投与される、希釈剤、アジュバンド、賦形剤、またはビヒクルをいう。このような薬学的なキャリアは、水および油（石油起源、動物起源、植物起源、または合成起源の油（例えば、ピーナッツ油、大豆油、鉱油、ゴマ油など）を含む）のような滅菌した液体であり得る。水は、薬学的組成物が静脈内に投与される場合に、好ましいキャリアである。生理食塩水溶液、ならびにデキストロースおよびグリセロールの水溶液はまた、特に注射可能な溶液のために、液体キャリアとして使用され得る。適切な薬学的賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、イネ、フラワー、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、滑石、塩化ナトリウム、脱脂粉乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが挙げられる。組成物はまた、所望されるならば、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはｐＨ緩衝剤を含み得る。これらの組成物は、液剤、懸濁剤、乳剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、持続放出処方物などの形態を取り得る。この組成物は、従来の結合剤およびトリグリセリドのようなキャリアとともに、坐剤として処方され得る。経口処

方物は、薬学的等級のマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどのような標準キャリアを含み得る。適切な薬学的キャリアの例は、Ｅ．Ｗ．Ｍａｒｔｉｎによる「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ」に記載される。このような組成物は、治療有効量の抗体またはそのフラグメントを、好ましくは精製された形態で、適切な量のキャリアとともに含んで、患者への適切な投与のための形態を提供する。処方物は、投与形態に適するべきである。

【０４４１】

好ましい実施形態において、組成物は、慣用手順に従って、ヒトへの静脈内投与のために採用された薬学的組成物として、処方される。代表的には、静脈内投与のための組成物は、滅菌等張水性緩衝液の溶液である。必要な場合、組成物はまた、可溶化剤および注射の部位での痛みを緩和するリグノカインのような局部麻酔を含み得る。一般的には、成分は、別々にかまたは単一投薬形態で一緒に混合してのどちらかで、例えば、一定量の活性薬剤を示すアンプルまたは小袋（ｓａｃｈｅｔｔｅ）のような密封された容器中の凍結乾燥粉末または水を含まない濃縮物として供給される。組成物が注入により投与されるべき場合には、組成物は、滅菌した薬学的等級の水または生理食塩水を含む注入ボトルに分配され得る。組成物が注射により投与される場合、成分が投与の前に混合され得るように、注射用滅菌水または生理食塩水のアンプルが提供され得る。

【０４４２】

本発明の化合物は、中性のまたは塩の形態として処方され得る。薬学的に受容可能な塩としては、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などに由来するもののようなアニオンとともに形成される塩、およびナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第２鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、２－エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来するもののようなカチオンとともに形成される塩が挙げられる。

【０４４３】

この処置（本発明のポリペプチドの異常な発現および／または活性と関連する疾患または障害の抑制および予防）において効果的である本発明の化合物の量は、標準的な臨床技術により決定され得る。さらに、インビトロアッセイを必要に応じて使用して、最適な投薬量の範囲を同定するのを助け得る。処方において使用されるべき正確な用量はまた、投与の経路、および疾患または障害の重篤さに依存し、そして開業医の判断および各患者の状況に従って決定されるべきである。有効用量は、インビトロまたは動物モデル試験系から得られた用量反応曲線から外挿され得る。

【０４４４】

抗体に関して、患者に投与される投薬量は、代表的に、患者の体重１ｋｇあたり０．１ｍｇ～１００ｍｇである。好ましくは、患者に投与される投薬量は、患者の体重１ｋｇあたり０．１ｍｇと２０ｍｇとの間であり、より好ましくは、患者の体重１ｋｇあたり１ｍｇ～１０ｍｇである。一般に、ヒト抗体は、外来ポリペプチドへの免疫応答に起因して、他種由来の抗体よりもヒト体内で長い半減期を有する。従って、ヒト抗体の低い投薬量および頻度の低い投与は、しばしば可能である。さらに、本発明の治療的組成物または予防的組成物の投与の投薬量および頻度は、改変（例えば、脂溶化（ｌｉｐｉｄａｔｉｏｎ）のような）による抗体の取り込みおよび組織浸透（例えば、脳への）を増強することにより減少され得る。

【０４４５】

一般的に、（抗体の場合には）患者の種と同じ種である種起源または種反応性の生成物の投与が好ましい。従って、好ましい実施形態においては、ヒトの抗体、フラグメントまたは改変体（例えば、誘導体）または核酸が、治療または予防のために、ヒトの患者に投与される。

【０４４６】

ＴＲ４ポリヌクレオチドまたはＴＲ４ポリペプチド（そのフラグメントを含む）に関す

るイムノアッセイ、およびそれらに関連した障害の治療の両方のために、高親和性および／または強力な、ＴＲ４に免疫特異的に結合する本発明のインビボの阻害抗体および／または中和抗体、そのフラグメント、またはその領域を使用することが好ましい。このような抗体、フラグメント、または領域は、好ましくは、ＴＲ４ポリヌクレオチドまたはＴＲ４ポリペプチド（そのフラグメントを含む）に対して親和性を有する。好ましい結合親和性としては、５×１０$^{-2}$Ｍ、１０$^{-2}$Ｍ、５×１０$^{-3}$Ｍ、１０$^{-3}$Ｍ、５×１０$^{-4}$Ｍ、１０$^{-4}$Ｍ、５×１０$^{-5}$Ｍ、１０$^{-5}$Ｍ以下の解離定数（すなわち、K_D）の結合親和性挙げられる。より好ましくは、本発明の抗体は、５×１０$^{-6}$Ｍ、１０$^{-6}$Ｍ、５×１０$^{-7}$Ｍ、１０$^{-7}$Ｍ、５×１０$^{-8}$Ｍ、１０$^{-8}$Ｍ以下の解離定数（すなわち、K_D）の結合親和性挙げられる。さらにより好ましくは、５×１０$^{-9}$Ｍ、１０$^{-9}$Ｍ、５×１０$^{-10}$Ｍ、１０$^{-10}$Ｍ、５×１０$^{-11}$Ｍ、１０$^{-11}$Ｍ、５×１０$^{-12}$Ｍ、１０$^{-12}$Ｍ、５×$^{-13}$Ｍ、１０$^{-13}$Ｍ、５×１０$^{-14}$Ｍ、１０$^{-14}$Ｍ、５×１０$^{-15}$Ｍ、および１０$^{-15}$Ｍより小さい解離定数（すなわちK_D）を有する結合親和性が挙げられる。好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＴＲ４発現細胞のアポトーシスを誘導する。

【０４４７】

以下にさらに詳細に議論されるように、本発明の抗体は、単独または他の化合物との組み合わせのいずれかで使用され得る。この抗体はさらに、ポリペプチドまたは他の化合物へＮ末端でもしくはＣ末端で異種ポリペプチドに組換え的に融合され得るか、または化学的に結合（共有結合および非共有結合を含む）され得る。例えば、本発明の抗体は、検出アッセイにおける標識として有用な分子および異種ポリペプチド、薬剤、放射性核種、または毒素のようなエフェクター分子へ組換え的に融合または結合され得る。例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ９２／０８４９５；ＷＯ９１／１４４３８；ＷＯ８９／１２６２４；米国特許第５，３１４，９９５号；および欧州特許第３９６，３８７号を参照のこと。

【０４４８】

本発明の抗体および抗体組成物は、単独または他の治療剤と組合せて投与され得、これらとしては、化学療法剤、抗生物質、抗ウイルス薬剤、抗レトロウイルス薬剤、ステロイド系抗炎症剤および非ステロイド系抗炎症剤、従来の免疫治療剤およびサイトカインが挙げられるが、これらに限定されない。付随して（例えば、混合剤として）、別々であるが同時もしくは並行して；または経時的にのいずれかで組み合わせ剤を投与し得る。これは、組み合わせ剤を治療混合剤として共に投与する提示、およびまた組み合わせ剤を別々であるが、同時に（例えば、別々の静脈内ラインを個々の同じ静脈ラインへ通すように）投与する手順を含む。さらに、「組み合わせの」投与は、化合物の１つの別々の投与または、所与の第１の、続いて第２の薬剤の投与を含む。

【０４４９】

（抗ＴＲ４抗体、ＴＲＡＩＬおよび／または化学療法剤を用いる併用療法）

抗ＴＲ４抗体は、他の抗ＴＲ４抗体、ＴＲＡＩＬおよび／または化学療法剤と併用して投与され得る。

【０４５０】

特定の実施形態において、ＴＲ４に特異的に結合する本発明の抗体は、ＴＲ７に結合する二次抗体と併用して使用または投与される。別の実施形態において、ＴＲ４およびＴＲ７に対する抗体は、ＴＲ４発現細胞（例えば、ＴＲ４およびＴＲ７を発現する細胞）のアポトーシスを誘導するアゴニスト抗体である。特定の実施形態において、抗ＴＲ４処置および抗ＴＲ７処置の併用は、抗ＴＲ４抗体処置単独または抗ＴＲ７抗体単独のいずれかよりも、ＴＲ４発現細胞またはＴＲ７発現細胞のアポトーシスを誘導する。抗ＴＲ４抗体および抗ＴＲ７抗体は、投薬レジメンを通じて、同時もしくは連続してかのいずれかで投与され得るか、または同時投与もしくは連続投与を併用して投与され得る。別の特定の実施形態において、抗ＴＲ４抗体および抗ＴＲ７抗体は、本明細書において記載されるように化学療法剤と併用して使用または投与される（例えば、以下および実施例４を参照のこと）。特定の実施形態において、抗ＴＲ４抗体処置および抗ＴＲ７抗体処置から生じるアポ

トーシスの相乗的誘導は、抗ＴＲ４抗体または抗ＴＲ７抗体が、化学療法剤および／または架橋試薬と併用して使用または投与される場合、より明らかかつより顕著である。

【０４５１】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は、化学療法剤と組み合わせて投与される。本発明の治療剤とともに投与され得る化学療法剤としては、抗生物質誘導体（例えば、ドキソルビシン（アドレアマイシン）、ブレオマイシン、ダウノルビシン、およびダクチノマイシン）；抗エストロゲン（例えば、タモキシフェン）；抗代謝物（例えば、フルオロウラシル、５－ＦＵ、メトトレキサート、フロクスウリジン、インターフェロンα－２ｂ、グルタミン酸、プリカマイシン（ｐｌｉｃａｍｙｃｉｎ）、メルカプトプリン、および６－チオグアニン）；細胞傷害剤（例えば、カルムスチン、ＢＣＮＵ、ロムスチン、ＣＣＮＵ、シトシンアラビノシド、シクロホスファミド、エストラムスチン、ヒドロキシウレア、プロカルバジン、マイトマイシン、ブスルファン、シス－プラチン、および硫酸ビンクリスチン）；ホルモン（例えば、メドロキシプロゲステロン、エストラムスチンリン酸ナトリウム、エチニルエストラジオール、エストラジオール、酢酸メゲストロール、メチルテストステロン、ジエチルスチルベストロールジホスフェート、クロロトリアニセン、およびテストラクトン）；ナイトロジェンマスタード誘導体（例えば、メファレン（ｍｅｐｈａｌｅｎ）、クロランブシル（ｃｈｌｏｒａｍｂｕｃｉｌ）、メクロレタミン（ナイトロジェンマスタード）およびチオテパ）；ステロイド類および組み合わせ（例えば、ベタメタゾンリン酸ナトリウム）；ならびにその他（例えば、ジカルバジン（ｄｉｃａｒｂａｚｉｎｅ）、アスパラギナーゼ、ミトーテン、硫酸ビンクリスチン、硫酸ビンブラスチン、エトポシド、トポテカン、５－フルオロウラシル、パクリタキセル（Ｔａｘｏｌ）、シスプラチン、シタラビンおよびＩＮＦ－γ、イリノテカン（ｉｒｉｎｏｔｅｃａｎ）（Ｃａｍｐｔｏｓａｒ、ＣＰＴ－１１）、イリノテカンアナログ、およびゲムシタビン（ＧＥＭＺＡＲ^{TM}））が挙げられるが、これらに限定されない。

【０４５２】

特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＣＨＯＰ（シクロフォスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、およびプレドニゾン）と組み合わせて投与されるか、またはＣＨＯＰの成分の任意の組み合わせで投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、Ｒｉｔｕｘｉｍａｂと組み合わせて投与される。さらなる実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＲｉｔｕｘｍａｂおよびＣＨＯＰと共に、またはＲｉｔｕｘｍａｂおよびＣＨＯＰの成分の任意の組み合わせと共に投与される。

【０４５３】

さらに好ましい実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＴＲＡＩＬポリペプチドまたはそのフラグメントもしくは改変体（特に、ＴＲＡＩＬの細胞外可溶性ドメイン）と併用して投与される。

【０４５４】

１つの実施形態において、本発明の組成物は、ＴＮＦファミリーの他のメンバーまたはＴＮＦレセプターファミリーの他のメンバーに特異的な抗体と組み合わせて投与される。本発明の組成物とともに投与され得るＴＮＦ分子、ＴＮＦ関連分子、またはＴＮＦ様分子としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：可溶性形態のＴＮＦ－α、リンホトキシン－α、（ＬＴ－α、ＴＮＦ－βとしても公知）、ＬＴ－β（複合ヘテロトリマーＬＴ－α２－βの状態で見出された）、ＯＰＧＬ、ＦａｓＬ、ＣＤ２７Ｌ、ＣＤ３０Ｌ、ＣＤ４０Ｌ、４－１ＢＢＬ、ＤｃＲ３、ＯＸ４０Ｌ、ＴＮＦ－γ（国際公開番号ＷＯ９６／１４３２８）、ＴＲＡＩＬ、ＡＩＭ－ＩＩ（国際公開番号ＷＯ９７／３４９１１）、ＡＰＲＩＬ（Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８８（６）：１１８５－１１９０）、エンドカイン（ｅｎｄｏｋｉｎｅ）－α（国際公開番号ＷＯ９８／０７８８０）、ＴＲ６（国際公開番号ＷＯ９８／３０６９４）、ＯＰＧ、およびニュートロカイン（ｎｅｕｔｒｏｋｉｎｅ）－α（国際公開番号ＷＯ９８／１８９２１）、ＯＸ４０、および神経成長因子（ＮＧＦ）、ならびに可溶性形態のＦａｓ、可溶性形態のＣＤ３０、可溶性形態のＣＤ２７、可溶性形態のＣＤ４０および可溶性形態の４－ＩＢＢ、ＴＲ２（国際公開番号ＷＯ９６／３４０

９５）、ＤＲ３（国際公開番号ＷＯ９７／３５９０４）、ＴＲ４（国際公開番号ＷＯ９８／３２８５６）、ＴＲ５（国際公開番号ＷＯ９８／３０６９３）、ＴＲ６（国際公開番号ＷＯ９８／３０６９４）、ＴＲ７（国際公開番号ＷＯ９８／４１６２９）、ＴＲＡＮＫ、ＴＲ９（国際公開番号ＷＯ９８／５６８９２）、ＴＲ１０（国際公開番号ＷＯ９８／５４２０２）、３１２Ｃ２（国際公開番号ＷＯ９８／０６８４２）、およびＴＲ１２、ならびに可溶性形態のＣＤ１５４、可溶性形態のＣＤ７０、および可溶性形態のＣＤ１５３。

【０４５５】

（さらなる抗体併用治療）

より好ましい実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、抗マラリア剤、メトトレキサート、抗ＴＮＦ抗体、ＥＮＢＲＥＬ^{TM}および／またはスルファサラジンと組み合わせて投与される。１つの実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、メトトレキセートと併用して投与される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、抗ＴＮＦ抗体と併用して投与される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、メトトレキサートおよび抗ＴＮＦ抗体と併用して投与される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、スルファサラジンと併用して投与される。別の特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、メトトレキサート、抗ＴＮＦ抗体およびスルファサラジンと併用して投与される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＥＮＢＲＥＬ^{TM}と組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＥＮＢＲＥＬ^{TM}およびメトトレキサートと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＥＮＢＲＥＬ^{TM}、メトトレキサートおよびスルファサラジンと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＥＮＢＲＥＬ^{TM}、メトトレキサートおよびスルファサラジンと組み合わせて投与される。別の実施形態において、本発明の組成物は、ＥＮＢＲＥＬ^{TM}、メトトレキサートおよびスルファサラジンと組み合わせて投与される。他の実施形態において、１つ以上の抗マラリア剤は、上記の組み合わせのうちの１つと組み合わせる。特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、抗マラリア剤（例えば、ヒドロキシクロロキン）、ＥＮＢＲＥＬ^{TM}、メトトレキサートおよびスルファサラジンと組み合わせて投与される。別の特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、抗マラリア剤（例えば、ヒドロキシクロロキン）、スルファサラジン、抗ＴＮＦ抗体、およびメトトレキサートと組み合わせて投与される。

【０４５６】

本発明の抗体（抗体フラグメントまたはその改変体を含むかあるいはこれらからなる分子を含む）は、単独あるいは他の治療レジメンまたは予防レジメン（例えば、放射線療法、化学療法、ホルモン療法、免疫療法、抗腫瘍剤、抗脈管形成剤および抗炎症剤）と併用して投与され得る。このような併用療法は、連続的および／または同時に投与され得る。

【０４５７】

本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得る従来の非特異的免疫抑制剤としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ステロイド、シクロスポリン、シクロスポリン、シクロスポリンアナログのシクロホスファミド、シクロホスファミドＩＶ、メチルプレドニソロン、プレドニソロン、アザチオプリン、ＦＫ－５０６、１５－デオキシスペルグアリン（１５－ｄｅｏｘｙｓｐｅｒｇｕａｌｉｎ）および応答Ｔ細胞の機能を抑制することによって作用する免疫抑制剤。

【０４５８】

特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、免疫抑制剤と併用して投与される。本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得る免疫抑制剤調製物としては、ＯＲＴＨＯＣＬＯＮＥ^{TM}（ＯＫＴ３）、ＳＡＮＤＩＭＭＵＮＥ^{TM}／ＮＥＯＲＡＬ^{TM}／ＳＡＮＧＤＹＡ^{TM}（シクロスポリン）、ＰＲＯＧＲＡＦ^{TM}（タクロリムス（ｔａｃｒｏｌｉｍｕｓ）、ＣＥＬＬＣＥＰＴ^{TM}（ミコフェノレート（ｍｙｃｏｐｈｅｎｏｌａｔｅ））、アザチオプリン、グルコルチコステロイド（ｇｌｕｃｏｒｔｉｃｏｓｔ

ｅｒｏｉｄ）およびＲＡＰＡＭＵＮＥ^{TM}（サイロリムス（ｓｉｒｏｌｉｍｕｓ））が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、免疫抑制剤は、器官移植または骨髄移植の拒絶を予防するために使用され得る。

【０４５９】

好ましい実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ステロイド治療と併用して投与される。本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得るステロイドとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：経口コルチコステロイド、プレドニゾンおよびメチルプレドニゾン（例えば、ＩＶ　メチルプレドニゾン）。特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、プレドニゾンと併用して投与される。さらに特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、プレドニゾンおよび免疫抑制剤と併用して投与される。本発明の抗体および抗体組成物と共に投与され得る免疫抑制剤が本明細書中に記載され、そしてこれには、アザチオプリン、シクロホスファミドおよびシクロホスファミドＩＶが挙げられるがこれらに限定されない。別の特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、メチルプレドニゾンと併用して投与される。さらに特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、メチルプレドニゾンおよび免疫抑制剤と併用して投与される。本発明の抗体および抗体組成物ならびにプレドニゾンと併用して投与される免疫抑制剤としては、アザチオプリン、シクロホスファミドおよびシクロホスファミドＩＶが挙げられるがこれらに限定されない。別の特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、メチルプレドニゾンと併用して投与される。さらに特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、メチルプレドニゾンおよび免疫抑制剤と併用して投与される。本発明の抗体および抗体組成物ならびにメチルプレドニゾンと併用して投与され得る免疫抑制剤としては、アザチオプリン、シクロホスファミドおよびシクロホスファミドＩＶが挙げられるがこれらに限定されない。

【０４６０】

本発明はまた、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド（および／またはそのアゴニストもしくはアンタゴニスト）を、他の提案されたかまたは従来の造血治療と併用することを包含する。従って、例えば、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド（および／またはそのアゴニストもしくはアンタゴニスト）は、個々に造血刺激効果を示す化合物（例えば、エリスロポエチン、テストステロン、前駆細胞刺激因子、インスリン様増殖因子、プロスタグランジン、セロトニン、サイクリックＡＭＰ、プロラクチンおよびトリヨードチゾニン（ｔｒｉｉｏｄｏｔｈｙｚｏｎｉｎｅ））と併用され得る。本発明の抗体および抗体組成物の一般的に再生不良性貧血（ａｐｌａｓｔｉｃ　ａｎｅｍｉａ）を処置するために使用される化合物（例えば、メテノロン（ｍｅｔｈｅｎｏｌｅｎｅ）、スタノゾロール、およびナンドロロン）；鉄欠乏性貧血を処置するために使用される化合物（例えば、鉄調製物）；悪性貧血を処置するために使用される化合物（例えば、ビタミンB_{12}および／または葉酸）；および溶血性貧血を処置するために使用される化合物（例えば、副腎皮質ステロイド類（例えば、コルチコイド））との組合せもまた含まれる。例えば、Ｒｅｓｅｇｏｔｔｉら，Ｐａｎｍｉｎｅｒｖａ　Ｍｅｄｉｃａ，２３：２４３－２４８（１９８１）；Ｋｕｒｔｚ，ＦＥＢＳ　Ｌｅｔｔｅｒｓ，１４ａ：１０５－１０８（１９８２）；ＭｃＧｏｎｉｇｌｅら，Ｋｉｄｎｅｙ　Ｉｎｔ．，２５：４３７－４４４（１９８４）；およびＰａｖｌｏｖｉｃ－Ｋａｎｔｅｒａ，Ｅｘｐｔ．Ｈｅｍａｔｏｌ．，８（補遺８）２８３－２９１（１９８０）（これらの各々の内容はその全体が本明細書中に参考として援用される）を参照のこと。

【０４６１】

エリトロポエチンの効果を増強するか、またはエリトロポエチンと協同する化合物はまた、本明細書においてアジュバントとして有用であり、これらとしては、アドレナリン作用性アゴニスト、甲状腺ホルモン、アンドロゲン、肝エリトロポエチン因子、エリスロトロピン（ｅｒｙｔｈｒｏｔｒｏｐｉｎ）、およびエリスロゲニン（ｅｒｙｔｈｒｏｇｅｎｉｎ）が挙げられるが、これらに限定されない。Ｄｕｎｎ，「Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｃｏｎｃｅｐｔｓ　ｉｎ　Ｅｒｙｔｈｒｏｐｏｉｅｓｉｓ」、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　ａｎｄ　Ｓ

ｏｎｓ（Ｃｈｉｃｈｅｓｔｅｒ，Ｅｎｇｌａｎｄ，１９８３）；Ｋａｌｍａｎｉ，Ｋｉｄｎｅｙ Ｉｎｔ．，２２：３８３－３９１（１９８２）；Ｓｈａｈｉｄｉ，Ｎｅｗ Ｅｎｇ．Ｊ．Ｍｅｄ．，２８９：７２－８０（１９７３）；Ｕｒａｂｅら，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．，１４９：１３１４－１３２５（１９７９）；Ｂｉｌｌａｔら，Ｅｘｐｔ．Ｈｅｍａｔｏｌ．，１０：１３３－１４０（１９８２）；Ｎａｕｇｈｔｏｎら，Ａｃｔａ Ｈａｅｍａｔ，６９：１７１－１７９（１９８３）；Ｃｏｇｎｏｔｅら、要約、３６４，Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ７ｔｈ Ｉｎｔｌ．Ｃｏｎｇ．ｏｆ Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌｏｇｙ（Ｑｕｅｂｅｃ Ｃｉｔｙ，Ｑｕｅｂｅｃ，Ｊｕｌｙ １－７，１９８４）；およびＲｏｔｈｍａｎら，１９８２，Ｊ．Ｓｕｒｇ．Ｏｎｃｏｌ．，２０：１０５－１０８（１９８２）を参照のこと。造血を刺激するための方法は、造血有効量の（すなわち、血球の形成をもたらす量）の、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチド（および／またはそのアゴニストもしくはアンタゴニスト）を含む薬学的組成物を患者に投与する工程を包含する。本発明のポリヌクレオチドおよび／もしくはポリペプチドならびに／またはそのアゴニストもしくはアンタゴニストは、任意の適切な技術（非経口、舌下、局所的、肺内および鼻腔内を含むがこれらに限定されず、これらの技術は、本明細書中でさらに議論される）により患者に投与される。薬学的組成物は、必要に応じて、エリトロポエチン、テストステロン、前駆細胞刺激物質、インスリン様増殖因子、プロスタグランジン、セロトニン、環状ＡＭＰ、プロラクチン、トリヨードチロニン（ｔｒｉｉｏｄｏｔｈｙｚｏｎｉｎｅ）、メテノロン（ｍｅｔｈｅｎｏｌｅｎｅ）、スタノゾロール、およびナンドロロン、鉄調製物、ビタミンB_{12}、葉酸および／または副腎皮質ステロイドからなる群の１つ以上のメンバーを含む。

【０４６２】

さらなる実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物を造血増殖因子と組み合わせて投与する。本発明の抗体および抗体組成物と共に投与され得る造血増殖因子としては、ＬＥＵＫＩＮＥ^{TM}（ＳＡＲＧＲＡＭＯＳＴＩＭ^{TM}）およびＮＥＵＰＯＧＥＮ^{TM}（ＦＩＬＧＲＡＳＴＩＭ^{TM}）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０４６３】

さらなる実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、単独または抗脈管形成剤と併用して投与される。本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得る抗脈管形成剤としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：Ａｎｇｉｏｓｔａｔｉｎ（Ｅｎｔｒｅｍｅｄ、Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ、ＭＤ）、Ｔｒｏｐｏｎｉｎ－１（Ｂｏｓｔｏｎ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｂｏｓｔｏｎ、ＭＡ）、抗侵襲性因子（ａｎｔｉ－Ｉｎｖａｓｉｖｅ Ｆａｃｔｏｒ）、レチノイン酸およびその誘導体、パクリタキセル（Ｔａｘｏｌ）、Ｓｕｒａｍｉｎ、メタロプロテイナーゼ－１の組織インヒビター、メタロプロテイナーゼ－２の組織インヒビター、ＶＥＧＩ、プラスミノゲンアクチベータインヒビター－１、プラスミノゲンアクチベータインヒビター－２およびおよび種々の形態のより軽い「ｄ族」遷移金属。

【０４６４】

より軽い「ｄ族」遷移金属には、例えばバナジウム、モリブデン、タングステン、チタン、ニオブおよびタンタル種が挙げられる。このような遷移金属種は、遷移金属錯体を形成し得る。上記の遷移金属種の適切な錯体としては、オキソ遷移金属錯体が挙げられる。

【０４６５】

バナジウム錯体の代表的な例としては、バナデート錯体およびバナジル錯体のようなオキソバナジウム錯体が挙げられる。適切なバナデート錯体としては、例えばメタバナジン酸アンモニウム、メタバナジン酸ナトリウムおよびオルトバナジン酸ナトリウムのようなメタバナデート錯体およびオルトバナデート錯体が挙げられる。適切なバナジル錯体としては、例えばバナジルアセチルアセトネートおよび硫酸バナジル（硫酸バナジル一水和物および硫酸バナジル三水和物のような硫酸バナジル水和物を含む）が挙げられる。

【０４６６】

タングステン錯体およびモリブデン錯体の代表的な例としてはまた、オキソ錯体が挙げ

られる。適切なオキソタングステン錯体としては、タングステート錯体およびタングステンオキシド錯体が挙げられる。適切なタングステート錯体としては、タングステン酸アンモニウム、タングステン酸カルシウム、タングステン酸ナトリウム二水和物およびタングステン酸が挙げられる。適切なタングステンオキシドとしては、タングステン（ＩＶ）オキシドおよびタングステン（ＶＩ）オキシドが挙げられる。適切なオキソモリブデン錯体としては、モリブデート、モリブデンオキシドおよびモリブデニル錯体が挙げられる。適切なモリブデート錯体としては、モリブデン酸アンモニウムおよびその水和物、モリブデン酸ナトリウムおよびその水和物、ならびにモリブデン酸カリウムおよびその水和物が挙げられる。適切なモリブデンオキシドとしては、モリブデン（ＶＩ）オキシド、モリブデン（ＶＩ）オキシドおよびモリブデン酸が挙げられる。適切なモリブデニル錯体としては、例えばモリブデニルアセチルアセトネートが挙げられる。他の適切なタングステン錯体およびモリブデン錯体としては、例えばグリセロール、酒石酸および糖から誘導されるヒドロキソ誘導体が挙げられる。

【０４６７】

広範な種々の他の抗脈管形成因子もまた、本発明の文脈において利用され得る。代表的な例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：血小板因子４；硫酸プロタミン；硫酸化キチン誘導体（クイーンクラブ（ｑｕｅｅｎ　ｃｒａｂ）の殻から調製される）（Ｍｕｒａｔａら、Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５１：２２－２６、１９９１）；硫酸化多糖ペプチドグリカン複合体（ＳＰ－ＰＧ）（この化合物の機能は、ステロイド（例えば、エストロゲンおよびクエン酸タモキシフェン）の存在によって増強され得る）；スタウロスポリン；基質代謝の調節因子（例えば、プロリンアナログ、シスヒドロキシプロリン、ｄ，Ｌ－３，４－デヒドロプロリン、チアプロリン、α，α－ジピリジル、アミノプロピオニトリルフマレートを含む）；４－プロピル－５－（４－ピリジニル）－２（３Ｈ）－オキサゾロン；メトトレキサート；ミトザントロン；ヘパリン；インターフェロン；２マクログロブリン－血清；ＣｈＩＭＰ－３（Ｐａｖｌｏｆｆら、Ｊ．Ｂｉｏ．Ｃｈｅｍ．２６７：１７３２１～１７３２６、１９９２）；キモスタチン（Ｔｏｍｋｉｎｓｏｎら、Ｂｉｏｃｈｅｍ　Ｊ．２８６：４７５～４８０、１９９２）；シクロデキストリンテトラデカサルフェート；エポネマイシン；カンプトテシン；フマギリン（Ｉｎｇｂｅｒら、Ｎａｔｕｒｅ　３４８：５５５～５５７、１９９０）；チオリンゴ酸金ナトリウム（「ＧＳＴ」；ＭａｔｓｕｂａｒａおよびＺｉｆｆ、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．７９：１４４０～１４４６、１９８７）；アンチコラゲナーゼ－血清；α２－抗プラスミン（Ｈｏｌｍｅｓら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６２（４）：１６５９～１６６４、１９８７）；ビサントレン（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）；ロベンザリット二ナトリウム（Ｎ－（２）－カルボキシフェニル－４－クロロアントロニル酸（ｃｈｌｏｒｏａｎｔｈｒｏｎｉｌｉｃ　ａｃｉｄ）二ナトリウム、すなわち「ＣＣＡ」；Ｔａｋｅｕｃｈｉら、Ａｇｅｎｔｓ　Ａｃｔｉｏｎｓ　３６：３１２～３１６、１９９２）；サリドマイド；Ａｎｇｏｓｔａｔｉｃステロイド；ＡＧＭ－１４７０；カルボキシアミノイミダゾール（ｃａｒｂｏｘｙｎａｍｉｎｏｌｍｉｄａｚｏｌｅ）；およびメタロプロテイナーゼインヒビター（例えば、ＢＢ９４）。

【０４６８】

本発明の文脈内でもまた利用され得るさらなる抗脈管形成因子としては、以下が挙げられる：サリドマイド（Ｃｅｌｇｅｎ、Ｗａｒｒｅｎ、ＮＪ）；抗脈管形成ステロイド；ＡＧＭ－１４７０（Ｈ．ＢｒｅｍおよびＪ．Ｆｏｌｋｍａｎ　Ｊ　Ｐｅｄｉａｔｒ．Ｓｕｒｇ．２８：４４５－５１（１９９３））；インテグリンαｖβ３アンタゴニスト（Ｃ．Ｓｔｏｒｇａｒｄら、Ｊ　Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．１０３：４７－５４（１９９９））；カルボキシアミノリミダゾール（ｃａｒｂｏｘｙｎａｍｉｎｏｌｍｉｄａｚｏｌｅ）；カルボキシアミドトリアゾール（ＣＡＩ）（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ）；コンブレスタチンＡ－４（ＣＡ４Ｐ）（ＯＸｉＧＥＮＥ、Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ）；スクアラミン（Ｍａｇａｉｎｉｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ、Ｐｌｙｍｏｕｔｈ　Ｍｅｅｔｉｎｇ、ＰＡ）；ＴＮＰ－４７０（Ｔａｐ

Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ、Ｄｅｅｒｆｉｅｌｄ、ＩＬ）；ＺＤ－０１０１ ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ（Ｌｏｎｄｏｎ、ＵＫ）；ＡＰＲＡ（ＣＴ２５８４）；Ｂｅｎｅｆｉｎ、Ｂｙｒｏｓｔａｔｉｎ－１（ＳＣ３５９５５５）；ＣＧＰ－４１２５１（ＰＫＣ ４１２）；ＣＭ１０１；Ｄｅｘｒａｚｏｘａｎｅ（ＩＣＲＦ１８７）；ＤＭＸＡＡ；Ｅｎｄｏｓｔａｔｉｎ；Ｆｒａｖｏｐｒｉｄｉｏｌ；Ｇｅｎｅｓｔｅｉｎ；ＧＴＥ；ＩｍｍＴｈｅｒ；Ｉｒｅｓｓａ（ＺＤ１８３９）；Ｏｃｔｒｅｏｔｉｄｅ（ソマトスタチン）；Ｐａｎｒｅｔｉｎ、Ｐａｎａｃｉｌｌａｍｉｎｅ；Ｐｈｏｔｏｐｏｉｎｔ；ＰＩ－８８；Ｐｒｉｎｏｍａｓｔａｔ（ＡＧ－３５４０）Ｐｕｒｌｙｔｉｎ；Ｓｕｒａｄｉｓｔａ（ＦＣＥ２６６４４）；タモキシフェン（Ｎｏｌｖａｄｅｘ）；Ｔａｚａｒｏｔｅｎｅ；テトラチオモリブデート；Ｘｅｌｏｄａ（Ｃａｐｅｃｉａｂｉｎｅ）；および５－フルオロウラシル。

【０４６９】

本発明の化合物と併用して投与され得る抗脈管形成剤は、種々の機構（細胞外マトリックスのタンパク質分解の阻害、脈管形成誘導因子（例えば、増殖因子）の機能を拮抗することによる内皮細胞外マトリックス接着分子の機能のブロック、および増殖する内皮細胞上で発現されるインテグリンレセプターの阻害）を介して作用し得る。細胞外マトリックスタンパク質分解を阻害し、そして本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得る抗脈管形成インヒビターの例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ＡＧ－５３４０（Ａｇｏｕｒｏｎ，Ｌａ Ｊｏｌｌａ、ＣＡ）、ＢＡＹ－１２－９５６６（Ｂａｙｅｒ、Ｗｅｓｔ Ｈｅａｖｅｎ、ＣＴ）、ＢＭＳ－２７５２９１（Ｂｒｉｓｔｏｌ Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ，Ｐｒｉｎｓｔｏｎ、ＮＪ）、ＣＧＳ－２７０３２Ａ（）、Ｎｏｖａｒｔｉｓ、Ｅａｓｔ Ｈａｎｏｖｅｒ、ＮＪ）、Ｍａｒｉｍａｓｔａｔ（Ｂｒｉｔｉｓｈ Ｂｉｏｔｅｃｈ、Ｏｘｆｏｒｄ、ＵＫ）、およびＭｅｔａｓｔａｔ（Ａｅｔｅｒｎａ、Ｓｔ－Ｆｏｙ、Ｑｕｅｂｅｃ）。内皮細胞外マトリックス接着分子の機能をブロックすることによって作用し、そして本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得る抗脈管形成剤の例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない；ＥＭＤ－１２１９７４（Ｍｅｒｃｋ ＫｃｇａＡ Ｄａｒｍｓｔａｄｔ、Ｇｅｒｍａｎｙ）およびＶｉｔａｘｉｎ（Ｉｘｓｙｓ、Ｌａ Ｊｏｌｌａ、ＣＡ／Ｍｅｄｉｍｍｕｎｅ、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤ）。脈管形成誘導因子を直接的に拮抗または阻害することによって作用し、そして本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得る抗脈管形成の例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：Ａｎｇｉｏｚｙｍｅ（Ｒｉｂｏｚｙｍｅ，Ｂｏｕｌｄｅｒ、ＣＯ）、抗ＶＥＧＦ抗体（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ、Ｓ．Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ、ＣＡ）、ＰＴＫ－７８７／ＺＫ－２２５８４６（Ｎｏｖａｒｔｉｓ、Ｂａｓｅｌ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）、ＳＵ－１０１（Ｓｕｇｅｎ、Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ、ＣＡ）、ＰＴＫ－７８７／ＺＫ－２２５８４６（Ｓｕｇｅｎ／Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｕｐｊｏｈｎ、Ｂｒｉｄｇｅｗａｔｅｒ、ＮＪ）およびＳＵ－６６６８（Ｓｕｇｅｎ）。他の抗脈管形成剤は、脈管形成を間接的に阻害するように作用する。本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得る脈管形成の間接的インヒビターの例としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ＩＭ－８６２（Ｃｙｔｒａｎ、Ｋｉｒｋｌａｎｄ、ＷＡ）、Ｉｎｔｅｒｆｅｒｏｎ－α、ＩＬ－１２（Ｒｏｃｈｅ，Ｎｕｔｌｅｙ、ＮＪ）およびＰｅｎｔｏｓａｎ ｐｏｌｙｓｕｌｆａｔｅ（Ｇｅｏｒｇｅｔｏｗｎ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ，Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ、ＤＣ）。

【０４７０】

特定の実施形態において、抗脈管形成剤と併用した本発明の抗体および抗体組成物の使用は、癌および他の過剰増殖性障害の処置、予防および／または緩和のために意図される。

【０４７１】

さらなる実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、抗ウイルス剤と併用して投与され得る。本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得る抗ウイルス剤としては、アシクロビル、リバビリン、アマンタジンおよびレマンタジンが挙げられるが、

これらに限定されない。

【０４７２】

特定の実施形態において、本発明の治療剤は、抗ウイルス剤、ヌクレオシド／ヌクレオチド逆転写酵素インヒビター（ＮＲＴＩ）、非ヌクレオチド逆転写酵素インヒビター（ＮＮＲＴＩ）および／またはプロテアーゼインヒビター（ＰＩ）と併用して投与される。本発明の治療剤と併用して投与され得るＮＲＴＩとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ＲＥＴＲＯＶＩＲ™（ジドブジン／ＡＺＴ）、ＶＩＤＥＸ™（ジダノシン／ｄｄＩ）、ＨＩＶＤ™（ザルシタビン／ｄｄＣ）、ＺＥＲＩＴ™（スタブジン／ｄ４Ｔ）、ＥＰＩＶＩＲ™（ラミブジン／３ＴＣ）およびＣＯＭＢＩＶＩＲ™（ジドブジン／ラミブジン）。本発明の治療剤と併用して投与され得るＮＮＲＴＩとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ＶＩＲＡＭＵＮＥ™（ネビラピン）、ＲＥＳＣＲＩＰＴＯＲ™（デラビルジン）およびＳＵＳＴＩＶＡ™（エファビレンツ）。本発明の治療剤と併用して投与され得るプロテアーゼインヒビターとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ＣＲＩＸＩＶＡＮ™（インジナビル）、ＮＯＲＶＩＲ™（リトナビル）、ＩＮＶＩＲＡＳＵ™（サキナビル）およびＶＩＲＡＣＥＰＴ™（ネルフィナビル（ｎｅｌｆｉｎａｖｉｒ））。特定の実施形態において、抗ウイルス剤、ヌクレオシド逆転写酵素インヒビター、非ヌクレオシド逆転写酵素インヒビターおよび／またはプロテアーゼインヒビターは、ＡＩＤＳを処置および／またはＨＩＶ感染を防止もしくは処置するために、本発明の治療剤との任意の併用で使用され得る。

【０４７３】

他の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、抗生物質と併用して投与され得る。本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得る抗生物質としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：アモキシリン、アミノグリコシド、β－ラクタム（糖ペプチド）、β－ラクタマーゼ、クリンダマイシン、クロラムフェニコール、セファロスポリン、シプロフロキサシン、シプロフロキサシン、エリスロマイシン、フルオロキノロン、マクロライド、メトロニダゾール、ペニシリン、キノロン、リファンピン、ストレプトマイシン、スルホンアミド、テトラサイクリン、トリメトプリム、トリメトプリム－スルファメトキサゾール、およびバンコマイシン。

【０４７４】

さらなる実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、抗日和見細菌感染剤と併用して投与され得る。本発明の抗体および抗体組成物と併用して投与され得る抗日和見感染剤としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ＴＲＩＭＥＴＨＯＰＲＩＭ－ＳＵＬＦＡＭＦＬＨＯＸＡＺＯＬＥ™、ＤＡＰＳＯＮＥ™、ＰＥＮＴＡＭＩＤＩＮＥ™、ＡＴＯＶＡＱＵＯＮＥ™、ＩＳＯＮＩＡＺＩＤ™、ＲＩＦＡＭＰＩＮ™、ＰＹＲＡＺＩＮＡＭＩＤＥ™、ＥＴＨＡＭＩＢＵＴＯＬ™、ＲＩＦＡＢＵＴＩＮ™、ＣＬＡＲＩＴＨＲＯＭＹＣＩＮ™、ＡＺＩＴＨＲＯＭＹＣＩＮ™、ＧＡＮＣＩＣＬＯＶＩＲ™、ＦＯＳＣＡＲＮＥＴ™、ＣＩＤＯＦＯＶＩＲ™、ＦＬＵＣＯＮＡＺＯＬＥ™、ＩＴＲＡＣＯＮＡＺＯＬＥ™、ＫＥＴＯＣＯＮＡＺＯＬＥ™、ＡＣＹＣＬＯＶＩＲ™、ＦＡＭＣＩＣＯＬＶＩＲ™、ＰＹＲＩＭＥＴＨＡＭＩＮＥ™、ＬＥＵＣＯＶＯＲＩＮ™、ＮＥＵＰＯＧＥＮ™（フィルグラスチム（ｆｉｌｇｒａｓｔｉｍ）／Ｇ－ＣＳＦ）およびＬＥＵＫＩＮＥＮ™（サルグラモスチン（ｓａｒｇｒａｍｏｓｔｉｍ）／ＧＭ－ＣＳＦ）。

特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、日和見性のＰｎｅｕｍｏｃｙｓｔｉｓ　ｃａｒｉｎｊｉ肺炎感染を予防的に処置、予防、および／または診断するために、ＴＲＩＭＥＴＨＯＰＲＩＭＳＵＬＦＡＭＥＴＨＯＸＡＺＯＬＥ™、ＤＡＰＳＯＮＥ™、ＰＥＮＴＡＭＩＤＩＮＥ™および／またはＡＴＯＶＡＱＵＯＮＥ™との任意の組み合わせで使用される。別の特定の局面において、本発明の抗体および抗体組成物は、日和見性のＭｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ａｖｉｕｍ複合感染を予防的に処置、予防、および／または診断するために、ＩＳＯＮＩＡＺＩＤ™、ＲＩＦＡＭＰＩＮ™、ＰＹＲＡＺＩＮＡＭＩＤＥ™および／またはＥＴＨＡＭＢＵＴＯＬ™との任意の組み合わ

せで使用される。別の特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、日和見性のＭｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ感染を予防的に処置、予防、および／または診断するために、ＲＩＦＡＢＵＴＩＮ™、ＣＬＡＲＩＴＨＲＯＭＹＣＩＮ™および／またはＡＺＩＴＨＲＯＭＹＣＩＮ™との任意の組み合わせで使用される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、日和見性のサイトメガロウイルス感染を予防的に処置、予防、および／または診断するために、ＧＡＮＣＩＣＬＯＶＩＲ™、ＦＯＳＣＡＲＮＥＴ™および／またはＣＩＤＯＦＯＶＩＲ™との任意の組み合わせで使用される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、日和見性の真菌感染を予防的に処置、予防、および／または診断するために、ＦＬＵＣＯＮＡＺＯＬＥ™、ＩＴＲＡＣＯＮＡＺＯＬＥ™および／またはＫＥＴＯＣＯＮＡＺＯＬＥ™との任意の組み合わせで使用される。別の特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、日和見性のＩ型および／またはＩＩ型ヘルペス単純ウイルス感染を予防的処置、予防、および／または診断するために、ＡＣＹＣＬＯＶＩＲ™および／またはＦＡＭＣＩＣＯＬＶＩＲ™との任意の組み合わせで使用される。別の特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、日和見性のＴｏｘｏｐｌａｓｍａ ｇｏｎｄｉｉ感染を予防的に処置、予防、および／または診断するために、ＰＹＲＩＭＥＴＨＡＭＩＮＥ™および／またはＬＥＵＣＯＶＯＲＩＮ™との任意の組み合わせで使用される。別の特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、日和見性の細菌感染を予防的に処置、予防、および／または診断するために、ＬＥＵＣＯＶＯＲＩＮ™および／またはＮＥＵＰＯＧＥＮ™との任意の組み合わせで使用される。

【０４７５】

さらなる実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、単独でかまたは抗感染剤との組み合わせで投与される。本発明の抗体および抗体組成物と共に投与され得る抗感染剤としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：グルココルチコイド、および非ステロイド抗炎症薬、アミノアリールカルボン酸誘導体、アリール酢酸誘導体、アリールブチル酸誘導体、アリールカルボン酸、アリールプロピル酸誘導体、ピラゾール、ピラゾロン、サリチル酸誘導体、チアジンカルボキサミド（ｔｈｉａｚｉｎｅｃａｒｂｏｘａｍｉｄｅｓ）、ｅ－アセトアミドカプロン酸、Ｓ－アデノシルメチオニン、３－アミノ－４－ヒドロキシブチル酸、アミキセトリン（ａｍｉｘｅｔｒｉｎｅ）、ベンダザック、ベンジダミン、ブコローム、ジフェンピラミド（ｄｉｆｅｎｐｉｒａｍｉｄｅ）、ジタゾール（ｄｉｔａｚｏｌ）、エモルファゾン、グアイアズレン、ナブメトン、ニメスリド（ｎｉｍｅｓｕｌｉｄｅ）、オルゴテイン（ｏｒｇｏｔｅｉｎ）、オキセプロール（ｏｘａｃｅｐｒｏｌ）、パラニリン（ｐａｒａｎｙｌｉｎｅ）、ペリソキサール、ピフォキシム（ｐｉｆｏｘｉｍｅ）、プロクアゾン（ｐｒｏｑｕａｚｏｎｅ）、プロキサゾール（ｐｒｏｘａｚｏｌｅ）およびテニダプ（ｔｅｎｉｄａｐ）。

【０４７６】

本発明の抗体および抗体組成物は、単独で、または他のアジュバントと組み合わせて投与され得る。本発明の抗体および抗体組成物と共に投与され得るアジュバントとしては、ミョウバン、ミョウバンおよびデオキシコレート（イムノＡｇ）、ＭＴＰ－ＰＥ（Ｂｉｏｃｉｎｅ Ｃｏｒｐ．）、ＱＳ２１（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．）、ＢＣＧおよびＭＰＬが挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ミョウバンと組み合わせて投与される。別の特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＱＳ－２１と組み合わせて投与される。本発明の抗体および抗体組成物と共に投与され得るさらなるアジュバントとしては、モノリン酸化脂質免疫調節因子、ＡｄｊｕＶａｘ １００ａ、ＱＳ－２１、ＱＳ－１８、ＣＲＬ１００５、アルミニウム塩、ＭＦ－５９、およびＶｉｒｏｓｏｍａｌアジュバント技術が挙げられるがこれらに限定されない。本発明の抗体および抗体組成物と共に投与され得るワクチンとしては、以下に対する保護を指向したワクチンが挙げられるが、これらに限定されない：ＭＭＲ（麻疹、おたふくかぜ、風疹）、ポリオ、水痘、破傷風／ジフテリア（ｄｉｐｔｈｅｒｉａ）、Ａ型肝炎、Ｂ型肝炎、Ｂ型インフルエンザ、百日咳、肺炎、インフルエン

ザ、ライム病、ロタウイルス、コレラ、黄熱病、日本脳炎、ポリオ、狂犬病、腸チフス、および百日咳（ｐｅｒｔｕｓｓｉｓ）ならびに／またはＰＮＥＵＭＯＶＡＸ－２３™。組合せは、例えば、同時に（例えば、混合物として）、同時であるが別々に、または同時に投与されても；連続的に投与されてもよい。これには、組合せた薬剤が、治療用混合物として一緒に投与される提示、および組合せた薬剤が同時であるが別々に、例えば、同一の個体に別々の静脈ラインを通して投与される手順もまた含まれる。「組合せ（ｉｎ　ｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ）」投与には、１つの化合物または薬剤が最初に投与され、ついで第２の化合物または薬剤が別々に投与されることがさらに含まれる。

【０４７７】

別の特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、感染ならびに／または感染に関連した任意の疾患、障害、および／もしくは症状を処置、予防および／または診断するために、ＰＮＥＵＭＯＶＡＸ－２３™と組み合わせて使用される。一実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、任意のグラム陽性菌感染、ならびに／またはそれに関連した任意の疾患、障害、および／もしくは症状を処置、予防および／または診断するために、ＰＮＥＵＭＯＶＡＸ－２３™と組み合わせて使用される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、Ｅｎｔｅｒｏｃｏｃｃｕｓ属および／またはＳｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ属の１以上のメンバーに関連する感染、ならびに／または任意の疾患、障害、および／もしくは症状を処置、予防および／または診断するために、ＰＮＥＵＭＯＶＡＸ－２３™との任意の組み合わせで使用される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、Ｂ群連鎖球菌の１以上のメンバーに関連する感染、ならびに／または任意の疾患、障害、および／もしくは症状を処置、予防および／または診断するために、ＰＮＥＵＭＯＶＡＸ－２３™との任意の組み合わせで使用される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｎｅｕｍｏｎｉａｅに関連する、感染ならびに／または任意の疾患、障害および／もしくは症状を処置、予防および／または診断するために、ＰＮＥＵＭＯＶＡＸ－２３™と組み合わせて使用される。

【０４７８】

好ましい実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、ＣＤ４０リガンド（ＣＤ４０Ｌ）、ＣＤ４０Ｌの可溶性形態（例えば、ＡＶＲＥＮＤ™）、ＣＤ４０Ｌの生物学的に活性なフラグメント、改変体、もしくは誘導体、抗ＣＤ４０Ｌ抗体（例えば、アゴニスト抗体またはアンタゴニスト抗体）、および／または抗ＣＤ４０抗体（例えば、アゴニスト抗体またはアンタゴニスト抗体）と組み合わされて投与される。

【０４７９】

別の実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、抗凝固剤と組み合わせて投与される。本発明の抗体および抗体組成物と共に投与され得る抗凝固剤としては、ヘパリン、ワルファリン、およびアスピリンが挙げられるがこれらに限定されない。特定の実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、ヘパリンおよび／またはワルファリンと組み合わせて投与される。別の特定の実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、ワルファリンと組み合わせて投与される。別の特定の実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、ワルファリンおよびアスピリンと組み合わせて投与される。別の特定の実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、ヘパリンと組み合わせて投与される。別の特定の実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、ヘパリンおよびアスピリンと組み合わせて投与される。

【０４８０】

別の実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、抗カルジオリピン抗体の産生を抑制する薬剤と組み合わせて投与される。特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、抗カルジオリピン抗体のリン脂質結合血漿タンパク質β２－糖タンパク質Ｉ（ｂ２ＧＰＩ）結合能力をブロックおよび／または低減する薬剤と組合せて投与される。

【０４８１】

好ましい実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、抗マラリア剤と組み合わせて投与される。本発明の抗体および抗体組成物とともに投与され得る抗マラリア剤としては、ヒドロキシクロロキン、クロロキンおよび／またはキナクリンが挙げられるがこれらに限定されない。

【０４８２】

好ましい実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、ＮＳＡＩＤと組み合わせて投与される。

【０４８３】

非排他的実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、以下の薬物のうちの１、２、３、４、５、１０以上と組み合わせて投与される：ＮＲＤ－１０１（Ｈｏｅｃｈｓｔ Ｍａｒｉｏｎ Ｒｏｕｓｓｅｌ）、ジクロフェナク（Ｄｉｍｅｔｈａｉｄ）、オキサプロジンカリウム（Ｍｏｎｓａｎｔｏ）、メカセルミン（ｍｅｃａｓｅｒｍｉｎ）（Ｃｈｉｒｏｎ）、Ｔ－７１４（Ｔｏｙａｍａ）、ペメトレキシド二ナトリウム（ｐｅｍｅｔｒｅｘｅｄ ｄｉｓｏｄｉｕｍ）（Ｅｌｉ Ｌｉｌｌｙ）、アトレロイトン（ａｔｒｅｌｅｕｔｏｎ）（Ａｂｂｏｔｔ）、バルデコキシブ（ｖａｌｄｅｃｏｘｉｂ）（Ｍｏｎｓａｎｔｏ）、エルテナク（Ｂｙｋ Ｇｕｌｄｅｎ）、カンパス（ｃａｍｐａｔｈ）、ＡＧＭ－１４７０（Ｔａｋｅｄａ）、ＣＤＰ－５７１（Ｃｅｌｌｔｅｃｈ Ｃｈｉｒｏｓｃｉｅｎｃｅ）、ＣＭ－１０１（ＣａｒｂｏＭｅｄ）、ＭＬ－３０００（Ｍｅｒｃｋｌｅ）、ＣＢ－２４３１（ＫＳ Ｂｉｏｍｅｄｉｘ）、ＣＢＦ－ＢＳ２（ＫＳ Ｂｉｏｍｅｄｉｘ）、ＩＬ－１Ｒａ遺伝子治療（Ｖａｌｅｎｔｉｓ）、ＪＴＥ－５２２（Ｊａｐａｎ Ｔｏｂａｃｃｏ）、パクリタキセル（ｐａｃｌｉｔａｘｅｌ）（Ａｎｇｉｏｔｅｃｈ）、ＤＷ－１６６ＨＣ（Ｄｏｎｇ Ｗｈａ）、ダルブフェロンメシレート（ｄａｒｂｕｆｅｌｏｎｅ ｍｅｓｙｌａｔｅ）（Ｗａｒｎｅｒ－Ｌａｍｂｅｒｔ）、可溶性ＴＮＦレセプター１（ｓｙｎｅｒｇｅｎ；Ａｍｇｅｎ）、ＩＰＲ－６００１（Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｆｏｒ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ）、トロケード（ｔｒｏｃａｄｅ）（Ｈｏｆｆｍａｎ－Ｌａ Ｒｏｃｈｅ）、ＥＦ－５（Ｓｃｏｔｉａ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）、ＢＩＩＬ－２８４（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ Ｉｎｇｅｌｈｅｉｍ）、ＢＩＩＦ－１１４９（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ Ｉｎｇｅｌｈｅｉｍ）、ＬｅｕｋｏＶａｘ（Ｉｎｆｌａｍｍａｔｉｃｓ）、ＭＫ－６７１（Ｍｅｒｃｋ）、ＳＴ－１４８２（Ｓｉｇｍａ－Ｔａｕ）、およびブチクソコルトプロピオネート（ｂｕｔｉｘｏｃｏｒｔ ｐｒｏｐｉｏｎａｔｅ）（ＷａｒｎｅｒＬａｍｂｅｒｔ）。

【０４８４】

好ましい実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、以下の薬物のうちの１、２、３、４、５以上と組み合わせて投与される：メトトレキサート、スルファサラジン、アウロチオマレイン酸ナトリウム、オーラノフィン、シクロスポリン、ペニシラミン、アザチオプリン、抗マラリア薬物（例えば、上記の通り）、シクロホスファミド、クロラムブシル、金、ＥＮＢＲＥＬ™（Ｅｔａｎｅｒｃｅｐｔ）、抗ＴＮＦ抗体、ＬＪＰ ３９４（Ｌａ Ｊｏｌｌａ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）およびプレドニゾロン。

【０４８５】

さらなる実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、単独で、または１以上の静脈内免疫グロブリン調製物と組み合わせて投与される。本発明の抗体および抗体組成物とともに投与され得る静脈内免疫グロブリン調製物としては、ＧＡＭＭＡＲ™、ＩＶＥＥＧＡＭ™、ＳＡＮＤＯＧＬＯＢＵＬＩＮ™、ＧＡＭＭＡＧＡＲＤ Ｓ／Ｄ™、およびＧＡＭＩＭＵＮＥ™が挙げられるがこれらに限定されない。特定の実施形態では、本発明の抗体および抗体組成物は、移植治療（例えば、骨髄移植）において静脈内免疫グロブリン調製物と組み合わせて投与される。

【０４８６】

ＣＤ４０リガンド（ＣＤ４０Ｌ）、ＣＤ４０Ｌの可溶性形態（例えば、ＡＶＲＥＮＤ™）、ＣＤ４０Ｌの生物学的に活性なフラグメント、改変体、もしくは誘導体、抗ＣＤ４

０Ｌ抗体（例えば、アゴニスト抗体またはアンタゴニスト抗体）、および／または抗ＣＤ４０抗体（例えば、アゴニスト抗体またはアンタゴニスト抗体。

【０４８７】

さらなる実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、サイトカインと組み合わせて投与される。本発明の抗体および抗体組成物と共に投与され得るサイトカインとしては、ＧＭ－ＣＳＦ、Ｇ－ＣＳＦ、ＩＬ２、ＩＬ３、ＩＬ４、ＩＬ５、ＩＬ６、ＩＬ７、ＩＬ１０、ＩＬ１２、ＩＬ１３、ＩＬ１５、抗ＣＤ４０、ＣＤ４０Ｌ、ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＦＮ－γ、ＴＮＦ－α、およびＴＮＦ－βが挙げられるがこれらに限定されない。好ましい実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＴＲＡＩＬレセプターと共に投与される。別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２、ＩＬ－１３、ＩＬ－１４、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－１９、ＩＬ－２０、ＩＬ－２１、およびＩＬ－２２が挙げられるがこれらに限定されない任意のインターロイキンと共に投与され得る。好ましい実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＩＬ４およびＩＬ１０と組み合わせて投与される。

【０４８８】

１つの実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、１つ以上のケモカインと組み合わせて投与される。特定の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、以下からなる群から選択されるα（Ｃ×Ｃ）ケモカインと組み合わせて投与される：γ－インターフェロン誘導プロテイン－１０（γＩＰ－１０）、インターロイキン－８（ＩＬ－８）、血小板第４因子（ＰＦ４）、好中球活性化蛋白（ＮＡＰ－２）、ＧＲＯ－α、ＧＲＯ－β、ＧＲＯ－γ、好中球活性化ペプチド（ＥＮＡ－７８）、顆粒球化学誘導タンパク質－２（ＧＣＰ－２）、および間質細胞誘導因子－１（ＳＤＦ－１、またはｐｒｅ－Ｂ細胞刺激因子（ＰＢＳＦ））；ならびに／または以下からなる群から選択されるβ（ＣＣ）ケモカイン（ＲＡＮＴＥＳ（活性化によって制御され、正常なＴによって発現および分泌される）、マクロファージ炎症性タンパク質－１α（ＭＩＰ－１α）、マクロファージ炎症性タンパク質－１β（ＭＩＰ－１β）、単球走化性タンパク質－１（ＭＣＰ－１）、単球走化性タンパク質－２（ＭＣＰ－２）、単球走化性タンパク質－３（ＭＣＰ－３）、単球走化性タンパク質－４（ＭＣＰ－４）、マクロファージ炎症性タンパク質－１γ（ＭＩＰ－１γ）、マクロファージ炎症性タンパク質－３α（ＭＩＰ－３α）、マクロファージ炎症性タンパク質－３β（ＭＩＰ－３β）、マクロファージ炎症性タンパク質－４（ＭＩＰ－４／ＤＣ－ＣＫ－１／ＰＡＲＣ）、エオタクシン（ｅｏｔａｘｉｎ）、エキソダス（Ｅｘｏｄｕｓ）、およびＩ－３０９）；ならびに／またはγ（Ｃ）ケモカイン、リンホタクチン（ｌｙｍｐｈｏｔａｃｔｉｎ）。

【０４８９】

別の実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ケモカインβ－８、ケモカインβ－１、および／またはマクロファージ炎症性タンパク質－４と共に投与される。好ましい実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ケモカインβ－８と共に投与される。

【０４９０】

さらなる実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、ＩＬ－４アンタゴニストと組み合わせて投与される。本発明の抗体および抗体組成物と共に投与され得るＩＬ－４アンタゴニストとしては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：可溶性ＩＬ－４レセプターポリペプチド、可溶性ＩＬ－４レセプターポリペプチドの多量体形態；ＩＬ－４によって誘導される生物学的シグナルを伝達せずにＩＬ－４レセプターを結合する抗ＩＬ－４レセプター抗体、１つ以上のＩＬ－４レセプターへのＩＬ－４の結合をブロックする抗ＩＬ－４抗体、およびＩＬ－４レセプターを結合するがＩＬ－４によって誘導される生物学的シグナルを伝達しないＩＬ－４のムテイン。好ましくは、本方法に従って使用される抗体は、モノクローナル抗体（例えば、本明細書中に記載される抗体フラグメントの

ような抗体フラグメントを含む）である。

【０４９１】

さらなる実施形態において、本発明の抗体および抗体組成物は、線維芽細胞増殖因子と組み合わせて投与される。本発明の抗体および抗体組成物と共に投与され得る線維芽細胞増殖因子としては、ＦＧＦ－１、ＦＧＦ－２、ＦＧＦ－３、ＦＧＦ－４、ＦＧＦ－５、ＦＧＦ－６、ＦＧＦ－７、ＦＧＦ－８、ＦＧＦ－９、ＦＧＦ－１０、ＦＧＦ－１１、ＦＧＦ－１２、ＦＧＦ－１３、ＦＧＦ－１４、およびＦＧＦ－１５が挙げられるがこれらに限定されない。

【０４９２】

（組成物の治療有効性または予防有効性の実証）

本発明の化合物は、好ましくは、ヒトにおける使用の前に、所望の治療活性または予防活性について、インビトロで試験され、次いで、インビボで試験される。例えば、本発明の特定の抗体または組成物の投与が、指示されるかどうかを決定するために使用され得るインビトロアッセイは、インビトロ細胞培養液アッセイを含み、このインビトロ細胞培養液アッセイにおいて、患者組織サンプルを培養液中で増殖し、本発明の抗体もしくは組成物へと曝露されるかまたはそうでなければそれを投与し、本発明のそのような抗体または組成物の組織サンプルにおける効果を観察する。種々の特定の実施形態において、インビトロアッセイは、患者の障害に関与する代表的な細胞型の細胞を用いて実施され、本発明の抗体または組成物が、そのような細胞型に対する所望の効果を有するかどうかを決定し得る。好ましくは、本発明の抗体または組成物はまた、ヒトへの投与の前に、インビトロアッセイおよび動物モデル系において試験される。

【０４９３】

治療における使用のための、本発明の抗体または組成物は、適切な動物モデル系（ラット、マウス、ニワトリ、ウシ、サル、およびウサギが挙げられるがこれらに限定されない）において、これら抗体または組成物の毒性について試験され得る。抗体または組成物の毒性のインビボ試験のために、当該分野で公知の任意の動物系が使用され得る。

【０４９４】

本発明の抗体または組成物は、インビトロアッセイ、エキソビボアッセイおよびインビボアッセイにおいて腫瘍形成を減少させる、これらの能力について試験され得る。本発明の抗体または組成物はまた、インビトロアッセイおよびインビボアッセイにおいてウイルス複製を阻害またはウイルス負荷を減少する、これらの能力について試験され得る。本発明の抗体または組成物はまた、当業者に公知であるインビトロアッセイおよびインビボアッセイにおいて細菌数を減少する、これらの能力について試験され得る。本発明の抗体または組成物はまた、癌、免疫障害（例えば、炎症性疾患）、神経障害または感染症に関連する１つ以上の症状を緩和する能力について試験され得る。本発明の抗体または組成物はまた、感染症の時間経過を減少する、これらの能力について試験され得る。さらに、本発明の抗体または組成物は、癌、免疫障害または感染症を含む疾患または障害に罹患している動物の生存期間を増加する、これらの能力について試験され得る。当業者に公知の技術は、本発明の抗体または組成物のインビボでの機能を分析するために使用され得る。

【０４９５】

ウイルス感染を処置または予防する効力は、本発明の抗体または組成物の、ウイルスの複製を阻害する能力、伝染を阻害するかまたはウイルスがそれ自体宿主中に定着することを予防する能力、あるいは進行する疾患の症状を予防、改善または緩和する能力を検出することによって示され得る。本発明の抗体または組成物の投与後に、例えば、ウイルス負荷の減少、１つ以上の症状の改善、あるいは死亡率および／または罹患率の減少が存在する場合、この処置は、治療的であると考えられる。

【０４９６】

本発明の抗体または組成物は、免疫細胞の生物学的活性を調節するこれらの能力について、免疫細胞（好ましくは、ヒト免疫細胞（例えば、Ｔ細胞、Ｂ細胞、およびナチュラルキラー細胞））を、本発明の抗体または組成物あるいはコントロール化合物と接触させ、

本発明の抗体または組成物が免疫細胞の生物学的活性を調節（すなわち、増加または減少）する能力を決定することによって試験され得る。本発明の抗体または組成物の免疫細胞の生物学的活性を調節する能力は、抗原の発現を検出すること、免疫細胞の増殖（すなわち、Ｂ細胞増殖）を検出すること、シグナル伝達分子の活性化を検出すること、免疫細胞のエフェクター機能を検出すること、または免疫細胞の分化を検出することによって評価され得る。当業者に公知の技術は、これらの活性を測定するために使用され得る。例えば、細胞増殖は、^{3}Ｈ－チミジン取り込みアッセイおよびトリパンブルー細胞計数によってアッセイされ得る。抗原発現は、例えば、ウエスタンブロット、免疫組織化学放射免疫測定法、ＥＬＩＳＡ（酵素結合イムノソルベント検定法）、「サンドイッチ」免疫アッセイ、免疫沈降アッセイ、沈降反応、ゲル拡散沈降反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体結合アッセイ、イムノラジオメトリックアッセイ、蛍光免疫アッセイ、プロテインＡ免疫アッセイおよびＦＡＣＳ分析のような技術を使用する競合アッセイ系および非競合アッセイ系が挙げられる（がこれらに限定されない）免疫アッセイによってアッセイされ得る。シグナル伝達分子の活性化は、例えば、キナーゼアッセイおよび電気泳動シフトアッセイ（ＥＭＳＡ）によって、アッセイされ得る。好ましい実施形態において、本発明の抗体または組成物のＢ細胞増殖を誘導する能力が、測定される。別の好ましい実施形態において、本発明の抗体または組成物の免疫グロブリン発現を調節する能力が、測定される。

【０４９７】

（パネル／混合物）

本発明はまた、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体へと免疫特異的に結合する抗体（ｓｃＦｖおよび抗体フラグメントまたはその改変体を含むまたは代替的にそれらからなる他の分子を含む）の混合物を提供し、ここで、この混合物は、少なくとも１、２、３、４、５、またはそれ以上の本発明の異なる抗体を有する。特定の実施形態において、本発明は、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体へと免疫特異的に結合する少なくとも２の異なる抗体の混合物、好ましくは少なくとも４、少なくとも６、少なくとも８、少なくとも１０、少なくとも１２、少なくとも１５、少なくとも２０、または少なくとも２５の異なる抗体の混合物を提供し、ここで、この混合物の少なくとも１、少なくとも２、少なくとも４、少なくとも６、または少なくとも１０の抗体は、本発明の抗体である。特定の実施形態において、混合物の各抗体は、本発明の抗体である。

【０４９８】

本発明はまた、ＴＲ４またはそのフラグメントもしくは改変体へと免疫特異的に結合する抗体（ｓｃＦｖおよび抗体フラグメントまたはその改変体を含むまたは代替的にそれらからなる他の分子を含む）のパネルを提供し、ここで、このパネルは、少なくとも１、２、３、４、５、またはそれ以上の本発明の異なる抗体を有する。特定の実施形態において、本発明は、ＴＲＡＩＬレセプターに対する異なる親和性、ＴＲＡＩＬレセプターに対する異なる特異性、または異なる解離速度を有する抗体のパネルを提供する。本発明は、少なくとも１０の抗体のパネル、好ましくは少なくとも２５、少なくとも５０、少なくとも７５、少なくとも１００、少なくとも１２５、少なくとも１５０、少なくとも１７５、少なくとも２００、少なくとも２５０、少なくとも３００、少なくとも３５０、少なくとも４００、少なくとも４５０、少なくとも５００、少なくとも５５０、少なくとも６００、少なくとも６５０、少なくとも７００、少なくとも７５０、少なくとも８００、少なくとも８５０、少なくとも９００、少なくとも９５０、または少なくとも１０００の抗体のパネルを提供する。抗体のパネルは、例えば、ＥＬＩＳＡのようなアッセイのために、９６ウェルプレートで使用され得る。

【０４９９】

本発明はさらに、１つ以上の抗体を含有する組成物（本発明の抗体フラグメントまたは改変体を含むかまたは代替的にそれからなる分子を含む）を提供する。１つの実施形態において、本発明の組成物は、表１に参照される、１つ以上のｓｃＦｖの任意の１つ以上のＶＨドメインのアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその改変体を、含むかまたは代替的にそれらからなる１、２、３、４、５、またはそれ以上の抗体を含む。別の実施形態

において、本発明の組成物は、表１に参照される、１つ以上のｓｃＦｖの任意の１つ以上のＶＨ　ＣＤＲ１のＶＨドメインのアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその改変体を、含むかまたは代替的にそれらからなる１、２、３、４、５、またはそれ以上の抗体を含む。別の実施形態において、本発明の組成物は、表１に参照される、１つ以上のｓｃＦｖの任意の１つ以上のＶＨ　ＣＤＲ２のＶＨドメインのアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその改変体を、含むかまたは代替的にそれらからなる１、２、３、４、５、またはそれ以上の抗体を含む。好ましい実施形態において、本発明の組成物は、表１に参照される、１つ以上のｓｃＦｖの任意の１つ以上のＶＨ　ＣＤＲ３のＶＨドメインのアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその改変体を、含むかまたは代替的にそれらからなる１、２、３、４、５、またはそれ以上の抗体を含む。

【０５００】

１つ以上の抗体（本発明の抗体フラグメントもしくは改変体を含むかまたは代替的にそれからなる分子を含む）を含む組成物を提供する本発明の他の実施形態は、以下に列挙される。別の実施形態において、本発明の組成物は、表１に参照される、１つ以上のｓｃＦｖの任意の１つ以上のＶＬドメインのアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその改変体を、含むかまたは代替的にそれらからなる１、２、３、４、５、またはそれ以上の抗体を含む。別の実施形態において、本発明の組成物は、表１に参照される、１つ以上のｓｃＦｖの任意の１つ以上のＶＬ　ＣＤＲ１ドメインのアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその改変体を、含むかまたは代替的にそれらからなる１、２、３、４、５、またはそれ以上の抗体を含む。別の実施形態において、本発明の組成物は、表１に参照される、１つ以上のｓｃＦｖの任意の１つ以上のＶＬ　ＣＤＲ２のアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその改変体を、含むかまたは代替的にそれらからなる１、２、３、４、５、またはそれ以上の抗体を含む。好ましい実施形態において、本発明の組成物は、表１に参照される、１つ以上のｓｃＦｖの任意の１つ以上のＶＬ　ＣＤＲ３ドメインのアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその改変体を、含むかまたは代替的にそれらからなる１、２、３、４、５、またはそれ以上の抗体を含む。

【０５０１】

（キット）

本発明はまた、本発明の薬学的組成物の１つ以上の構成成分で満たされた１つ以上の容器を包含する薬学的パックまたはキットを提供する。必要に応じて、このような容器には、薬学的生成物または生物学的生成物の製造、使用または販売を規制する政府機関によって規定された形態における通知が付随し得、この通知は、ヒトへの投与に対する製造、使用または販売の機関による認可を反映する。

【０５０２】

本発明は、上記の方法において使用され得るキットを提供する。１つの実施形態において、キットは、１つ以上の容器中に、本発明の抗体（好ましくは精製抗体）を包含する。代替的な実施形態において、キットは、ＴＲ４ポリペプチドまたはそのフラグメントもしくは改変体へと免疫特異的に結合する抗体フラグメントを包含する。特定の実施形態において、本発明のキットは、コントロールとして実質的に単離されたＴＲ４ポリペプチドまたはそのフラグメントもしくは改変体を含む。好ましくは、本発明のキットはさらに、任意のＴＲＡＩＬレセプター、いくつかのＴＲＡＩＬレセプター、または全てのＴＲＡＩＬレセプターと反応しないコントロール抗体を含む。別の特定の実施形態において、本発明のキットは、ＴＲ４ポリペプチドへの抗体の結合（例えば、抗体は、検出可能な基質（例えば、蛍光化合物、酵素基質、放射性化合物または発光化合物）へと結合体化され得るか、あるいは第１の抗体を認識する第２の抗体が、検出可能な基質へと結合体化され得る）を検出するための手段を包含する。特定の実施形態において、キットは、組換え産生されたＴＲＡＩＬレセプターまたは化学的に合成されたＴＲＡＩＬレセプターを含み得る。キットに提供されるＴＲ４はまた、固相支持体に結合され得る。より特定の実施形態において、上記キットの検出手段は、ＴＲ４が結合された固相支持体を含む。このようなキットはまた、非結合レポーターで標識された抗ヒト抗体を含み得る。この実施形態において、

抗体のＴＲ４への結合は、前記レポーターで標識された抗体の結合によって検出され得る。

【０５０３】

さらなる実施形態において、本発明は、本発明のポリペプチドの抗原を含有する血清のスクリーニングにおける使用のための診断キットを含む。この診断キットは、ＴＲＡＩＬレセプターと特異的に免疫反応性である実質的に単離された抗体を含み、そしてこの抗体へのＴＲ４ポリペプチドの結合を検出するための手段を含む。１つの実施形態において、抗体は、固相支持体へと結合される。特定の実施形態において、抗体は、モノクローナル抗体であり得る。キットの検出手段は、第２の標識モノクローナル抗体を含み得る。あるいは、またはさらに、検出手段は、標識された競合抗原を含み得る。

【０５０４】

１つの診断的構成において、試験血清は、本発明の方法によって得られる表面結合ＴＲＡＩＬレセプターを有する固相試薬と反応される。ＴＲ４ポリペプチドが特定の抗体に結合した後、結合しない血清成分は洗浄によって除去され、レポーター標識抗ヒト抗体が添加され、結合しない抗ヒト抗体は洗浄によって除去され、試薬はレポーター標識抗ヒト抗体と反応され、固相支持体上の結合された抗ＴＲ４抗体の量に比例して、レポーターを試薬へと結合する。代表的には、このレポーターは、適切な蛍光基質、発光基質または比色定量基質の存在下で、固相をインキュベーションすることによって検出される酵素である。

【０５０５】

上記アッセイにおける固体表面試薬は、タンパク質物質を固相支持体物質（例えば、ポリマー性ビーズ、ディップスティック、９６ウェルプレートまたはフィルター物質）へと結合するための公知の技術によって調製される。これらの結合方法は、一般的に、タンパク質の支持体への非特異的吸着、または代表的には遊離アミノ基を介して固体支持体上の化学的反応性基（例えば、活性化されたカルボキシル基、ヒドロキシル基、またはアルデヒド基）へのタンパク質の共有結合を含む。あるいは、ストレプトアビジンコーティングプレートは、ビオチン化抗原と共に使用され得る。

【０５０６】

従って、本発明は、この診断方法を実施するためのアッセイ系またはアッセイキットを提供する。このキットは、一般的に、表面結合組換えＴＲＡＩＬレセプター、および表面結合抗ＴＲ４抗体を検出するためのレポーター標識抗ヒト抗体を有する支持体を含む。

【０５０７】

（ＴＲＡＩＬレセプターの胎盤発現）

全胎盤ならびに胎盤マクロファージおよびトロホブラスト細胞株における、腫瘍壊死ファミリーレセプターおよびリガンドの発現は、注意深く試験された。トロホブラストは、ＴＲ７およびＴＲ５を発現するが、ＴＲ１０を発現せず、このトロホブラストは、組換えＴＲＡＩＬによる殺傷に対して全く耐性であるのに対して、ＴＲ４、ＴＲ７およびＴＲ１０を発現するがＴＲ５を発現しないマクロファージは、感受性であることが示された（Ｐｈｉｌｌｉｐｓら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ　１５：６０５３－９（１９９９）その全体を本明細書中に参考として援用される）。従って、本明細書中に記載される抗ＴＲ４抗体を使用するための方法はまた、胎盤および胎盤細胞型（例えば、マクロファージおよびトロホブラスト細胞）上で使用され、胎盤胎盤細胞型の疾患および障害を、予防、処置、診断、改善、またはモニタリングし得る。

【０５０８】

（遺伝子治療）

特定の実施形態において、抗体またはその機能的誘導体をコードする配列を含む核酸は、遺伝子治療によって、ＴＲＡＩＬレセプターおよび／またはそのリガンド（例えば、ＴＲＡＩＬ）の異常な発現および／または活性に関連する疾患または障害を処置、阻害または予防するために投与される。遺伝子治療とは、発現された核酸または発現可能な核酸を被験体へと投与することによって実施される治療法をいう。本発明のこの実施形態におい

て、核酸は、治療効果を媒介する、これらのコードタンパク質を産生する。

【０５０９】

当該分野で利用可能な遺伝子治療のための、任意の方法は、本発明に従って使用され得る。例示的方法は、以下に記載される。

【０５１０】

遺伝子治療の方法の一般的な概説については、Ｇｏｌｄｓｐｉｅｌら、Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｙ １２：４８８－５０５（１９９３）；ＷｕおよびＷｕ，Ｂｉｏｔｈｅｒａｐｙ ３：８７－９５（１９９１）；Ｔｏｌｓｔｏｓｈｅｖ，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｔｏｘｉｃｏｌ．３２：５７３－５９６（１９９３）；Ｍｕｌｌｉｇａｎ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６０：９２６－９３２（１９９３）；ならびにＭｏｒｇａｎおよびＡｎｄｅｒｓｏｎ，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．６２：１９１－２１７（１９９３）；Ｍａｙ，ＴＩＢＴＥＣＨ １１（５）：１５５－２１５（１９９３）を参照のこと。使用され得る組換えＤＮＡ技術の分野で一般的に公知の方法は、以下に記載される：Ａｕｓｕｂｅｌら、（編），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，ＮＹ（１９９３）；およびＫｒｉｅｇｌｅｒ，Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ ａｎｄ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ（１９９０）。

【０５１１】

好ましい局面において、本発明の組成物は、抗体をコードする核酸を含むかまたは代替的にそれからなり、前記核酸は、適切な宿主中で抗体またはフラグメントもしくはキメラタンパク質あるいはその重鎖または軽鎖を発現する発現ベクターの一部である。特に、このような核酸は、抗体コード領域に作動可能に結合されるプロモーター（好ましくは異種プロモーター）を有し、前記プロモーターは、誘導可能であるかまたは構成的であり、そして必要に応じて組織特異的である。別の特定の実施形態において、抗体コード配列および任意の他の所望される配列に隣接する、ゲノム中の所望される部位で相同組換えを促進する領域が存在する核酸分子が使用され、従って、抗体コード核酸の染色体内発現を提供する（ＫｏｌｌｅｒおよびＳｍｉｔｈｉｅｓ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：８９３２－８９３５（１９８９）；Ｚｉｊｌｓｔｒａら、Ｎａｔｕｒｅ ３４２：４３５－４３８（１９８９））。特定の実施形態において、発現された抗体分子は、ｓｃＦｖであり；あるいは、核酸配列は、抗体の重鎖および軽鎖の両方、またはそのフラグメントもしくは改変体をコードする配列を包含する。

【０５１２】

患者への核酸の送達は、直接（この場合、患者が核酸または核酸保有ベクターに直接曝露される）または間接（この場合、細胞がまずインビトロで核酸で形質転換され、次いで患者に移植される）のいずれかであり得る。これら２つのアプローチは、それぞれインビボ治療またはエキソビボ治療として公知である。

【０５１３】

特定の実施形態において、核酸配列はインビボで直接的に投与され、そこで核酸配列は発現されて、コードされた生成物を産生する。これは、当該分野で公知の多数の方法（例えば、それらを適切な核酸発現ベクターの一部分として構築し、そしてそれを細胞内になるように投与することにより（例えば、欠損性または弱毒化したレトロウイルスまたは他のウイルスベクター（米国特許第４，９８０，２８６号を参照のこと）を用いた感染により）、または、裸のＤＮＡの直接注射により、または、微粒子ボンバードメント（例えば、遺伝子銃；Ｂｉｏｌｉｓｔｉｃ、Ｄｕｐｏｎｔ）の使用により、または脂質もしくは細胞表面のレセプターもしくはトランスフェクト剤でコーティングすることにより、または、リポソーム、微粒子、もしくはマイクロカプセル中へのカプセル化により、または、それらを核に入ることが公知であるペプチドと結合させて投与することにより、それをレセプター媒介のエンドサイトーシスを受けるリガンドと結合させて投与することにより（例えば、ＷｕおよびＷｕ，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６２：４４２９－４４３２（１９８

７）を参照のこと）（レセプターを特異的に発現する細胞型を標的化するために用いられ得る）など）のいずれかにより達成され得る。別の実施形態において、核酸－リガンド複合体が形成され得、ここで、リガンドはエンドソームを破壊するフソジェニック（ｆｕｓｏｇｅｎｉｃ）ウイルス性ペプチドを含み、核酸にリソソーム分解を回避させる。さらに別の実施形態において、核酸は、特異的なレセプターを標的化することにより、細胞特異的な取り込みおよび発現についてインビボで標的化とされ得る（例えば、ＰＣＴ公開第ＷＯ９２／０６１８０号；同第ＷＯ９２／２２７１５号；同第ＷＯ９２／２０３１６号；同第ＷＯ９３／１４１８８号、同第ＷＯ９３／２０２２１号を参照のこと）。あるいは、核酸は、細胞内部に導入され得、そして相同組換えにより、発現のために宿主細胞ＤＮＡ中に組み込まれ得る（ＫｏｌｌｅｒおよびＳｍｉｔｈｉｅｓ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：８９３２－８９３５（１９８９）；Ｚｉｊｌｓｔｒａら，Ｎａｔｕｒｅ ３４２：４３５－４３８（１９８９））。

【０５１４】

具体的な実施形態において、本発明の抗体をコードする核酸配列を含むウイルスベクターまたはそのフラグメントもしくは改変体が使用される。例えば、レトロウイルスベクターが用いられ得る（Ｍｉｌｌｅｒら，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．２１７：５８１－５９９（１９９３）を参照のこと）。これらのレトロウイルスベクターは、正しいウイルス性ゲノムのパッケージングおよび宿主細胞ＤＮＡへの組込みのために必要な構成要素を含む。遺伝子治療において使用される抗体をコードする核酸配列は、一つ以上のベクター中にクローン化され、これは、患者内への遺伝子の送達を容易にする。レトロウイルスベクターに関するさらなる詳細は、Ｂｏｅｓｅｎら，Ｂｉｏｔｈｅｒａｐｙ ６：２９１－３０２（１９９４）（これは、幹細胞を化学療法に対してより耐性にするために、ｍｄｒ１遺伝子を造血性幹細胞に送達するための、レトロウイルスベクターの使用を記載する）に見出され得る。遺伝子治療におけるレトロウイルスベクターの使用を説明する他の参考文献は、以下のとおりである：Ｃｌｏｗｅｓら，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．９３：６４４－６５１（１９９４）；Ｋｌｅｉｎら，Ｂｌｏｏｄ ８３：１４６７－１４７３（１９９４）；ＳａｌｍｏｎｓおよびＧｕｎｚｂｅｒｇ，Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ４：１２９－１４１（１９９３）；ならびにＧｒｏｓｓｍａｎおよびＷｉｌｓｏｎ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ａｎｄ Ｄｅｖｅｌ．３：１１０－１１４（１９９３）。

【０５１５】

アデノウイルスは、遺伝子治療において使用され得る他のウイルスベクターである。アデノウイルスは、特に、気道上皮へ遺伝子を送達するための魅力的なビヒクルである。アデノウイルスは、自然に気道上皮に感染し、そこで軽い疾患を起こす。アデノウイルスベースの送達系の他の標的は、肝臓、中枢神経系、内皮細胞、および筋肉である。アデノウイルスは、非分裂細胞を感染することができるという利点を有する。ＫｏｚａｒｓｋｙおよびＷｉｌｓｏｎ，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ａｎｄ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ ３：４９９－５０３（１９９３）は、アデノウイルスベースの遺伝子治療の概説を示す。Ｂｏｕｔら，Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ５：３－１０（１９９４）は、アカゲザルの気道上皮に遺伝子を移入するためのアデノウイルスベクターの使用を示した。遺伝子治療におけるアデノウイルスの使用の他の例は、Ｒｏｓｅｎｆｅｌｄら，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５２：４３１－４３４（１９９１）；Ｒｏｓｅｎｆｅｌｄら，Ｃｅｌｌ ６８：１４３－１５５（１９９２）；Ｍａｓｔｒａｎｇｅｌｉら，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．９１：２２５－２３４（１９９３）；ＰＣＴ公開第ＷＯ９４／１２６４９号；およびＷａｎｇら，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ２：７７５－７８３（１９９５）に見出され得る。好ましい実施形態において、アデノウイルスベクターが使用される。

【０５１６】

アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）はまた、遺伝子治療における使用が提案されてきた（Ｗａｌｓｈら，Ｐｒｏｃ．Ｓｏｃ．Ｅｘｐ．Ｂｉｏｌ．Ｍｅｄ．２０４：２８９－３００（

１９９３）；米国特許第５，４３６，１４６号）。
【０５１７】
遺伝子治療への別のアプローチは、エレクトロポレーション、リポフェクション、リン酸カルシウム媒介トランスフェクション、またはウイルス感染のような方法により、組織培養物中の細胞へ遺伝子を移入する工程を包含する。通常、移入の方法は、選択マーカーの細胞への移入を含む。次いで、細胞は、移入された遺伝子を取り込みそして発現する細胞を単離するための選択下に置かれる。次いで、それらの細胞は患者に送達される。
【０５１８】
この実施形態においては、得られた組換え細胞のインビボでの投与の前に、核酸が細胞に導入される。このような導入は、当該分野において公知の任意の方法により実施され得、それらの方法としては以下が挙げられるが、これらに限定されない：トランスフェクション、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、核酸配列を含むウイルスベクターまたはバクテリオファージベクターでの感染、細胞融合、染色体媒介の遺伝子移入、マイクロセル媒介の遺伝子移入、スフェロプラスト融合など。外来遺伝子の細胞への導入については、当該分野において多数の技術が公知であり（例えば、ＬｏｅｆｆｌｅｒおよびＢｅｈｒ，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．２１７：５９９－７１８（１９９３）；Ｃｏｈｅｎら，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．２１７：７１８－６４４（１９９３）；Ｃｌｉｎ．Ｐｈａｒｍａ．Ｔｈｅｒ．２９：６９－９２ｍ（１９８５）を参照のこと）、そしてレシピエント細胞の必要な発生的機能および生理学的機能が破壊されないならば、本発明に従って使用され得る。この技術は、細胞への核酸の安定した移入を提供するべきであり、その結果、この核酸は、細胞により発現可能であり、そして好ましくは、その細胞の子孫により遺伝性でかつ発現可能である。
【０５１９】
得られた組換え細胞は、当該分野において公知の様々な方法により、患者へ送達され得る。組換え血球（例えば、造血幹細胞または造血前駆細胞）は、好ましくは、静脈内に投与される。使用が考えられる細胞の量は、所望の効果、患者の状態などに依存し、当業者により決定され得る。
【０５２０】
遺伝子治療の目的のために核酸が導入され得る細胞は、任意の所望の入手可能な細胞型を包含し、そして以下を含むがそれらに限定されない：上皮細胞、内皮細胞、ケラチノサイト、線維芽細胞、筋肉細胞、肝細胞；Ｔリンパ球、Ｂリンパ球、単球、マクロファージ、好中球、好酸球、巨核球、顆粒球のような血球；様々な幹細胞または前駆細胞、特に、造血幹細胞または造血前駆細胞（例えば、骨髄、臍帯血、末梢血、胎児の肝臓などから得られるような細胞）。
【０５２１】
好ましい実施形態において、遺伝子治療に使用される細胞は、患者に対して自己である。
【０５２２】
遺伝子治療において組換え細胞が使用される実施形態において、抗体またはそのフラグメントをコードする核酸配列は、細胞またはそれらの子孫により核酸配列が発現可能であるように細胞に導入され、そして次いで組み換え細胞は、治療的効果のためにインビボで投与される。具体的な実施形態において、幹細胞または前駆細胞が用いられる。インビトロで単離および維持され得る任意の幹細胞および／または前駆細胞は、本発明のこの実施形態に従って潜在的に使用され得る（例えば、ＰＣＴ公開第ＷＯ９４／０８５９８：ＳｔｅｍｐｌｅおよびＡｎｄｅｒｓｏｎ，Ｃｅｌｌ　７１：９７３－９８５（１９９２）；Ｒｈｅｉｎｗａｌｄ，Ｍｅｔｈ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏ．２１Ａ：２２９（１９８０）；ならびにＰｉｔｔｅｌｋｏｗおよびＳｃｏｔｔ，Ｍａｙｏ　Ｃｌｉｎｉｃ　Ｐｒｏｃ．７１：７７１（１９８６）を参照のこと）。
【０５２３】
具体的な実施形態において、遺伝子治療の目的で導入される核酸は、コード領域に作動

可能に連結された誘導性プロモーターを含有し、その結果、核酸の発現は、適切な転写誘導因子の存在または非存在を制御することにより制御可能である。

【実施例】

【０５２４】

（実施例）

（実施例１：表１に参照されるｓｃＦｖの単離および特徴付け）

（ｓｃＦｖ大ライブラリーのレスキュー）

１×１０^{11}クローンまでのｓｃＦｖライブラリー（記載された１．３８×１０^{10}ライブラリーの拡大版である）（Ｖａｕｇｈａｎら、（１９９６）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １４：３０９－３１４）を、使用し、ＴＲ４に特異的な抗体を選択した。ファージを、グリセロールストック培養液から３×１０^{10}細胞を取り、２ＹＴＡＧ（１００μｇ／ｍｌのアンピシリンおよび２％（重量／体積）のグルコースを補充された２ＹＴ培地）中で、３７℃で２時間振盪しながら増殖させることによって、レスキューした。Ｍ１３Ｋ０７ヘルパーファージ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）を、約１０の感染多重度（ｍｏｉ）で培養液に添加した。この培養液を、３７℃で１５分間静置し、軽い通気（２００ｒｐｍ）をしながら、同一温度で４５分間インキュベーションした。この培養液を、遠心分離し、細胞を、５００ｍｌの２ＹＴＡＫ（１００μｇ／ｍｌのカナマイシンを補充した２ＹＴ培地）中に再懸濁し、そしてこの培養液を、良好な通気（３００ｒｐｍ）をしながら、３０℃で一晩インキュベーションした。ファージ粒子を精製し、氷上での３回のポリエチレングリコール（ＰＥＧ）沈殿（２０％ ＰＥＧ ６０００、２．５Ｍ ＮａＣｌ）によって濃縮し、次いで、１０^{12}形質導入単位（ｔｕ／ｍｌ）でリン酸緩衝化生理食塩水（ＰＢＳ）に再懸濁し、アンピシリン耐性クローンとして滴定した。

【０５２５】

（ＴＲ４上のｓｃＦｖライブラリーのパニング）

可溶性であり精製されたＴＲ４融合タンパク質を、ＨＧＳによって産生した。精製されたファージミドを、まず無関係な融合タンパク質として除去し、任意の無関係な結合体を除去した。これを実施するために、５００μｌの無関係な融合タンパク質を、７５ｍｍ×１２ｍｍ免疫チューブ（Ｎｕｎｃ；Ｍａｘｉｓｏｒｐ）上に、４℃で一晩固定した（ＰＢＳ中１０μｇ／ｍｌ）。ＰＢＳでの３回の洗浄後、このチューブを、３％のＭＰＢＳ（ＰＢＳ中の３％「Ｍａｒｖｅｌ」スキムミルク粉）で充填し、３７℃で２時間ブロックした。洗浄を繰り返し、１００μｇ／ｍｌの無関係な融合タンパク質を含有する５００μｌの３％ ＭＰＢＳ中のファージミド粒子（１０^{13}ｔｕ）を、添加し、このチューブを、３７℃で１時間静置インキュベートした。次いで、ファージミド粒子を、４℃で一晩、ＴＲ４（ＰＢＳ中、１０μｇ／ｍｌ）でコーティングされ、３７℃で２時間、３％のＭＰＢＳでブロックされた免疫チューブへと移した。このチューブを、３７℃で１時間静置インキュベートし、次いで、ＰＢＳＴ（０．１％（体積／体積）Ｔｗｅｅｎ２０を含有するＰＢＳ）で１０回洗浄し、そしてＰＢＳで１０回洗浄した。結合されたファージミド粒子を、室温で１０分間、１ｍｌの１００ｍＭトリエチルアミンで溶出し、次いで、０．５ｍｌ １Ｍ Ｔｒｉｓ．ＨＣｌ（ｐＨ７．４）で即座に中性にした。この溶出されたファージを、使用し、１０ｍｌの指数関数的に増殖するＥ．ｃｏｌｉ ＴＧ１を感染した。感染細胞を、軽い通気をしながら、３７℃で１時間、２ＹＴブロス中で増殖し、次いで、２ＹＴＡＧ寒天プレート（２４３ｍｍ×２４３ｍｍ；Ｎｕｎｃ）上に線画し、３０℃で一晩インキュベートした。コロニーを、プレートからこそげ取り、１０ｍｌの２ＹＴブロスに入れ、そして１５％（体積／体積）グリセロールを、－７０℃での保存のために添加した。

【０５２６】

次いで、ＴＲ４融合タンパク質上での第１回のパニングからのグリセロールストック培養液を、ヘルパーファージで重感染させ、そしてレスキューし、第２回のパニングのためのファージミド粒子を得た。２５μｌのグリセロールストックを、２５ｍｌの２ＴＹＡＧブロスに播種し、OD_{600nm}が０．７に達するまで、良好な通気をしながら３７℃でインキュベートした。Ｍ１３Ｋ０７ヘルパーファージ（ｍｏｉ＝１０）を、培養液に添加

し、次いで、３７℃で１５分間静置インキュベートし、次いで同一温度で４５分間振盪した。この培養液を、遠心分離し、細胞を、５０ｍｌの前もって暖められた２ＹＴＡＫに再懸濁させ、レスキューを、前記のように、３０℃で一晩実施した。ファージミド粒子を、精製し、前記のように濃縮し、ＰＢＳ中に10^{13}ｔｕ／ｍｌへと再懸濁した。続いての選択回で回収されたレパートリーを、重感染させ、同様の方法でレスキューした。

【０５２７】

４回のパニング選択を、実施し、個々のコロニーを、ＴＲ４への結合についてファージＥＬＩＳＡによってスクリーニングした。

【０５２８】

（ファージＥＬＩＳＡ）

各抗体の特異性を決定するために、ファージＥＬＩＳＡを、ＴＲ４融合タンパク質および無関係な融合タンパク質に対しての各抗体について実施した。

【０５２９】

ファージミドを含有する個々のＥ．ｃｏｌｉコロニーを、ウェル当たり１００μｌの２ＴＹＡＧ培地を含む９６ウェルプレートに播種した。プレートを、振盪しながら３７℃で４時間インキュベートした。Ｍ１３Ｋ０７ヘルパーファージを、ｍｏｉが１０になるまで、各ウェルに添加し、このプレートを、３７℃でさらに1時間インキュベートした。このプレートを、ベンチトップ遠心分離で、２０００ｒｐｍで１０分間遠心分離した。上清を除去し、細胞ペレットを、１００μｌの２ＴＹＡＫに再懸濁し、振盪しながら３０℃で一晩インキュベートした。次の日に、プレートを、２０００ｒｐｍで１０分間遠心分離し、各ウェルから１００μｌのファージ含有上清を、新規の９６ウェルプレートへと注意深く移した。２０μｌの６×ＭＰＢＳを、各ウェルに添加し、そして室温で1時間インキュベートし、ＥＬＩＳＡの前にファージをブロックした。

【０５３０】

可撓性の９６ウェルプレート（Ｆａｌｃｏｎ）を、ヒトＴＲ４（１μｇ／ｍｌ）または無関係な融合タンパク質（１μｇ／ｍｌ）で、４℃で一晩コーティングした。両方の抗原を、ＰＢＳ中でコーティングした。コーティングの後、溶液を、ウェルから除去し、そしてこのプレートを、ＭＰＢＳ中、室温で1時間ブロックした。このプレートをＰＢＳで3回洗浄し、次いで、前もってブロックされた５０μｌのファージを、各ウェルへと添加した。このプレートを、室温で1時間インキュベーションし、次いで、ＰＢＳＴを3回交換して洗浄し、その後、ＰＢＳを3回交換して洗浄した。

【０５３１】

各ウェルに、５０μｌの抗Ｍ１３－ＨＲＰ結合体（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）を、ＭＰＢＳ中に５０００分の１の希釈度で添加し、このプレートを、室温で1時間インキュベーションした。各プレートを、ＰＢＳＴで3回洗浄し、続いてＰＢＳで3回洗浄した。

【０５３２】

次いで、５０μｌのＴＭＢ基質を、各ウェルに添加し、そして３０分間または色を呈するまで室温でインキュベートした。この反応を、２５μｌの０．５Ｍ H_2SO_4 の添加によって停止した。発生したシグナルを、マイクロタイタープレートリーダー（Ｂｉｏ－Ｒａｄ　３５５０）を使用して、４５０ｎｍでの吸光度（A_{450}）を読み取ることによって測定した。

【０５３３】

ＥＬＩＳＡによってスクリーニングされた、１５００クローンのパネルから、２５０の抗体を、ＴＲ４融合タンパク質に結合するが、無関係の融合タンパク質には結合しない抗体として同定した。代表的なプレートのクローンの結果を、図１に示す。９５％の単離された抗体は、ＴＲ４融合タンパク質を認識したが、無関係の融合タンパク質を認識しなかった。

【０５３４】

（特異性ファージＥＬＩＳＡ）

ＴＲ４に結合する抗体の特異性を決定するために、ファージＥＬＩＳＡを、ヒトＴＲ４

融合タンパク質、ならびに、ヒト抗原ＴＲ７関係のパネル、ヒト抗原ＴＲ５関係のパネル、ヒト抗原ＴＲ１０関係のパネル、ヒト抗原ＢｌｙＳ関係のパネルおよびそれらに無関係のパネル（国際特許公開番号ＷＯ９８／１８９２１号およびＷＯ００／５０５９７号に記載され、これらは両方、その全体が参考として本明細書中に援用される）、無関係の融合タンパク質ならびにＢＳＡに対して実施した。

【０５３５】

ファージミドを含有する個々のＥ．ｃｏｌｉコロニーを、５ｍｌの２ＹＴＡＧに播種し、振盪しながら３７℃で４時間インキュベートした。Ｍ１３Ｋ０７ヘルパーファージ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）を、各チューブにｍｏｉが１０になるまで添加し、３０分間、３７℃で１時間（最初の３０分間静置し、そして最後の３０分間、緩やかに浸透しながら）インキュベートした。細胞を、３，５００ｒｐｍで１０分間遠心分離によって、ペレット化した。ファージを含有する上清（５ｍｌ）を、注意深く新規のチューブに移し、１ｍｌの６ＭＰＢＳを添加し、次いで、室温で１時間インキュベートし、ＥＬＩＳＡの前にファージを前もってブロックした。

【０５３６】

柔軟な、９６ウェルプレート（Ｆａｌｃｏｎ）を、各抗原（１μｇ／ｍｌ）で、４℃で一晩コーティングした。全ての抗原を、ＰＢＳ中でコーティングした。コーティングの後、溶液を、ウェルから除去し、このプレートを、ＭＰＢＳ中、室温で１時間ブロックした。このプレートを、ＰＢＳで３回洗浄し、次いで、５０μｌの、前もってブロックされたファージを、各ウェルに添加した。このプレートを、室温で１時間インキュベートし、次いで、ＰＢＳＴを３回交換して洗浄し、続いてＰＢＳを３回交換して洗浄した。

【０５３７】

各ウェルに、５０μｌの抗Ｍ１３－ＨＲＰ結合体（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）を、ＭＰＢＳ中、５０００分の１の希釈度で添加し、このプレートを、室温で１時間インキュベートした。各プレートを、ＰＢＳＴで３回洗浄し、続いてＰＢＳで３回洗浄した。

【０５３８】

次いで、５０μｌのＴＭＢ基質を、各ウェルに添加し、３０分間または色を呈するまで室温でインキュベートした。この反応を、２５μｌの０．５Ｍ H_2SO_4 の添加によって停止した。生成されたシグナルを、マイクロタイタープレートリーダー（Ｂｉｏ－Ｒａｄ　３５５０）を使用して、４５０ｎｍでの吸光度（A_{450}）を読み取ることによって、測定した。

【０５３９】

このアッセイを使用すると、ｓｃＦＶ、Ｔ１０１４Ｆ０８、Ｔ１０１４Ｇ０３、Ｔ１０１４Ａ０４、Ｔ１０１４Ｇ０４、Ｔ１０１４Ｂ１１、Ｔ１０１７Ｄ０９は、ＴＲ４を結合するが、ＴＲ７、ＴＲ５、ＴＲ１０、ＢＬｙＳ、または無関係の融合タンパク質を結合しないことを示され、このことは、抗体が、特異的にＴＲ４を認識することを示す。

【０５４０】

（実施例２：）

（ＴＲ４結合ポリペプチドの親和性のＢｉａｃｏｒｅ分析）

（材料）

ＢＩＡｃｏｒｅ２０００装置

ＢＩＡｃｏｒｅ２０００制御ソフトウェア、バージョン３．１．１

ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎ、バージョン３．１

ＢＩＡｃｏｒｅ　ＣＭ５　センサーチップ、カタログ番号ＢＲ－１０００－１４ロット番号０３６４（ＢＩＡｃｏｒｅ）

ＨＢＳ－ＥＰ緩衝液

アミンカップリングキットカタログ番号ＢＲ－１０００－５０（ＢＩＡｃｏｒｅ）

ＥＤＣ、カタログ番号１０４８－９５０３４５（ＢＩＡｃｏｒｅ）

ＮＨＳ、カタログ番号１０４８－９５０３４５（ＢＩＡｃｏｒｅ）

エタノールアミン、カタログ番号１０４８－９５０３４５（ＢＩＡｃｏｒｅ）

１０mM酢酸、ｐＨ４．０　カタログ番号ＢＲ１００３－５０ロット番号１８２１－９５０３８４４（ＢＩＡｃｏｒｅ）
ＴＲＡＩＬ－ＦＬＡＧ（Ａｌｅｘｉｓ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌｓ　カタログ番号５２２－００３－Ｃ０１０　ロット番号０４７９３／ａ）
温度は、全ての実験において、２５℃であった。

【０５４１】

（一般的方法）

ＴＲ４、ＴＲ５、ＴＲ７およびＴＲ１０（Ｆｃ融合タンパク質の形態で）を、ＢＩＡｃｏｒｅセンサーチップの個々のフローセルに固定化する。ＴＲ４－Ｆｃ融合タンパク質は、ＴＲ４（配列番号１）の残基Ｍ１～Ｉ２４０を含む。この融合タンパク質の翻訳後プロセシングは、ＴＲ４（配列番号１）の残基Ａ１０９～Ｉ２４０を含むＴＲ４－Ｆｃ融合タンパク質を生じる。ＴＲ５－Ｆｃ融合タンパク質は、ＴＲ５（配列番号２）の残基Ｒ７０～Ｓ２８２を含む。このタンパク質を、ＧＰシグナルペプチドを使用するバキュロウイルス発現系で発現する。従って、この融合タンパク質の翻訳後プロセシングは、Ｆｃ領域へと融合されたＴＲ５（配列番号２）のＲ７０～Ｓ２８２へと融合されたＧＰシグナルペプチド（Ａｌａ－Ａｓｐ－Ｐｒｏ）の最後の３残基を含むＴＲ５－Ｆｃ融合タンパク質を生じる。ＴＲ７－Ｆｃ融合タンパク質は、ＴＲ７（配列番号３）の残基Ｅ５２～Ｇ１８４を含む。このタンパク質を、ＧＰシグナルペプチドを使用するバキュロウイルス発現系で発現する。従って、この融合タンパク質の翻訳後プロセシングは、Ｆｃ領域へと融合されたＴＲ５（配列番号３）のＥ５２～Ｇ１８４へと融合されたＧＰシグナルペプチド（Ａｌａ－Ａｓｐ－Ｐｒｏ）の最後の３残基を含むＴＲ７－Ｆｃ融合タンパク質を生じる。ＴＲ１０－Ｆｃ融合タンパク質は、ＴＲ１０（配列番号４）の残基Ｍ１～Ｇ２０４を含む。この融合タンパク質の翻訳後プロセシングは、ＴＲ１０（配列番号４）の残基Ａ５６～Ｇ２０４を含むＴＲ１０－Ｆｃ融合タンパク質を生じる。

【０５４２】

アミンカップリングを使用して、各レセプター（Ｆｃ）をＣＭ５センサーチップ上のデキストランマトリクスへと共有結合する。このカップリングに対する最適ｐＨを、ｐＨ４～７にわたる前濃縮実験を使用して分析し、結合の勾配に基づいて決定する。

【０５４３】

実際のカップリングを、手動注入様式を使用して実施する。約２０００ＲＵの標的レベルを、全てのフローセルに対する目標として定める。（これは、レセプターの分子量に依存して２０００～３１００まで変化し得る）。固定化のための全てのレセプターの濃度は、１０mM酢酸（ｐＨ４．０）中、１０μｇ／ｍｌであった。全固定化実験を、５μｌ／分で実施する。ＥＤＣ／ＮＨＳ注入のための接触時間は、７分である。エタノールアミンを、７分間注入する。

【０５４４】

スクリーニングを、以下の手順で実施し得る。全結合サイクルの流速は、２５μｌ／分である。ｓｃＦｖに対応する抗体を、ＨＢＳ－ＥＰ中で希釈し、固定化されたＴＲＡＩＬレセプターを有する４つ全てのセルを通して流す。各サンプルは、４分間レセプターと接触される。再生を、１５μｌの２５mM　ＮａＯＨを使用して実施する。再生の成功は、抗体を除去することだけでなく、固定化されたレセプターを変性することとも考えられる。

【０５４５】

このスクリーニング実験のためのポジティブコントロールは、可溶性ＴＲＡＩＬリガンドの等価な（流速および時間長において）注入である。濃度は、１μｇ／ｍＬである。ネガティブコントロールは、ＨＢＳ－ＥＰ中での抗体希釈物の１対１０希釈である。データを、ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウェアパッケージを使用して分析し得る。

【０５４６】

（抗ＴＲ４抗体のＢｉａｃｏｒｅ分析）

上記に記載される一般的方法に基づく以下の実験において、ＴＲ４に対する特定の抗体

（本発明のｓｃＦｖに対応する）の親和性を、実験フローセル中のＴＲ４：Ｆｃレセプターおよびネガティブコントロールとしてで ＴＲ２：Ｆｃ（ＷＯ９６／３４０９５号に開示されるＴＲ２の１～２４０アミノ酸を含む）を使用する「二重標準減法」法を使用することによって決定した。

【０５４７】

（固定化）

このカップリングの最適ｐＨを、ｐＨ４～７にわたる前濃縮実験を使用して分析し、ＴＲ４レセプターおよびＴＲ２レセプターの両方についてｐＨ４．０であると決定した。アミンカップリングを使用し、各レセプター（ｆｃ）を、ＣＭ５センサーチップ上のデキストランマトリクスへと共有結合した。固定化実験を、手動注入様式を使用して実施した。全固定化実験を、５μｌ／分で実施した。ＥＤＣ／ＮＨＳ（１：１）の３分間の注入を、活性エステルに対して各フローセルに適用した。約２００ＲＵの標的レベルを、全ての各フローセルに対する目標として定めた。５μｇ／ｍＬの、Ｆｃ融合レセプター、ＴＲ４およびＴＲ２を、センサーチップの個々のフローセル上に固定化した。適用された量は、８～１４μＬまで変化した。３分間のエタノールアミン注入は、エステルを不活性化することによって固定化実験を終了した。

【０５４８】

（速度論：）

速度論的サイクルを以下の通りに実施した：全サイクルについての流速は、常に、コントロール（ＴＲ２）および実験（ＴＲ４）なフローセルの両方を備える、流路で２５μＬ／分であった。１分間の緩衝液注入を、ベースラインを安定化させるために適用した。精製した抗体（Ｔ１０１４Ａ０４　ｓｃＦｖ、Ｔ１０１４Ｇ０３　ｓｃＦｖ、Ｔ１０１４Ｆ０８　ｓｃＦｖ、およびＴ１４Ｇ０４　ｓｃＦｖのそれぞれのＶＨドメインおよびＶＬドメインを含むＩｇＧ１抗体）を、稼動緩衝液中に１０μｇ／ｍＬ（６５ｎＭ）～０．１１５μｇ／ｍＬ（０．７５ｎＭ）に希釈し、そして２連で試験した。各々の濃度を、４分間の結合相および１０分間の解離相の間、コントロール（ＴＲ２）および実験（ＴＲ４）フローセルと接触させた。再生を、サンプル濃度に依存して５～１２μＬの２５ｍＭ　ＮａＯＨを用いて実施した。

【０５４９】

（評価：）

緩衝液サイクルの差し引きに加えて、全てのサイクルについてコントロールフローセルの差し引きを参照する、二重参照減法（ｄｏｕｂｌｅ－ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ　ｓｕｂｔｒａｃｔｉｏｎ）を、実施した。１：１のラングミュアモデルを、全ての評価フィッティングについて使用した。これらの実験の結果を、以下の表５に示す。

【０５５０】

（表５：ＴＲ４に対する抗体の親和性）

【０５５１】

【表５】

クローン	ka	kd	K_D	Chi^2
T1014A04	5.67×10^5	2.65×10^{-4}	4.68×10^{-10}	2
T1014G03	3.50×10^5	1.94×10^{-4}	5.54×10^{-10}	0.76
T1014F08	1.23×10^6	1.02×10^{-4}	8.27×10^{-10}	1.83
T1014G04	6.05×10^5	1.18×10^{-4}	1.94×10^{-10}	1.14

【０５５２】

（実施例３）

（ＴＲ４に対するビオチン化ＴＲＡＩＬの結合の阻害）

（Ｉ．材料：）

１０×ＰＢＳ（Ｑｕａｌｉｔｙ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ｃａｔ １３０－０６９－１６１，Ｌｏｔ ７０８７１２）
Ｉｍｍｕｌｏｎ（登録商標）４マイクロプレート（Ｄｙｎｅｘ Ｃａｔ ３８５５，Ｌｏｔ ＮＤ５４０３１９）
ウシ血清アルブミン分画Ｖ（Ｓｉｇｍａ，＃５８Ｈ０４５６）
トリヒドロキシメチルアミノメタン（ＴＲＩＳ ＢＡＳＥ）
Ｔｗｅｅｎ ２０（Ｓｉｇｍａ）
ヤギ抗ヒトＦｃ（Ｓｉｇｍａ，Ｉ－２１３６，＃８９Ｈ４８７１）
ＴＲ－４：Ｆｃ（上記される通り）
ビオチン化ＴＲＡＩＬ（ＡＭ１００２００－Ｐｅｐｒｏｔｅｃｈ）
ＨＲＰ－ストレプトアビジン（Ｖｅｃｔｏｒ，＃Ｌ０３２８）
ＴＭＢペルオキシダーゼマイクロウェル基質システム（ＫＰＬ，Ｋｉｒｋｅｇａａｒｄ＆Ｐｅｒｒｙ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．）
H_2SO_4（Ｆｉｓｈｅｒ）
９６ウェル希釈プレート（Ｃｏｓｔａｒ）
（ＩＩ．緩衝液：）
コーティング緩衝液（１×ＰＢＳ）
ブロッキング緩衝液（ＰＢＳ中の３％ ＢＳＡ）
汎用希釈剤（ＰＢＳＴ中の１％ ＢＳＡ）
洗浄緩衝液（０．１％ Ｔｗｅｅｎ ２０および１×ＰＢＳ）
（ＩＩＩ．方法）
ヤギ抗ヒトＦｃを、コーティング緩衝液中に０．１μｇ／ｍＬに希釈される。Ｉｍｍｕｌｏｎ（登録商標）４マイクロプレートを、１ウェルあたり１００μＬのヤギ抗ヒトＦｃ溶液でコーティングし、そして４℃で一晩インキュベートする。コーティング溶液を、プレートからデカントし、そしてブロッキング溶液を、１ウェルあたり２００μＬで分配する。このプレートを、室温で１時間インキュベートする。１時間のインキュベーション期間の後、ブロッキング溶液を、プレートからデカントし、１μｇ／ｍＬのＴＲ４－Ｆｃを、１ウェルあたり１００μＬで分配し、そして室温で２時間インキュベートする。このインキュベーションの後、この相を、Ｗｈｅａｔｏｎマニホルドを用いて手動で５回洗浄する。

【０５５３】
本発明のｓｃＦｖに対応する抗体を、（前もって）希釈剤を用いて低い結合性の希釈プレートに調製する。この抗体を、２連で調製し、そして引き続く７つのウェルについて２．５倍希釈のストック濃度から希釈する。抗体の精製した形態が利用可能である場合、開始濃度は、５μｇ／ｍＬである。ポジティブコントロール（ＴＲ４－Ｆｃ）を、５μｇ／ｍＬから希釈する。１００μＬを、ＥＬＩＳＡプレート中に移し、そして室温で３０分間予めインキュベートする。２０μＬのビオチン化ＴＲＡＩＬを、５μｇ／ｍＬで１００μＬの上清に添加し、そして混合する。合わせた１２０μＬを、室温で２時間インキュベートする。

【０５５４】
２時間のインキュベーション後、洗浄サイクルを繰り返し、プレートをデカントし、そしてブロットする。ＨＲＰ－ストレプトアビジンを、１：２０００に希釈し、そして１ウェルあたり１００μＬを、分配する。インキュベーションは、室温で１時間である。一方、等量のＴＭＢペルオキシダーゼ基質およびペルオキシダーゼ溶液Ｂを、取り除き、そして溶液を、室温に平衡化する。

【０５５５】
１時間のインキュベーションの後、このプレートを、デカントし、ＰＢＳＴで５回洗浄し、そしてブロットする。ＴＭＢペルオキシダーゼ基質およびペルオキシダーゼ溶液Ｂを、合わせて、そして１００μＬを、各々のウェルに分配する。室温で１５分間で色が発生した。色の発生を、各々のウェルへ５０μＬの１Ｍ H_2SO_4 の添加によってクエンチ

する。このプレートを、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ製の分光器を使用して、４５０ｎｍで即座に読み取る。

【０５５６】

次いで、ＩＣ－５０（すなわち、５０％阻害のプラトーな結合を生じる精製された抗体の濃度）を、測定する。比較目的のために、ＴＲ４ポリペプチドを、このアッセイにおけるサンプルとして使用する。

【０５５７】

（実施例４：）

（アポトーシスを誘導するような抗ＴＲＡＩＬ－Ｒ１（ＴＲ４）抗体の能力についてのアッセイ）

（一般的な方法：）

抗ＴＲ４抗体を、ＴＲ４発現細胞の単独または化学療法剤もしくは架橋剤との組合せのアポトーシスを誘導するような、この抗体の能力について試験する。簡単には、抗体を、ＴＲ４発現細胞株（ＳＷ４８０およびＨｅＬａ）のＴＲ４媒介性アポトーシスを誘導するような活性について試験する。ＨＴ１０８０線維肉腫細胞株（これは、ＴＲ４を発現しない）を、ネガティブコントロールとして使用する。

【０５５８】

アポトーシスを誘導するために、ＨｅＬａ細胞またはＳＷ４８０細胞のいずれかを、示される濃度のモノクローナル抗体またはヒトＩｇＧ２ａコントロール抗体とともにインキュベートする。アッセイの１日前に、細胞（０．３×１０^{6}細胞／ｍｌ；１００μｌ／ウェル）を、９６ウェルプレートのウェルに播種し、一晩付着させる。次の日に、試験抗体を、２．０μｇ／ｍｌシクロヘキシミド（Ｓｉｇｍａ　Ｒ７５０１０－７）のあるかなしかのいずれかで添加する。いくつかの実施形態において、抗ＴＲ４モノクローナル抗体の効力を、ｒｈｕＴＲＡＩＬ－ＦＬＡＧタンパク質（Ａｌｅｘｉｓ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌｓ）と比較する。ｒｈｕＴＲＡＩＬを、示される濃度で、２μｇ／ｍｌの抗ＦＬＡＧエンハンサー抗体の存在下で使用する。二次架橋の効果はまた、単独または二次ヤギ抗ヒトＩｇＦｃ特異性抗体（ＳＩＧＭＡ）の存在下で、細胞を死滅するようなモノクローナル抗体の能力を測定することによって評価する。二次架橋抗体を、試験モノクローナル抗体と等濃度で細胞に添加する。モノクローナル抗体を介して細胞の死滅を感作する化学療法剤の能力を、トポテカン（Ｔｏｐｏｔｅｃａｎ）（Ｈｙｃａｍｔｉｎ，ＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ　Ｂｅｅｃｈａｍ　ＮＤＣ　０００７－４２０１－０１）の存在下でモノクローナル抗体とともに、Ｈｅｌａ細胞またはＳＷ４８０細胞のいずれかを処理することによって評価する。

【０５５９】

アッセイを、３７℃で１６～１８時間実施し、この後に、生存度を、製造者によって示唆される条件を用いて、試薬アラマーブルー（Ａｌａｍｅｒ　Ｂｌｕｅ）（Ｂｉｏｓｏｕｒｃｅ，カタログ番号ＤＡＬ１１００）を使用して明らかにする。アラマーブルーの蛍光を、ＣｙｔｏＦｌｕｏｒ蛍光リーダー（５３０ｎｍ励起および５９０ｎｍ発光）を用いて検出する。結果を、未処理細胞と比較した生存度％として表す。

【０５６０】

このアッセイ（および本発明の抗体とともに処理レジメンで使用される）で試験され得る他の化学療法剤としては、例えば、５－フルオロウラシル、エトポシド、タキソール、シスプラチン、シタバリン（サイトサル（Ｃｙｔｏｓａｒ））、ＩＦＮγ、カンプトセシン、イリノテカン（カンプトサル、ＣＰＴ－１１）、アドライマイシン（ドキソルビシン）、メトトレキサート、パラプラチン、インターフェロン－α、パクリタキセル、ドセタキセル、ＮＦ－κ－ＢインヒビターＳＮ５０、およびゲムシタビン（Ｇｅｍｚａｒ^{ＴＭ}）が挙げられる。このアッセイにおいて試験され得る他の細胞株としては、例えば、ヒトバーキットリンパ腫株ＳＴ４８６、ヒト乳癌細胞株ＭＤＡ－ＭＢ－２３１、ヒト子宮癌細胞株ＲＬ－９５、ヒト肺癌細胞株ＳＫ－ＭＥＳ－１、ヒト結腸癌細胞株、ＬＳ１７４Ｔ、ＨＴ２９、およびＨＣＴ１１６、ｓｕ．８６．８６およびＣＦＰＡＣ膵臓癌細胞株、ヒト卵

巣癌細胞株ＴＯＶ２１Ｇ、ならびにヒト肝細胞性（ｈｅｐｔｏｃｅｌｌｕｌａｒ）癌細胞株ＳＮＵ４４９が挙げられる。これらの癌細胞株が誘導される組織に対応する組織の癌は、本発明に従う治療組成物で処置され得る。

【０５６１】

（抗ＴＲ４抗体の分析）

上記アッセイを用いて、完全なＩｇＧ１分子に変換された本発明のいくつかのｓｃＦＶを、ＴＲ４１（ＴＲ４）発現細胞のアポトーシスを誘導するような能力について試験した。Ｔ１０１４Ａ０４のＩｇＧ１フォーマットは、シクロヘキシミドの非存在下だが、架橋剤の存在下で、ＳＷ４８０細胞のアポトーシスを誘導する。架橋剤があるかなしかだが、シクロヘキシミドの存在下で、Ｔ１０１４Ａ０４のＩｇＧ１フォーマットは、ＳＷ４８０細胞およびＨｅＬａ細胞のアポトーシスを誘導する。シクロヘキシミドの存在下でのＴ１０１４Ａ０４のＩｇＧ１を用いる処理によるＳＷ４８０細胞およびＨｅＬａ細胞の死滅は、架橋剤もまた使用される場合、より大きい。実際に、架橋剤およびシクロヘキシミドの存在下では、Ｔ１０１４Ａ０１のＩｇＧ１フォーマットは、等濃度（ｎｇ／ｍｌにて）の可溶性ＴＲＡＩＬよりも、よりアポトーシスを誘導し得る。Ｔ１０１５Ａ０２のＩｇＧ１フォーマットは、感作剤シクロヘキシミドの非存在下で死滅を誘導しない。架橋剤があるかなしかで、シクロヘキシミドの存在下で、Ｔ１０１５Ａ０２のＩｇＧ１フォーマットは、ＳＷ４８０細胞のアポトーシスを誘導するが、ＨｅＬａ細胞のアポトーシスを誘導しない。Ｔ１０１５Ａ０２のＩｇＧ１フォーマットを用いる処理によるＳＷ４８０の死滅は、架橋剤の存在下でより大きい。

【０５６２】

さらに、この実施例で記載されるアッセイはまた、ＴＲ４発現細胞に対する１よりも多い抗ＴＲ４抗体の効果を試験するために使用され得る。例えば、細胞は、ＴＲ４に特異的に結合する抗体およびＴＲ７に特異的に結合する抗体の両方で処理され得る。上記のように、この実験は、１つ以上の化学療法剤または架橋剤のあるかなしかで実施され得る。本発明のこの実験の抗体の別のバリエーションは、ＴＲＡＩＬの存在下で使用される場合、アポトーシスを誘導する効果について試験され得る。抗ＴＲ４および抗ＴＲ７を用いる二重処理によって誘導されるアポトーシスの量は、抗ＴＲ４または抗ＴＲ７のいずれかを単独で用いる処理と比較して相乗的であり得る。このような効果は、この実験が、化学療法剤および／または架橋剤の存在下で実施される場合に、より断言され得る。

【０５６３】

（実施例５：）

（ＶＨドメインおよびＶＬドメインの同定およびクローニング）

特定の抗体を発現する細胞株由来のＶＨドメインおよびＶＬドメインを、同定およびクローン化するための１つの方法は、この抗体を発現する細胞株から作製されたｃＤＮＡに対して、ＶＨ特異的プライマーおよびＶＬ特異的プライマーを用いてＰＣＲを実施することである。簡単には、ＲＮＡを、細胞株から単離し、そしてＥＢＶ細胞株によって発現される抗体のＶＨドメインおよびＶＬドメインを増幅するように設計されたＲＴ－ＰＣＲのためのテンプレートとして使用する。細胞を、ＴＲＩｚｏｌ（登録商標）試薬（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ．ＭＤ）中で溶解し得、５分の１容量のクロロホルムで抽出し得る。クロロホルムの添加後、溶液を、室温で１０分間インキュベートさせ、そして卓上遠心分離機にて、４℃で１５分間、１４，０００ｒｐｍで遠心分離する。上清を収集し、そしてＲＮＡを、等量のイソプロパノールを用いて沈澱させる。沈澱したＲＮＡを、卓上遠心分離機にて、４℃で１５分間、１４，０００ｒｐｍで遠心分離することによってペレット化する。遠心分離に続いて、上清を、捨て去り、そして７５％エタノールで洗浄する。洗浄に続いて、ＲＮＡを、再び、４℃で５分間８００ｒｐｍで遠心分離する。上清を、捨て去り、そしてペレットを、風乾させる。ＲＮＡを、ＤＥＰＣ水中に溶解し、そして１０分間６０℃まで加熱する。ＲＮＡの量を、光学密度測定を用いて決定し得る。

【０５６４】

ｃＤＮＡを、当該分野に周知の方法に従って、逆転写酵素およびランダムヘキサマープライマーを用いて１．５μｇ～２．５μｇのＲＮＡから合成し得る。次いで、ｃＤＮＡを、ＶＨドメインおよびＶＬドメインのＰＣＲ増幅のためのテンプレートとして使用する。ＶＨ遺伝子およびＶＬ遺伝子を増幅するために使用されるプライマーを、表６に示す。代表的には、ＰＣＲ反応は、単一の５’プライマーおよび単一の３’プライマーを利用する。時折、利用可能なＲＮＡテンプレートの量が制限される場合か、またはより高い効率のために、５’プライマーおよび／または３’プライマーのグループを、使用し得る。例えば、時折、５つ全てのＶＨ－５’プライマーおよび全てのＪＨ３’プライマーを、単一のＰＣＲ反応において使用する。ＰＣＲ反応を、１×ＰＣＲ緩衝液、２ｍＭの各々のｄＮＴＰ、０．７単位のＨｉｇｈ　Ｆｉｄｅｌｉｔｙ　Ｔａｑポリメラーゼ、５’プライマーミックス、３’プライマーミックスおよび７．５μｌのｃＤＮＡを含む５０μｌの容量で実施する。ＶＨおよびＶＬの両方の５’プライマーミックスおよび３’プライマーミックスを、個々のプライマーの各々２２ｐｍｏｌおよび２８ｐｍｏｌと一緒にプールすることによってそれぞれ作製し得る。ＰＣＲ条件は、以下の通りである：９６℃で５分間；続いて９４℃で１分間、５０℃で１分間、および７２℃で１分間の２５サイクル；続いて７２℃で１０分間の伸長サイクル。この反応が完了後、サンプルチューブを、４℃で保管した。

【０５６５】

（表６：ＶＨドメインおよびＶＬドメインを増幅するために使用されるプライマー配列）

【０５６６】

【表６】

プライマー名	配列番号	プライマー配列 (5'-3')
VHプライマー		
Hu VH1-5'	6	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGG
Hu VH2-5'	7	CAGGTCAACTTAAGGGAGTCTGG
Hu VH3-5'	8	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGG
Hu VH4-5'	9	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGG
Hu VH5-5'	10	GAGGTGCAGCTGTTGCAGTCTGC
Hu VH6-5'	11	CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGG
Hu JH1,2-5'	12	TGAGGAGACGGTGACCAGGGTGCC
Hu JH3-5'	13	TGAAGAGACGGTGACCATTGTCCC
Hu JH4,5-5'	14	TGAGGAGACGGTGACCAGGGTTCC
Hu JH6-5'	15	TGAGGAGACGGTGACCGTGGTCCC
VLプライマー		
Hu Vκ 1-5'	16	GACATCCAGATGACCCAGTCTCC
Hu Vκ 2a-5'	17	GATGTTGTGATGACTCAGTCTCC
Hu Vκ 2b-5'	18	GATATTGTGATGACTCAGTCTCC
Hu Vκ 3-5'	19	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCC
Hu Vκ 4-5'	20	GACATCGTGATGACCCAGTCTCC
Hu Vκ 5-5'	21	GAAACGACACTCACGCAGTCTCC
Hu Vκ 6-5'	22	GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCC
Hu Vλ 1-5'	23	CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCC
Hu Vλ 2-5'	24	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGC
Hu Vλ 3-5'	25	TCCTATGTGCTGACTCAGCCACC
Hu Vλ 3b-5'	26	TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCC
Hu Vλ 4-5'	27	CACGTTATACTGACTCAACCGCC
Hu Vλ 5-5'	28	CAGGCTGTGCTCACTCAGCCGTC
Hu Vλ 6-5'	29	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCA
Hu Jκ 1-3'	30	ACGTTTGATTTCCACCTTGGTCCC
Hu Jκ 2-3'	31	ACGTTTGATCTCCAGCTTGGTCCC
Hu Jκ 3-3'	32	ACGTTTGATATCCACTTTGGTCCC
Hu Jκ 4-3'	33	ACGTTTGATCTCCACCTTGGTCCC
Hu Jκ 5-3'	34	ACGTTTAATCTCCAGTCGTGTCCC
Hu Jλ 1-3'	35	CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCC
Hu Jλ 2-3'	36	CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGC
Hu Jλ 3--3'	37	TCCTATGTGCTGACTCAGCCACC
Hu Jλ 3b-3'	38	TCTTCTGAGCTGACTCAGGACCC
Hu Jλ 4-3'	39	CACGTTATACTGACTCAACCGCC
Hu Jλ 5-3'	40	CAGGCTGTGCTCACTCAGCCGTC
Hu Jλ 6-3'	41	AATTTTATGCTGACTCAGCCCCA

【０５６７】

次いで、ＰＣＲサンプルを、１．３％アガロースゲル状で電気泳動させる。予想されるサイズのＤＮＡバンド（ＶＨドメインについて約５０６塩基対、およびＶＬドメインについて３４４塩基対）を、ゲルを切り取り得、そして当該分野に周知の方法を用いて精製し得る。精製したＰＣＲ産物を、ＰＣＲクローニングベクター（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ Ｉｎｃ．，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ製のＴＡベクター）中に連結し得る。個々のクローン化ＰＣＲ産物を、Ｅ．ｃｏｌｉのトランスフェクションおよび青／白色選択の後に、単離し得る。次いで、クローン化ＰＣＲ産物を、当該分野に一般的に公知の方法を用いて、配列決定し得る。

【０５６８】

（実施例６：ヌードマウスにおける腫瘍細胞の増殖に関する抗ＴＲ４抗体）

ＳＷ４８０（結腸直腸腺癌）腫瘍細胞株を、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎから入手した説明書によりウシ胎仔血清、グルタミンおよび抗生物質を補充したＬｅｉｂｏｖｉｔｚのＬ－１５培地中、インビトロで維持した。３～１０継代の細胞を、インビボでの研究について使用した。腫瘍細胞を、Ｔ－１５０フラスコから収集し、滅菌ＰＢＳでリンスし、次いで５（１０４）細胞／μｌの密度で滅菌生理

食塩水中に再懸濁した。腫瘍細胞を、動物あたり２部位、１部位あたり10^7細胞の密度で、Ｓｗｉｓｓ無胸腺症マウスの上背または側腹上の皮下に移植した。予防的な（新規）腫瘍モデルにおいて、化学療法剤および抗体処理を、腫瘍細胞播種２４時間後に開始した。

【０５６９】

Ｔ１０１４Ａ０４またはＴ１０１４Ｇ０３のいずれか由来のＶＨドメインおよびＶＬドメインを含む抗体を用いる、抗体処理（この実施例において以下「Ｔ１０１４Ａ０４」または「Ｔ１０１４Ｇ０３」）は、以下の通りであった：１０ｍｇ／ｋｇ（腹腔内）の維持量で腫瘍細胞の注射２４時間後、負荷用量：２０ｍｇ／ｋｇ（静脈内（ｉｎｔａｖｅｎｏｕｓｌｙ））。Ｔ１０１４Ａ０４の維持量を、４日目、７日目、１０日目、１３日目および１６日目に与えた。Ｔ１０１４Ｇ０３の維持量を、４日目、７日目、１０日目、１４日目、２２日目および２５日目に与えた。トポテカンは、この実験で使用される化学療法剤であった。Ｔ１０１４Ａ０４を用いる実験において、トポテカンの用量および投薬頻度は、以下の通りであった：実験の１日目、２日目、３日目、４日目、７日目、１０日目、１４日目、１８日目、２２日目、および２５日目に腹腔内に、０．３ｍｇ／ｋｇまたは０．６ｍｇ／ｋｇのいずれか。Ｔ１０１４Ｇ０３を用いる実験において、トポテカンの用量および投薬頻度は、以下の通りであった：実験の１日目、２日目、３日目、４日目、７日目、１０日目、１３日目、および１６日目に腹腔内に、０．３ｍｇ／ｋｇまたは０．６ｍｇ／ｋｇのいずれか。

【０５７０】

Ｔ１０１４Ａ０４またはＴ１０１４Ｇ０３を、トポテカンとともに投与した場合、腫瘍サイズにおける有意な減少を、観察した。抗体単独を用いた処理は、より遅れた時点で腫瘍増殖を減少し得る（図１～３を参照のこと）。

【０５７１】

上記のアッセイはまた、インビボでの腫瘍細胞の増殖に対する１つより多くの抗ＴＲ４抗体を用いる処理の効果を試験するために使用され得る。例えば、腫瘍細胞が注射された細胞は、ＴＲ４に特異的に結合する抗体、およびＴＲ７に特異的に結合する抗体の両方で処置され得る。上記のように、この実験は、１つ以上の化学療法剤のあるかなしかで実施され得る。本発明のこの実験の抗体の別のバリエーションは、ＴＲＡＩＬと組合わせて投与され得る。抗体単独のいずれかを用いる処置と比較されるように、腫瘍細胞の増殖を阻害するこのような治療の能力を、上記されるような方法を用いてアッセイし得、そしてこの組合わせ治療で得られた結果と、抗ＴＲ４抗体単独またはＴＲ７抗体単独のいずれかを用いる処置から得られた結果とを比較してアッセイし得る。

【０５７２】

（実施例７：ヒト肝細胞に対する抗ＴＲ４抗体の効果）

ヒト始原肝細胞におけるＴ１０１４Ｇ０３（ロットＡＢ２２１２５－Ｍ２）の効果を、カスパーゼ活性化または細胞生存度のいずれかを測定することによって決定した。ヒト肝細胞を、１５．６ｎｇ／ｍＬ、６２．５ｎｇ／ｍＬ、２５０ｎｇ／ｍＬもしくは１０００ｎｇ／ｍＬのＴＲＡＩＬ（アミノ酸残基１１４～２８１、Ｂｉｏｍｏｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ Ｉｎｃ，Ｐｌｙｍｏｕｔｈ Ｍｅｅｔｉｎｇ，ＰＡ）、６２．５ｎｇ／ｍｌ、１２５ｎｇ／ｍｌ、２５０ｎｇ／ｍｌ、もしくは１０００ｎｇ／ｍｌのアイソタイプコントロールｍＡｂ（ｈＩｇG_1、ＣＡＴ００２）、または６２．５ｎｇ／ｍｌ、１２５ｎｇ／ｍｌ、２５０ｎｇ／ｍｌ、もしくは１０００ｎｇ／ｍｌのＴ１０１４Ｇ０３で処理した。カスパーゼの活性化を、処理後６時間で決定し、一方、生存度を、処理後２４時間で決定した。

【０５７３】

カスパーゼ活性を、カスパーゼ基質ローダミン結合体化ＤＥＶＤを利用する蛍光測定アッセイ（例えば、Ｒｏｃｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌｓ（Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ）から入手可能なＨｏｍｏｇｅｎｅｏｕｓ Ｆｌｕｏｒｉｍｅｔｒｉｃ Ｃａｓｐａｓｅｓ Ａｓｓａｙ）を用いて測定した。細胞生存度を、ＡＬＡＭ

ＡＲ Ｂｌｕｅ™（Ｂｉｏｓｏｕｒｃｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｃａｍａｒｉｌｌｏ，ＣＡ）アッセイを用いて決定した。ＴＲＡＩＬは、試験した全ての濃度で細胞生存度を減少させ、そして試験した最高濃度でカスパーゼ活性を誘導した。ＴＲＡＩＬと対照的に、Ｔ１０１４Ｇ０３処理は、ヒト肝細胞において、カスパーゼまたは細胞生存度のいずれにも効果を見出されなかった。

【０５７４】

（実施例８：ＲＬ９５－２子宮癌異種移植モデル）

本実験の目的は、Ｔ１０１４Ｇ０３を単一の因子として用いる場合に、Ｔ１０１４Ｇ０３が無胸腺症マウスでのＲＬ９５－２腫瘍の増殖パターンを変更し得るか否かを試験することである。

【０５７５】

ＲＬ９５－２は、無胸腺症マウスに皮下注射した場合に固体腫瘍を形成する子宮腺癌細胞株である。ＲＬ９５－２細胞は、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１を発現することが示されており、任意の感作剤の非存在下でＴ１０１４Ｇ０３誘導性アポトーシスに対してインビトロで感受性である。これらの知見に基づいて、無胸腺症マウスでのＲＬ９５－２モデルを、予め存在する腫瘍の縮小に対するインビボでのＴ１０１４Ｇ０３の効力を試験するために選択した。これらの実験において、Ｔ１０１４Ｆ０８は、ネガティブコントロール（ｈｕＩｇＧλ）として働いた。Ｔ１０１４Ｆ０８は、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１を結合するが、アゴニスト活性を有することは観察されなかった。

【０５７６】

対数増殖期のＲＬ９５－２細胞を、ヌードマウスにＳＣで注射した（１０，０００，０００細胞／マウス）。３日後、腫瘍サイズを測定し、そしてこの動物を、全ての処置群が５×５ｍｍのサイズの腫瘍を有するように種々の処置群（６匹の動物／処置群）に分けた。４日目、８日目、１２日目および１６日目に０．２ｍｇ／Ｋｇ用量、２．０ｍｇ／Ｋｇ用量および２０ｍｇ／Ｋｇ用量のＴ１０１４Ｇ０３抗体またはＴ１０１４Ｆ０８抗体を、マウスに注射（ＩＰ）した。腫瘍サイズを、３日目～４３日目に週に２度モニタリングした。ビヒクル（生理食塩水）注射を受けたマウスは、コントロールとして働いた。データを、非パラメーター（ｎｏｎ－ｐａｒａｍｅｔｒｉｃ）マンホイットニー試験によって分析し、そして３日目の腫瘍サイズに関する腫瘍サイズの倍数増加（ｆｏｌｄ ｉｎｃｒｅａｓｅ）として表した。腫瘍の増殖は、コントロール動物およびＴ１０１４Ｆ０８処置した動物と比較して、２０ｍｇ／ＫｇでＴ１０１４Ｇ０３抗体処置したマウスにおいて有意に抑制された。０．２ｍｇ／Ｋｇおよび２．０ｍｇ／ＫｇでのＴ１０１４Ｇ０３抗体の効果は、コントロールと有意に異ならなかった。このデータは、予め確立した腫瘍細胞の増殖を阻害するＴ１０１４Ｇ０３の能力を示す。

【０５７７】

上記のアッセイをまた使用して、１つより多い抗ＴＲ４抗体での処置の、予め確立した腫瘍の増殖に対するインビボでの効果を試験し得る。例えば、腫瘍細胞が注射されている動物を、ＴＲ４を特異的に結合する抗体およびＴＲ７を特異的に結合する抗体の両方で処置し得る。上記のように、この実験を、１つ以上の化学療法剤の存在下または非存在下で行い得る。本実験の別の改変において、本発明の抗体は、ＴＲＡＩＬと組合わせて投与し得る。いずれかの抗体単独での処置と比較した場合でのこのような組合わせ療法の腫瘍の増殖を阻害する能力または腫瘍を除去する能力を、上記で詳細に記載した方法を使用してアッセイし、そしてこの組合わせ療法で得られた結果と抗ＴＲ４抗体または抗ＴＲ７抗体のいずれか単独での処置から得られた結果との間で比較し得る。

【０５７８】

（実施例９：ＴＲＡＩＬ Ｒ１（ＴＲ４）の発現についての原発腫瘍組織の免疫組織化学）

膀胱、乳房、結腸、肝臓、肺、卵巣および膵臓の原発ヒト腫瘍組織を、ヤギ抗ヒトＴＲＡＩＬ－Ｒ１ポリクローナル抗体（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ）で染色した。この抗体は、ＴＲＡＩＬ－Ｒ１発現構築物でトランスフェクトした細胞を染色するが、ベクターコント

ロールでトランスフェクトした細胞は染色しない。染色データを、以下の表７に示す。ポジティブ染色を、特定の乳房、結腸、肺および胃の癌組織で観察した。対照的に、同一の器官由来の正常ヒト組織サンプルは、特異的な染色を有さなかった。さらに、正常ヒトおよびサルの肝臓サンプルおよび脾臓サンプルにおいて、特異的な染色は観察されなかった。

（表７：ヒト腫瘍および正常組織の免疫組織化学染色）

【０５７９】

【表７】

腫瘍サイズ	#評価	ポジティブ	+/-	ネガティブ
膀胱	2	0	1	1
乳房	2	1	0	1
結腸	2	1	1	0
肝臓	2	0	1	1
肺	2	2	0	1
卵巣	1	0	0	1
膵臓	2	0	0	2
胃	1	1	0	0
合計	**14**	**5**	**3**	**6**
正常組織				
膀胱	1	0	0	1
乳房	0	0	0	0
結腸	1	0	0	1
肝臓	1	0	1	0
肺	1	0	0	1
卵巣	1	0	0	1
膵臓	1	0	0	1
胃	0	0	0	0
合計	**6**	**0**	**1**	**5**

【０５８０】

（実施例１０：抗体産生および精製）

以下の実施例は、本発明の抗体を作成するために使用し得る大規模抗体産生法および精製法を記載する。当業者は、以下に記載するプロトコルに対する慣用的な改変（例えば、カラム選択、カラム緩衝液、ローディング緩衝液、洗浄緩衝液および溶出緩衝液およびｐＨ）を知っている。

【０５８１】

（細胞培養スケールアップおよび抗体産生）

無血清であり動物供給源のない培地（ＨＧＳ－ＮＳ０ＳＦ）を、スケールアップを介する細胞融解からバイオリアクターの産生まで使用する。ｌ－グルタミン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ／Ｌｉｆｅ　ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を含まない１ＬのＣＤハイブリドーマ培地に、２０ｍＬ／Ｌ　ＧＳ補充物、および１ｍＬ／Ｌ　コレステロール（合成）脂質濃縮物を添加することによって、ＨＧＳ－ＮＳ０ＳＦ増殖培地を調製する。この培地を、２～８℃で使用するまで保存する。

【０５８２】

（ＭＣＢバイアルからの細胞融解）

３７℃の水浴で、約１６×１０^{6}細胞を融解する。この細胞を、Ｔ－２２５培養フラスコ中に移して、約３．０×１０^{5}細胞／ｍＬの播種密度を有する約５０ｍＬの作業容量を得る。次いで、培養フラスコを、５％CO_2を有する加湿CO_2インキュベーター中に３７℃で４日間置く。

【０５８３】

（スピナーフラスコ中での培養の第１の拡張）

この培養物を、５００ｍＬのスピナーフラスコ中に無菌的に拡張して、約３００ｍＬの作業容量（約２．２×１０^{5}細胞／ｍＬの播種細胞密度）を得る。次いで、このスピナーフラスコを、５％CO_2を有する加湿CO_2インキュベーター中の磁気攪拌器上に３７℃で４日間置く。このスピナーフラスコの攪拌速度は、８０ｒｐｍである。

【０５８４】
この培養物を、３０００ｍＬのスピナーフラスコ中に再度無菌的に拡張して、約１５００ｍＬの作業容量（約２．２×１０^{5}細胞／ｍＬの播種細胞密度）を得る。次いで、このスピナーフラスコを、５％CO_2を有する加湿CO_2インキュベーター中の磁気撹拌器上に３７℃で４日間置く。このスピナーフラスコの撹拌速度は、８０ｒｐｍである。十分量の細胞培養物が種バイオリアクターを播種するために蓄積される場合、工程４に進む。そうでない場合、この培養物を、細胞培養物の十分量が種バイオリアクターを播種するために蓄積されるまで、合計３～４回の拡張のために複数の３０００ｍＬのスピナーフラスコ中に無菌的に拡張する。

【０５８５】
（種培養物）
種バイオリアクターは、混合のための２つのインペラー、溶存酸素プローブ、温度プローブ、ｐＨプローブ、無菌的サンプリングシステムおよびさらなるシステムを備える。細胞培養プロセスの第１の工程は、バイオリアクターへのＨＧＳ－ＮＳ０ＳＦ培地の添加である。ＨＧＳ－ＮＳ０ＳＦ培地の温度が３７±０．５℃に達した後に、溶存酸素（ＤＯ）レベルおよびｐＨレベルを、N_2およびCO_2の添加によって安定化させて、溶存酸素濃度を３０±５％空気飽和まで低減させ、そして７．２０±０．１０のｐＨを得る。撹拌速度は８０ｒｐｍである。プールした細胞培養物を、滅菌ＨＧＳ－ＮＳ０ＳＦ増殖培地を含む１５Ｌの種バイオリアクターに無菌的に移して、約２．２×１０^{5}細胞／ｍＬの播種細胞密度を有する培養物を得る。培養プロセスの間、熱ブランケットおよび冷却フィンガーを介して温度を維持し、スパージャーおよび表面エアレーションを介して酸素濃度を維持し、そしてCO_2ガスを添加してｐＨを下げることによってｐＨを調節する。培養期間は５～６日間である。バイオリアクター空気口を、０．２μｍの疎水性開口部フィルターによって保護する。

【０５８６】
（産生培養物）
産生バイオリアクターは、混合のための２つのインペラー、２つの溶存酸素プローブ、温度プローブ、２つのｐＨプローブ、無菌的サンプリングシステムおよびさらなるシステムを備える。８０ＬのＨＧＳ－ＮＳ０ＳＦ増殖培地を、１００Ｌの産生バイオリアクターに無菌的に移す。ＨＧＳ－ＮＳ０ＳＦ増殖培地の温度が３７±０．５℃に達した後に、ＤＯレベルおよびｐＨレベルを、N_2およびCO_2の添加によって安定化させて、溶存酸素濃度を３０±５％空気飽和まで低減させ、そして７．２０±０．１０のｐＨを得る。撹拌速度は４５ｒｐｍである。１５Ｌの種培養物を、この産生バイオリアクターに無菌的に移して、約２．２×１０^{5}細胞／ｍＬの播種細胞密度を有する細胞培養物を得る。培養プロセスの間、熱交換器を介して温度を維持し、スパージャーおよび表面エアレーションを介して酸素濃度を維持し、そしてCO_2ガスを添加してｐＨを下げることによってｐＨを調節する。播種の３日後、細胞密度が約１．０×１０^{6}細胞／ｍＬに達した場合、約６ＬのＨＧＳ－ＮＳ０ＳＦフェド－バッチ（ｆｅｄ－ｂａｔｃｈ）培地を、この産生バイオリアクター内にフィードした。抗体を含有するこの産生培養物を、フィードの５日後に収集した。

【０５８７】
（回収および精製）
（細胞上清の収集）
細胞上清（例えば、本発明の抗体を発現するＮＳＯ細胞からの細胞上清）を、フェド－バッチ細胞培養プロセスを使用して、最終産生バイオリアクターにおける最終フィードの５日または６日後に収集する。抗体濃度が少なくとも４００ｍｇ／Ｌに達する場合に、この収集プロセスを開始する。この産生バイオリアクター内の細胞培養温度を、収集の時点で１５℃まで下げ、回収の間その温度で維持する。深度（ｄｅｐｔｈ）濾過プロセスを、細胞除去および抗体回収のために使用する。この濾過プロセストレインは、連続して連結された４．５μｍ、０．４５μｍおよび０．２μｍのポアサイズのフィルターから構成さ

れる。１．００Ｌ／分の定常流速を、１５ｐｓｉまでのクロスフィルター圧調節での操作の間維持する。０．２μｍで濾過された培養上清を、処理バッグ中に回収し、そして精製のために移した。

【０５８８】

この精製プロセスを、２２℃～２６℃で行う。

【０５８９】

（ＭＥＰ　ＨｙｐｅｒＣＥＬ　ＨＣＩＣカラムでのクロマトグラフィー）

この培養上清を、５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ、０．５Ｍ塩化ナトリウム（ｐＨ７．５）で平衡化した、Ｃｉｐｈｅｒｇｅｎ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓより入手可能な疎水性電荷相互作用クロマトグラフィー（ＨＣＩＣ）であるＭＥＰ　ＨｙｐｅｒＣＥＬ™カラム、または等価カラムにロードする。このＭＥＰカラムを、２５ｍＭクエン酸ナトリウム、０．１５Ｍ塩化ナトリウム（ｐＨ６．４）で洗浄し、２５ｍＭクエン酸ナトリウム、０．１５Ｍ塩化ナトリウム（ｐＨ４．４）で溶出する。この溶出を、２８０ｎｍでの紫外（ＵＶ）吸収によってモニタリングする。ピーク画分を回収し、A_{280}およびＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析する。適切な画分をプールする。

【０５９０】

（ウイルス不活化）

このＭＥＰカラムからの溶出物を、１Ｍクエン酸でｐＨ３．４±０．２に調整し、そしてウイルス不活化のために４５～６０分間静置させる。次いで、この溶液を、１Ｍ　Ｔｒｉｓベースでｐ Ｈ５．０に再調整する。

【０５９１】

（ＳＰ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ　ＦＦカラムでのクロマトグラフィー）

ＭＥＰカラムからの不活化した溶出物を、５ｍＳ／ｃｍの伝導率に注射用蒸留水（ＷＦＩ）で希釈し、６５ｍＭ酢酸ナトリウム（ｐＨ５．０）で平衡化した、ＳＰ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ　ＦＦ（カチオン交換クロマトグラフィー、Ａｍｅｒｓｈａｍ－Ｐｈａｒｍａｃｉａ）カラムまたは等価カラムにロードする。抗体を、２０ｍＭクエン酸ナトリウム、０．１５Ｍ塩化ナトリウム、１．９％グリシン（ｐＨ７．１）でＳＰカラムより溶出する。この溶出を、２８０ｎｍでの紫外（ＵＶ）吸収によってモニタリングする。ピーク画分を回収し、A_{280}およびＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析する。適切な画分をプールする。

【０５９２】

（ウイルス除去濾過、ダイアフィルトレーションおよび濃縮）

このＳＰ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ　ＦＦカラムからの溶出物を、連続的に連結した０．２μｍフィルターおよびＰａｌｌ　ＤＶ５０ウイルス除去フィルターを通して濾過する。このＤＶ５０濾過物を、３０ｋＤ　ＭＷカットオフ膜デバイス（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｐｅｌｌｉｃｏｎ）中に置いて、３５～４０ｍｇ／ｍＬの標的濃度に濃縮し、そして１０ｍＭクエン酸ナトリウム、１．９％グリシン、０．５％蔗糖（ｐＨ６．５）に対してダイアフィルトレーションする。このダイアフィルトレーションした物質を、A_{280}でモニタリングする。このダイアフィルトレーションしたバルクを、０．２μｍで濾過し、２～８℃で２４時間保存する。

【０５９３】

（Ｑ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ　ＦＦカラムでのクロマトグラフィー）

このダイアフィルトレーションしたＴＲＭ－１溶液を、１０ｍＭ酢酸ナトリウム、１．９％グリシン、０．５％蔗糖（ｐＨ６．５）で平衡化した、Ｑ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ　ＦＦカラム（アニオン交換クロマトグラフィー、Ａｍｅｒｓｈａｍ－Ｐｈａｒｍａｃｉａ）または等価カラムにロードする。抗体を、フォロースルー中に回収し、A_{280}でモニタリングする。適切な画分をプールし、そして最終標的濃度は、２５ｍｇ／ｍＬである。

【０５９４】

（バルク処方、濾過およびバルク薬物物質充填）

Ｐｏｌｙｓｏｒｂａｔｅ　８０（２％ストック溶液）を、０．２μｍフィルターで予め濾過し、そして工程７から最終濃度０．０２％まで抗体様液を添加する。この精製した抗

体を、０．２μｍフィルターを通して薄層フローフードの下で無菌的に濾過し、そしてポリプロピレン容器に充填する。

【０５９５】

（バルク薬物物質の貯蔵）

このバルク薬物物質を、生成物の放出の前に２～８℃（短期間の貯蔵）または－６５℃より低温（長期間貯蔵）で貯蔵する。各バッチについて収集時での未処理の産生バイオリアクター培養物の進行試験（ｉｎ－ｐｒｏｃｅｓｓ　ｔｅｓｔｉｎｇ）および精製プロセスの間の進行試験を、行う。このバイオリアクターを無菌的にサンプリングし、そしてこの培養物を、精製のために供給された材料の一貫性を確認するために、細胞密度、生存度および栄養素の決定について培養を通じて種々の時点で試験する。この精製プロセスを、各工程でモニタリングする。外観を、視覚的な検査によってチェックする。タンパク質濃度を、２８０ｎｍでの吸収によって決定する。この材料のｐＨをチェックする。例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびサイズ排除クロマトグラフィーによって純度をチェックする。ＥＬＩＳＡを行って、抗体のその抗原に対する結合能をチェックし得る。その抗体の生物学的活性をまたモニタリングする。残りのＤＮＡ含量、エンドトキシンレベルおよび生物加重（ｂｉｏｂｕｒｄｅｎ）（抗体調製物中に存在する生存可能な生物の数）を全てモニタリングし、そして標準的な受容可能レベルでかまたはそのレベルより低く保つ。さらに、オリゴ糖含量を分析し得る；抗体鎖のペプチド配列もまた、Ｎ末端配列決定およびペプチドマッピングを使用して分析し得る。抗体安定性の短期および長期の研究もまた行い得る。

【０５９６】

本発明が特に前述の記載および実施例に記載されるより他に実行され得ることは、明らかである。上記の教示の観点から本発明の多くの改変および変更が可能であり、よって本発明の多くの改変および変更は、添付の特許請求の範囲の範囲内である。

【０５９７】

発明の背景、詳細な説明および実施例において引用される各文書の開示全体（特許、特許出願、雑誌記事、要約、研究室説明書、本または他の開示物を含む）は、本明細書中に参考として援用される。

【０５９８】

さらに、同時に提出される配列表（コンピューター形式および紙形式の両方）は、その全体が本明細書中に参考として援用される。

【０５９９】

以下の米国特許出願の各々の開示全体（明細書、配列表および図面を含む）は、その全体が本明細書中に参考として援用される：米国仮出願番号６０／３６９，８６０（２００２年４月５日出願）；６０／３４１，２３７（２００１年１２月２０日出願）；６０／３３１，３１０（２００１年１１月１４日出願）；６０／３３１，０４４（２００１年１１月７日出願）；６０／３２７，３６４（２００１年１０月９日出願）；６０／３２３，８０７（２００１年９月２１日出願）；６０／３０９，１７６（２００１年８月２日出願）；６０／２９４，９８１（２００１年６月４日出願）；および６０／２９３，４７３（２００１年５月２５日出願）。

【０６００】

【数１３】

寄託された微生物または他の
生物材料に関する表示
（ＰＣＴ規則１３規則の２）

Ａ．下記の表示は明細書中下記の箇所で言及された寄託された微生物または他の生物材料に関する。

１８頁，表１

Ｂ．寄託物の表示　さらなる寄託物が追加の用紙に記載されている。☐

寄託機関の名称：アメリカン タイプ カルチャー コレクション

寄託機関の住所（郵便番号および国を含む）
アメリカ合衆国　バージニア 20110-2209、マナサス
ユニバーシティ ブルーバード 10801

寄託日	受託番号
2001年7月30日	PTA-3571

Ｃ．追加の表示（なければ空白のまま）　この情報は追付の用紙に続く ☐

Ｄ．表示がなされた指定締結国（全ての指定締結国に対する表示ではない場合）

欧州：EPOが求められる指定機関に関して、寄託された微生物の試料は、欧州特許を付与する旨の告示が公表されるまで、または特許出願が拒絶され、取り下げられ、もしくは取り下げられたものとみなされる日まで、請求人により指名された専門家に試料を分譲することによってのみ入手可能になる。（EPC規則28(4)）　追付の用紙に続く

Ｅ．別に添付する表示物（なければ空白のまま）

下記の表示物は、追って国際事務局に提出する（表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定）

受理官庁記入欄	国際事務局記入欄
×この用紙は国際出願とともに受理された	☐この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された
認定官 ジェリル　マクダウエル PCT/国際出願処理部門　(703) 305-3639	認定官

PCT/RO/134改定様式（2001年1月）

【０６０１】
ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３５７１
（カナダ）
出願人は、出願に基づきカナダ国特許が発行されるか、あるいは同出願が拒絶または放

棄されて回復され得なくなるかもしくは取り下げられるまでは、特許庁長官（Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎｅｒ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ）が、長官により指名された独立の専門家に対してのみ出願中で言及された寄託済みの生物学的材料のサンプルの供与を許可する旨を請求し、出願人は、国際出願の公表のための規則上の準備が完了する前に、書面によりその旨を国際事務局に告知しなければならない。

【０６０２】

（ノルウェー）

出願人はここにおいて、出願が（ノルウェー特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにノルウェー特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、ノルウェー特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりノルウェー特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、ノルウェー特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６０３】

（オーストラリア）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は、特許の付与前において、あるいは出願の放棄（ｌａｐｓｉｎｇ）、拒絶あるいは取り下げ前において、発明に対し利害関係を有さない当業者である対象者（ｓｋｉｌｌｅｄ　ａｄｄｒｅｓｓｅｅ）に対してのみ行われる旨を、告知するものである（オーストラリア国特許法第３．２５（３）号規定）。

【０６０４】

（フィンランド）

出願人はここにおいて、出願が（特許および統制委員会（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｂｏａｒｄ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ　ａｎｄ　Ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎｓ）により）公開に付されるかあるいは公開を経ずに国立特許および法規委員会による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。

ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３５７１

（英国）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は専門家に対してのみ利用可能にされる旨を、請求する。この旨の請求は、出願の国際公表のための規則上の準備が完了する前に、出願人により国際事務局に対してなされなければならない。

【０６０５】

（デンマーク）

出願人はここにおいて、出願が（デンマーク特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにデンマーク特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、デンマーク特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりデンマーク特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、デンマーク特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６０６】

（スウェーデン）

出願人はここにおいて、出願が（スウェーデン特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにスウェーデン特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、優先日から１６ヶ月が経過するよりも前に、出願人により国際事務局に対してなされるものとする（好ましく

はＰＣＴ　Ａｐｐｌｉｃａｎｔ’ｓ　ＧｕｉｄｅのＶｏｌｕｍｅ　Ｉのａｎｎｅｘ　Ｚに記載された書式ＰＣＴ／ＲＯ／１３４による）。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、スウェーデン特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６０７】

（オランダ）

出願人はここにおいて、オランダ特許の発行日まで、あるいは出願が拒絶、取り下げあるいは放棄（ｌａｐｓｅｄ）される日までは、特許法３１Ｆ（１）の規定に基づき、微生物は専門家へのサンプル供与の形でのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、オランダ王国特許法の第２２Ｃ条または第２５条に基づき出願が公に利用可能にされる日のうちいずれか早い方の日付よりも前に、出願人によりオランダ工業所有権局に対して提出されるものとする。

【０６０８】

【数１４】

寄託された微生物または他の
生物材料に関する表示
（ＰＣＴ規則１３規則の２）

Ａ．下記の表示は明細書中下記の箇所で言及された寄託された微生物または他の生物材料に関する。

１８頁，表１

Ｂ．寄託物の表示　さらなる寄託物が追加の用紙に記載されている。☐

寄託機関の名称：アメリカン タイプ カルチャー コレクション

寄託機関の住所（郵便番号および国を含む）

アメリカ合衆国　バージニア 20110-2209、マナサス

ユニバーシティ ブルーバード 10801

寄託日	受託番号
2001年7月30日	PTA-3570

Ｃ．追加の表示（なければ空白のまま）　この情報は追付の用紙に続く ☐

Ｄ．表示がなされた指定締結国（全ての指定締結国に対する表示ではない場合）

欧州:EPOが求められる指定機関に関して、寄託された微生物の試料は、欧州特許を付与する旨の告示が公表されるまで、または特許出願が拒絶され、取り下げられ、もしくは取り下げられたものとみなされる日まで、請求人により指名された専門家に試料を分譲することによってのみ入手可能になる。（EPC規則28(4)）　追付の用紙に続く

Ｅ．別に添付する表示物（なければ空白のまま）

下記の表示物は、追って国際事務局に提出する（表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定）

受理官庁記入欄	国際事務局記入欄
×この用紙は国際出願とともに受理された	☐この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された
認定官　ジェリル　マクダウエル PCT/国際出願処理部門　(703) 305-3639	認定官

PCT/RO/134改定様式（2001年1月）

【０６０９】

ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３５７０

（カナダ）

出願人は、出願に基づきカナダ国特許が発行されるか、あるいは同出願が拒絶または放

棄されて回復され得なくなるかもしくは取り下げられるまでは、特許庁長官（Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎｅｒ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ）が、長官により指名された独立の専門家に対してのみ出願中で言及された寄託済みの生物学的材料のサンプルの供与を許可する旨を請求し、出願人は、国際出願の公表のための規則上の準備が完了する前に、書面によりその旨を国際事務局に告知しなければならない。

【０６１０】

（ノルウェー）

出願人はここにおいて、出願が（ノルウェー特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにノルウェー特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、ノルウェー特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりノルウェー特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、ノルウェー特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６１１】

（オーストラリア）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は、特許の付与前において、あるいは出願の放棄（ｌａｐｓｉｎｇ）、拒絶あるいは取り下げ前において、発明に対し利害関係を有さない当業者である対象者（ｓｋｉｌｌｅｄ　ａｄｄｒｅｓｓｅｅ）に対してのみ行われる旨を、告知するものである（オーストラリア国特許法第３．２５（３）号規定）。

【０６１２】

（フィンランド）

出願人はここにおいて、出願が（特許および統制委員会（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｂｏａｒｄ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ　ａｎｄ　Ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎｓ）により）公開に付されるかあるいは公開を経ずに国立特許および法規委員会による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。

ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３５７０

（英国）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は専門家に対してのみ利用可能にされる旨を、請求する。この旨の請求は、出願の国際公表のための規則上の準備が完了する前に、出願人により国際事務局に対してなされなければならない。

【０６１３】

（デンマーク）

出願人はここにおいて、出願が（デンマーク特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにデンマーク特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、デンマーク特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりデンマーク特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、デンマーク特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６１４】

（スウェーデン）

出願人はここにおいて、出願が（スウェーデン特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにスウェーデン特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、優先日から１６ヶ月が経過するよりも前に、出願人により国際事務局に対してなされるものとする（好ましく

はＰＣＴ　Ａｐｐｌｉｃａｎｔ’ｓ　ＧｕｉｄｅのＶｏｌｕｍｅ　Ｉのａｎｎｅｘ　Ｚに記載された書式ＰＣＴ／ＲＯ／１３４による）。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、スウェーデン特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６１５】

（オランダ）

出願人はここにおいて、オランダ特許の発行日まで、あるいは出願が拒絶、取り下げあるいは放棄（ｌａｐｓｅｄ）される日までは、特許法３１Ｆ（１）の規定に基づき、微生物は専門家へのサンプル供与の形でのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、オランダ王国特許法の第２２Ｃ条または第２５条に基づき出願が公に利用可能にされる日のうちいずれか早い方の日付よりも前に、出願人によりオランダ工業所有権局に対して提出されるものとする。

【０６１６】

【数１５】

寄託された微生物または他の
生物材料に関する表示
（ＰＣＴ規則１３規則の２）

Ａ．下記の表示は明細書中下記の箇所で言及された寄託された微生物または他の生物材料に関する。

１８頁，表１

Ｂ．寄託物の表示　　さらなる寄託物が追加の用紙に記載されている。☐

寄託機関の名称：アメリカン タイプ カルチャー コレクション

寄託機関の住所（郵便番号および国を含む）

アメリカ合衆国　バージニア 20110-2209、マナサス

ユニバーシティ ブルーバード 10801

寄託日	受託番号
2001年8月29日	PTA-3675

Ｃ．追加の表示（なければ空白のまま）　　この情報は追付の用紙に続く ☐

Ｄ．表示がなされた指定締結国（全ての指定締結国に対する表示ではない場合）

欧州:EPOが求められる指定機関に関して、寄託された微生物の試料は、欧州特許を付与する旨の告示が公表されるまで、または特許出願が拒絶され、取り下げられ、もしくは取り下げられたものとみなされる日まで、請求人により指名された専門家に試料を分譲することによってのみ入手可能になる。（EPC規則28(4)）　　追付の用紙に続く

Ｅ．別に添付する表示物（なければ空白のまま）

下記の表示物は、追って国際事務局に提出する（表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定）

受理官庁記入欄	国際事務局記入欄
×この用紙は国際出願とともに受理された	☐この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された
認定官　ジェリル　マクダウエル PCT/国際出願処理部門　(703) 305-3639	認定官

PCT/RO/134改定様式（2001年1月）

【０６１７】

ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３６７５

（カナダ）

出願人は、出願に基づきカナダ国特許が発行されるか、あるいは同出願が拒絶または放

棄されて回復され得なくなるかもしくは取り下げられるまでは、特許庁長官（Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎｅｒ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ）が、長官により指名された独立の専門家に対してのみ出願中で言及された寄託済みの生物学的材料のサンプルの供与を許可する旨を請求し、出願人は、国際出願の公表のための規則上の準備が完了する前に、書面によりその旨を国際事務局に告知しなければならない。

【０６１８】

（ノルウェー）

出願人はここにおいて、出願が（ノルウェー特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにノルウェー特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、ノルウェー特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりノルウェー特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、ノルウェー特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６１９】

（オーストラリア）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は、特許の付与前において、あるいは出願の放棄（ｌａｐｓｉｎｇ）、拒絶あるいは取り下げ前において、発明に対し利害関係を有さない当業者である対象者（ｓｋｉｌｌｅｄ　ａｄｄｒｅｓｓｅｅ）に対してのみ行われる旨を、告知するものである（オーストラリア国特許法第３．２５（３）号規定）。

【０６２０】

（フィンランド）

出願人はここにおいて、出願が（特許および統制委員会（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｂｏａｒｄ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ　ａｎｄ　Ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎｓ）により）公開に付されるかあるいは公開を経ずに国立特許および法規委員会による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。

ＡＴＣＣ寄託番号ＰＴＡ－３６７５

（英国）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は専門家に対してのみ利用可能にされる旨を、請求する。この旨の請求は、出願の国際公表のための規則上の準備が完了する前に、出願人により国際事務局に対してなされなければならない。

【０６２１】

（デンマーク）

出願人はここにおいて、出願が（デンマーク特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにデンマーク特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、デンマーク特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりデンマーク特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、デンマーク特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６２２】

（スウェーデン）

出願人はここにおいて、出願が（スウェーデン特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにスウェーデン特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、優先日から１６ヶ月が経過するよりも前に、出願人により国際事務局に対してなされるものとする（好ましく

はＰＣＴ　Ａｐｐｌｉｃａｎｔ’ｓ　ＧｕｉｄｅのＶｏｌｕｍｅ　Ｉのａｎｎｅｘ　Ｚに記載された書式ＰＣＴ／ＲＯ／１３４による）。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、スウェーデン特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６２３】

（オランダ）

出願人はここにおいて、オランダ特許の発行日まで、あるいは出願が拒絶、取り下げあるいは放棄（ｌａｐｓｅｄ）される日までは、特許法３１Ｆ（１）の規定に基づき、微生物は専門家へのサンプル供与の形でのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、オランダ王国特許法の第２２Ｃ条または第２５条に基づき出願が公に利用可能にされる日のうちいずれか早い方の日付よりも前に、出願人によりオランダ工業所有権局に対して提出されるものとする。

【０６２４】

【数１６】

寄託された微生物または他の
生物材料に関する表示
（ＰＣＴ規則１３規則の２）

Ａ． 下記の表示は明細書中下記の箇所で言及された寄託された微生物または他の生物材料に関する。

１９頁，６２段落

Ｂ．寄託物の表示　　さらなる寄託物が追加の用紙に記載されている。☐

寄託機関の名称：アメリカン タイプ カルチャー コレクション

寄託機関の住所（郵便番号および国を含む）

アメリカ合衆国　バージニア 20110-2209、マナサス

ユニバーシティ ブルーバード 10801

寄託日	受託番号
1997年1月21日	97853

Ｃ． 追加の表示（なければ空白のまま）　　この情報は追付の用紙に続く ☐

Ｄ． 表示がなされた指定締結国（全ての指定締結国に対する表示ではない場合）

欧州：EPOが求められる指定機関に関して、寄託された微生物の試料は、欧州特許を付与する旨の告示が公表されるまで、または特許出願が拒絶され、取り下げられ、もしくは取り下げられたものとみなされる日まで、請求人により指名された専門家に試料を分譲することによってのみ入手可能になる。（EPC規則28(4)）　　追付の用紙に続く

Ｅ． 別に添付する表示物（なければ空白のまま）

下記の表示物は、追って国際事務局に提出する（表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定）

受理官庁記入欄	国際事務局記入欄
✕ この用紙は国際出願とともに受理された	☐ この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された
認定官　ジェリル　マクダウエル PCT/国際出願処理部門　(703) 305-3639	認定官

PCT/RO/134改定様式（2001年1月）

【０６２５】

ＡＴＣＣ寄託番号９７８５３

（カナダ）

出願人は、出願に基づきカナダ国特許が発行されるか、あるいは同出願が拒絶または放

棄されて回復され得なくなるかもしくは取り下げられるまでは、特許庁長官（Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎｅｒ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ）が、長官により指名された独立の専門家に対してのみ出願中で言及された寄託済みの生物学的材料のサンプルの供与を許可する旨を請求し、出願人は、国際出願の公表のための規則上の準備が完了する前に、書面によりその旨を国際事務局に告知しなければならない。

【０６２６】

（ノルウェー）

出願人はここにおいて、出願が（ノルウェー特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにノルウェー特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、ノルウェー特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりノルウェー特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、ノルウェー特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６２７】

（オーストラリア）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は、特許の付与前において、あるいは出願の放棄（ｌａｐｓｉｎｇ）、拒絶あるいは取り下げ前において、発明に対し利害関係を有さない当業者である対象者（ｓｋｉｌｌｅｄ　ａｄｄｒｅｓｓｅｅ）に対してのみ行われる旨を、告知するものである（オーストラリア国特許法第３．２５（３）号規定）。

【０６２８】

（フィンランド）

出願人はここにおいて、出願が（特許および統制委員会（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｂｏａｒｄ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ　ａｎｄ　Ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎｓ）により）公開に付されるかあるいは公開を経ずに国立特許および法規委員会による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。

ＡＴＣＣ寄託番号９７８５３

（英国）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は専門家に対してのみ利用可能にされる旨を、請求する。この旨の請求は、出願の国際公表のための規則上の準備が完了する前に、出願人により国際事務局に対してなされなければならない。

【０６２９】

（デンマーク）

出願人はここにおいて、出願が（デンマーク特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにデンマーク特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、デンマーク特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりデンマーク特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、デンマーク特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６３０】

（スウェーデン）

出願人はここにおいて、出願が（スウェーデン特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにスウェーデン特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、優先日から１６ヶ月が経過するよりも前に、出願人により国際事務局に対してなされるものとする（好ましく

はＰＣＴ　Ａｐｐｌｉｃａｎｔ’ｓ　ＧｕｉｄｅのＶｏｌｕｍｅ　Ｉのａｎｎｅｘ　Ｚに記載された書式ＰＣＴ／ＲＯ／１３４による）。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、スウェーデン特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６３１】

（オランダ）

出願人はここにおいて、オランダ特許の発行日まで、あるいは出願が拒絶、取り下げあるいは放棄（ｌａｐｓｅｄ）される日までは、特許法３１Ｆ（１）の規定に基づき、微生物は専門家へのサンプル供与の形でのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、オランダ王国特許法の第２２Ｃ条または第２５条に基づき出願が公に利用可能にされる日のうちいずれか早い方の日付よりも前に、出願人によりオランダ工業所有権局に対して提出されるものとする。

【０６３２】

【数１７】

寄託された微生物または他の
生物材料に関する表示
（ＰＣＴ規則１３規則の２）

Ａ．下記の表示は明細書中下記の箇所で言及された寄託された微生物または他の生物材料に関する。

１９頁，６２段落

Ｂ．寄託物の表示　さらなる寄託物が追加の用紙に記載されている。☐

寄託機関の名称：アメリカン タイプ カルチャー コレクション

寄託機関の住所（郵便番号および国を含む）

アメリカ合衆国　バージニア 20110-2209、マナサス

ユニバーシティ ブルーバード 10801

寄託日	受託番号
1996年11月20日	97798

Ｃ．追加の表示（なければ空白のまま）　この情報は追付の用紙に続く ☐

Ｄ．表示がなされた指定締結国（全ての指定締結国に対する表示ではない場合）

欧州:EPOが求められる指定機関に関して、寄託された微生物の試料は、欧州特許を付与する旨の告示が公表されるまで、または特許出願が拒絶され、取り下げられ、もしくは取り下げられたものとみなされる日まで、請求人により指名された専門家に試料を分譲することによってのみ入手可能になる。（EPC規則28(4)）　追付の用紙に続く

Ｅ．別に添付する表示物（なければ空白のまま）

下記の表示物は、追って国際事務局に提出する（表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定）

受理官庁記入欄	国際事務局記入欄
×この用紙は国際出願とともに受理された	☐この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された
認定官　ジェリル　マクダウエル PCT/国際出願処理部門　(703) 305-3639	認定官

PCT/RO/134改定様式（2001年1月）

【０６３３】

ＡＴＣＣ寄託番号９７７９８

（カナダ）

出願人は、出願に基づきカナダ国特許が発行されるか、あるいは同出願が拒絶または放

棄されて回復され得なくなるかもしくは取り下げられるまでは、特許庁長官（Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎｅｒ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ）が、長官により指名された独立の専門家に対してのみ出願中で言及された寄託済みの生物学的材料のサンプルの供与を許可する旨を請求し、出願人は、国際出願の公表のための規則上の準備が完了する前に、書面によりその旨を国際事務局に告知しなければならない。

【０６３４】

（ノルウェー）

出願人はここにおいて、出願が（ノルウェー特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにノルウェー特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、ノルウェー特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりノルウェー特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、ノルウェー特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６３５】

（オーストラリア）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は、特許の付与前において、あるいは出願の放棄（ｌａｐｓｉｎｇ）、拒絶あるいは取り下げ前において、発明に対し利害関係を有さない当業者である対象者（ｓｋｉｌｌｅｄ　ａｄｄｒｅｓｓｅｅ）に対してのみ行われる旨を、告知するものである（オーストラリア国特許法第３．２５（３）号規定）。

【０６３６】

（フィンランド）

出願人はここにおいて、出願が（特許および統制委員会（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｂｏａｒｄ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ　ａｎｄ　Ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎｓ）により）公開に付されるかあるいは公開を経ずに国立特許および法規委員会による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。

ＡＴＣＣ寄託番号９７７９８

（英国）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は専門家に対してのみ利用可能にされる旨を、請求する。この旨の請求は、出願の国際公表のための規則上の準備が完了する前に、出願人により国際事務局に対してなされなければならない。

【０６３７】

（デンマーク）

出願人はここにおいて、出願が（デンマーク特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにデンマーク特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、デンマーク特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりデンマーク特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、デンマーク特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６３８】

（スウェーデン）

出願人はここにおいて、出願が（スウェーデン特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにスウェーデン特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、優先日から１６ヶ月が経過するよりも前に、出願人により国際事務局に対してなされるものとする（好ましく

はＰＣＴ　Ａｐｐｌｉｃａｎｔ’ｓ　ＧｕｉｄｅのＶｏｌｕｍｅ　Ｉのａｎｎｅｘ　Ｚに記載された書式ＰＣＴ／ＲＯ／１３４による）。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、スウェーデン特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６３９】

（オランダ）

出願人はここにおいて、オランダ特許の発行日まで、あるいは出願が拒絶、取り下げあるいは放棄（ｌａｐｓｅｄ）される日までは、特許法３１Ｆ（１）の規定に基づき、微生物は専門家へのサンプル供与の形でのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、オランダ王国特許法の第２２Ｃ条または第２５条に基づき出願が公に利用可能にされる日のうちいずれか早い方の日付よりも前に、出願人によりオランダ工業所有権局に対して提出されるものとする。

【０６４０】

【数１８】

寄託された微生物または他の
生物材料に関する表示
（ＰＣＴ規則１３規則の２）

Ａ．下記の表示は明細書中下記の箇所で言及された寄託された微生物または他の生物材料に関する。

１９頁，６２段落

Ｂ．寄託物の表示　さらなる寄託物が追加の用紙に記載されている。☐

寄託機関の名称：アメリカン タイプ カルチャー コレクション

寄託機関の住所（郵便番号および国を含む）

アメリカ合衆国　バージニア 20110-2209、マナサス

ユニバーシティ ブルーバード 10801

寄託日	受託番号
1997年3月7日	97920

Ｃ．追加の表示（なければ空白のまま）　この情報は追付の用紙に続く ☐

Ｄ．表示がなされた指定締結国（全ての指定締結国に対する表示ではない場合）

欧州:EPOが求められる指定機関に関して、寄託された微生物の試料は、欧州特許を付与する旨の告示が公表されるまで、または特許出願が拒絶され、取り下げられ、もしくは取り下げられたものとみなされる日まで、請求人により指名された専門家に試料を分譲することによってのみ入手可能になる。（EPC規則28(4)）　追付の用紙に続く

Ｅ．別に添付する表示物（なければ空白のまま）

下記の表示物は、追って国際事務局に提出する（表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定）

受理官庁記入欄	国際事務局記入欄
✕ この用紙は国際出願とともに受理された	☐ この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された
認定官　ジェリル　マクダウエル PCT/国際出願処理部門　(703) 305-3639	認定官

PCT/RO/134改定様式（2001年1月）

【０６４１】

ＡＴＣＣ寄託番号９７９２０

（カナダ）

出願人は、出願に基づきカナダ国特許が発行されるか、あるいは同出願が拒絶または放

棄されて回復され得なくなるかもしくは取り下げられるまでは、特許庁長官（Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎｅｒ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ）が、長官により指名された独立の専門家に対してのみ出願中で言及された寄託済みの生物学的材料のサンプルの供与を許可する旨を請求し、出願人は、国際出願の公表のための規則上の準備が完了する前に、書面によりその旨を国際事務局に告知しなければならない。

【０６４２】

（ノルウェー）

出願人はここにおいて、出願が（ノルウェー特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにノルウェー特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、ノルウェー特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりノルウェー特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、ノルウェー特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６４３】

（オーストラリア）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は、特許の付与前において、あるいは出願の放棄（ｌａｐｓｉｎｇ）、拒絶あるいは取り下げ前において、発明に対し利害関係を有さない当業者である対象者（ｓｋｉｌｌｅｄ　ａｄｄｒｅｓｓｅｅ）に対してのみ行われる旨を、告知するものである（オーストラリア国特許法第３．２５（３）号規定）。

【０６４４】

（フィンランド）

出願人はここにおいて、出願が（特許および統制委員会（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｂｏａｒｄ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ　ａｎｄ　Ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎｓ）により）公開に付されるかあるいは公開を経ずに国立特許および法規委員会による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。

ＡＴＣＣ寄託番号９７９２６

（英国）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は専門家に対してのみ利用可能にされる旨を、請求する。この旨の請求は、出願の国際公表のための規則上の準備が完了する前に、出願人により国際事務局に対してなされなければならない。

【０６４５】

（デンマーク）

出願人はここにおいて、出願が（デンマーク特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにデンマーク特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、デンマーク特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりデンマーク特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、デンマーク特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６４６】

（スウェーデン）

出願人はここにおいて、出願が（スウェーデン特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにスウェーデン特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、優先日から１６ヶ月が経過するよりも前に、出願人により国際事務局に対してなされるものとする（好ましく

はＰＣＴ　Ａｐｐｌｉｃａｎｔ’ｓ　ＧｕｉｄｅのＶｏｌｕｍｅ　Ｉのａｎｎｅｘ　Ｚに記載された書式ＰＣＴ／ＲＯ／１３４による）。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、スウェーデン特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６４７】

（オランダ）

出願人はここにおいて、オランダ特許の発行日まで、あるいは出願が拒絶、取り下げあるいは放棄（ｌａｐｓｅｄ）される日までは、特許法３１Ｆ（１）の規定に基づき、微生物は専門家へのサンプル供与の形でのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、オランダ王国特許法の第２２Ｃ条または第２５条に基づき出願が公に利用可能にされる日のうちいずれか早い方の日付よりも前に、出願人によりオランダ工業所有権局に対して提出されるものとする。

【０６４８】

【数１９】

寄託された微生物または他の
生物材料に関する表示
（ＰＣＴ規則１３規則の２）

Ａ． 下記の表示は明細書中下記の箇所で言及された寄託された微生物または他の生物材料に関する。

１９頁，６２段落

Ｂ．寄託物の表示 さらなる寄託物が追加の用紙に記載されている。☐

寄託機関の名称：アメリカン タイプ カルチャー コレクション

寄託機関の住所（郵便番号および国を含む）

アメリカ合衆国　バージニア 20110-2209、マナサス

ユニバーシティ ブルーバード 10801

寄託日	受託番号
1997年5月15日	209040

Ｃ．追加の表示（なければ空白のまま） この情報は追付の用紙に続く ☐

Ｄ．表示がなされた指定締結国（全ての指定締結国に対する表示ではない場合）

欧州:EPOが求められる指定機関に関して、寄託された微生物の試料は、欧州特許を付与する旨の告示が公表されるまで、または特許出願が拒絶され、取り下げられ、もしくは取り下げられたものとみなされる日まで、請求人により指名された専門家に試料を分譲することによってのみ入手可能になる。（EPC規則28(4)） 追付の用紙に続く

Ｅ．別に添付する表示物（なければ空白のまま）

下記の表示物は、追って国際事務局に提出する（表示物の一般的性質、例えば「寄託物の受託番号」の特定）

受理官庁記入欄	国際事務局記入欄
×この用紙は国際出願とともに受理された	☐この用紙は以下の日付で国際事務局により受理された
認定官　ジェリル　マクダウエル PCT/国際出願処理部門　(703) 305-3639	認定官

PCT/RO/134改定様式（2001年1月）

【０６４９】

ＡＴＣＣ寄託番号２０９０４０

（カナダ）

出願人は、出願に基づきカナダ国特許が発行されるか、あるいは同出願が拒絶または放

棄されて回復され得なくなるかもしくは取り下げられるまでは、特許庁長官（Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎｅｒ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ）が、長官により指名された独立の専門家に対してのみ出願中で言及された寄託済みの生物学的材料のサンプルの供与を許可する旨を請求し、出願人は、国際出願の公表のための規則上の準備が完了する前に、書面によりその旨を国際事務局に告知しなければならない。

【０６５０】

（ノルウェー）

出願人はここにおいて、出願が（ノルウェー特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにノルウェー特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、ノルウェー特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりノルウェー特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、ノルウェー特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６５１】

（オーストラリア）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は、特許の付与前において、あるいは出願の放棄（ｌａｐｓｉｎｇ）、拒絶あるいは取り下げ前において、発明に対し利害関係を有さない当業者である対象者（ｓｋｉｌｌｅｄ　ａｄｄｒｅｓｓｅｅ）に対してのみ行われる旨を、告知するものである（オーストラリア国特許法第３．２５（３）号規定）。

【０６５２】

（フィンランド）

出願人はここにおいて、出願が（特許および統制委員会（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｂｏａｒｄ　ｏｆ　Ｐａｔｅｎｔｓ　ａｎｄ　Ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎｓ）により）公開に付されるかあるいは公開を経ずに国立特許および法規委員会による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。

ＡＴＣＣ寄託番号２０９０４０

（英国）

出願人はここにおいて、微生物のサンプルの供与は専門家に対してのみ利用可能にされる旨を、請求する。この旨の請求は、出願の国際公表のための規則上の準備が完了する前に、出願人により国際事務局に対してなされなければならない。

【０６５３】

（デンマーク）

出願人はここにおいて、出願が（デンマーク特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにデンマーク特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、デンマーク特許法第２２条および第３３条（３）に基づき出願が公に利用可能にされる時点以前に、出願人によりデンマーク特許庁に対してなされるものとする。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、デンマーク特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６５４】

（スウェーデン）

出願人はここにおいて、出願が（スウェーデン特許庁により）公開に付されるかあるいは公開を経ずにスウェーデン特許庁による決定を受けるまでは、サンプルの供与は当該技術の専門家に対してのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、優先日から１６ヶ月が経過するよりも前に、出願人により国際事務局に対してなされるものとする（好ましく

はＰＣＴ　Ａｐｐｌｉｃａｎｔ’ｓ　ＧｕｉｄｅのＶｏｌｕｍｅ　Ｉのａｎｎｅｘ　Ｚに記載された書式ＰＣＴ／ＲＯ／１３４による）。そのような請求が出願人によりなされた場合は、第三者によるサンプルの供与のいかなる請求においても、利用される専門家を表示するものとする。専門家は、スウェーデン特許庁により作成された公認専門家のリスト（ｌｉｓｔ　ｏｆ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ　ｅｘｐｅｒｔｓ）に記載された任意の者か、あるいは、個々の場合において出願人により承認された任意の者であり得る。

【０６５５】

（オランダ）

出願人はここにおいて、オランダ特許の発行日まで、あるいは出願が拒絶、取り下げあるいは放棄（ｌａｐｓｅｄ）される日までは、特許法３１Ｆ（１）の規定に基づき、微生物は専門家へのサンプル供与の形でのみ行われる旨を、請求する。この旨の請求は、オランダ王国特許法の第２２Ｃ条または第２５条に基づき出願が公に利用可能にされる日のうちいずれか早い方の日付よりも前に、出願人によりオランダ工業所有権局に対して提出されるものとする。

【図面の簡単な説明】

【０６５６】

【図１】図１は、トポテカン処理（０．３ｍｇ／ｋｇ）のありなしでのＳｗｉｓｓ　ｎｕ／ｎｕマウスにおけるＳＷ４８０腫瘍成長に対するＴ１０１４Ａ０４処理の効果を示す。

【図２】図２は、トポテカン処理（０．６ｍｇ／ｋｇ）のありなしでのＳｗｉｓｓ　ｎｕ／ｎｕマウスにおけるＳＷ４８０腫瘍成長に対するＴ１０１４Ａ０４処理の効果を示す。

【図３】図３は、トポテカン処理のありなしでの２８日後のインビボでのＳＷ４８０腫瘍の成長に対する１４Ｇ０３処理の効果を示す。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Human Genome Sciences, Inc.

<120> Antibodies that Immunospecifically Bind to TRAIL Receptors

<130> PF550PCT

<140> Unassigned
<141> 2002-05-07

<150> 60/369,860
<151> 2002-04-05

<150> 60/341,237
<151> 2001-12-20

<150> 60/331,310
<151> 2001-11-14

<150> 60/331,044
<151> 2001-11-07

<150> 60/327,364
<151> 2001-10-09

<150> 60/323,807
<151> 2001-09-21

<150> 60/309,176
<151> 2001-08-02

<150> 60/294,981
<151> 2001-06-04

<150> 60/293,473
<151> 2001-05-25

<160> 66

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
<211> 468
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

```
Met Ala Pro Pro Pro Ala Arg Val His Leu Gly Ala Phe Leu Ala Val
  1               5                  10                  15

Thr Pro Asn Pro Gly Ser Ala Ala Ser Gly Thr Glu Ala Ala Ala Ala
             20                  25                  30

Thr Pro Ser Lys Val Trp Gly Ser Ser Ala Gly Arg Ile Glu Pro Arg
         35                  40                  45

Gly Gly Gly Arg Gly Ala Leu Pro Thr Ser Met Gly Gln His Gly Pro
     50                  55                  60
```

```
Ser Ala Arg Ala Arg Ala Gly Arg Ala Pro Gly Pro Arg Pro Ala Arg
 65                  70                  75                  80

Glu Ala Ser Pro Arg Leu Arg Val His Lys Thr Phe Lys Phe Val Val
                 85                  90                  95

Val Gly Val Leu Leu Gln Val Val Pro Ser Ser Ala Ala Thr Ile Lys
            100                 105                 110

Leu His Asp Gln Ser Ile Gly Thr Gln Gln Trp Glu His Ser Pro Leu
        115                 120                 125

Gly Glu Leu Cys Pro Pro Gly Ser His Arg Ser Glu Arg Pro Gly Ala
    130                 135                 140

Cys Asn Arg Cys Thr Glu Gly Val Gly Tyr Thr Asn Ala Ser Asn Asn
145                 150                 155                 160

Leu Phe Ala Cys Leu Pro Cys Thr Ala Cys Lys Ser Asp Glu Glu Glu
                165                 170                 175

Arg Ser Pro Cys Thr Thr Thr Arg Asn Thr Ala Cys Gln Cys Lys Pro
            180                 185                 190

Gly Thr Phe Arg Asn Asp Asn Ser Ala Glu Met Cys Arg Lys Cys Ser
        195                 200                 205

Thr Gly Cys Pro Arg Gly Met Val Lys Val Lys Asp Cys Thr Pro Trp
    210                 215                 220

Ser Asp Ile Glu Cys Val His Lys Glu Ser Gly Asn Gly His Asn Ile
225                 230                 235                 240

Trp Val Ile Leu Val Val Thr Leu Val Val Pro Leu Leu Leu Val Ala
                245                 250                 255

Val Leu Ile Val Cys Cys Cys Ile Gly Ser Gly Cys Gly Gly Asp Pro
            260                 265                 270

Lys Cys Met Asp Arg Val Cys Phe Trp Arg Leu Gly Leu Leu Arg Gly
        275                 280                 285

Pro Gly Ala Glu Asp Asn Ala His Asn Glu Ile Leu Ser Asn Ala Asp
    290                 295                 300

Ser Leu Ser Thr Phe Val Ser Glu Gln Gln Met Glu Ser Gln Glu Pro
305                 310                 315                 320

Ala Asp Leu Thr Gly Val Thr Val Gln Ser Pro Gly Glu Ala Gln Cys
                325                 330                 335

Leu Leu Gly Pro Ala Glu Ala Glu Gly Ser Gln Arg Arg Arg Leu Leu
            340                 345                 350

Val Pro Ala Asn Gly Ala Asp Pro Thr Glu Thr Leu Met Leu Phe Phe
        355                 360                 365

Asp Lys Phe Ala Asn Ile Val Pro Phe Asp Ser Trp Asp Gln Leu Met
    370                 375                 380
```

```
Arg Gln Leu Asp Leu Thr Lys Asn Glu Ile Asp Val Val Arg Ala Gly
385                 390                 395                 400

Thr Ala Gly Pro Gly Asp Ala Leu Tyr Ala Met Leu Met Lys Trp Val
                405                 410                 415

Asn Lys Thr Gly Arg Asn Ala Ser Ile His Thr Leu Leu Asp Ala Leu
            420                 425                 430

Glu Arg Met Glu Glu Arg His Ala Lys Glu Lys Ile Gln Asp Leu Leu
        435                 440                 445

Val Asp Ser Gly Lys Phe Ile Tyr Leu Glu Asp Gly Thr Gly Ser Ala
    450                 455                 460

Val Ser Leu Glu
465
```

<210> 2
<211> 299
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

```
Met Gln Gly Val Lys Glu Arg Phe Leu Pro Leu Gly Asn Ser Gly Asp
  1               5                  10                  15

Arg Ala Pro Arg Pro Pro Asp Gly Arg Gly Arg Val Arg Pro Arg Thr
             20                  25                  30

Gln Asp Gly Val Gly Asn His Thr Met Ala Arg Ile Pro Lys Thr Leu
         35                  40                  45

Lys Phe Val Val Val Ile Val Ala Val Leu Leu Pro Val Leu Ala Tyr
     50                  55                  60

Ser Ala Thr Thr Ala Arg Gln Glu Glu Val Pro Gln Gln Thr Val Ala
 65                  70                  75                  80

Pro Gln Gln Gln Arg His Ser Phe Lys Gly Glu Glu Cys Pro Ala Gly
                 85                  90                  95

Ser His Arg Ser Glu His Thr Gly Ala Cys Asn Pro Cys Thr Glu Gly
            100                 105                 110

Val Asp Tyr Thr Asn Ala Ser Asn Asn Glu Pro Ser Cys Phe Pro Cys
        115                 120                 125

Thr Val Cys Lys Ser Asp Gln Lys His Lys Ser Ser Cys Thr Met Thr
    130                 135                 140

Arg Asp Thr Val Cys Gln Cys Lys Glu Gly Thr Phe Arg Asn Glu Asn
145                 150                 155                 160

Ser Pro Glu Met Cys Arg Lys Cys Ser Arg Cys Pro Ser Gly Glu Val
                165                 170                 175

Gln Val Ser Asn Cys Thr Ser Trp Asp Asp Ile Gln Cys Val Glu Glu
```

```
            180                 185                 190

Phe Gly Ala Asn Ala Thr Val Glu Thr Pro Ala Ala Glu Glu Thr Met
        195                 200                 205

Asn Thr Ser Pro Gly Thr Pro Ala Pro Ala Ala Glu Glu Thr Met Asn
    210                 215                 220

Thr Ser Pro Gly Thr Pro Ala Pro Ala Ala Glu Glu Thr Met Thr Thr
225                 230                 235                 240

Ser Pro Gly Thr Pro Ala Pro Ala Ala Glu Glu Thr Met Thr Thr Ser
                245                 250                 255

Pro Gly Thr Pro Ala Pro Ala Ala Glu Glu Thr Met Thr Thr Ser Pro
            260                 265                 270

Gly Thr Pro Ala Ser Ser His Tyr Leu Ser Cys Thr Ile Val Gly Ile
        275                 280                 285

Ile Val Leu Ile Val Leu Leu Ile Val Phe Val
    290                 295


<210> 3
<211> 411
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3
Met Glu Gln Arg Gly Gln Asn Ala Pro Ala Ala Ser Gly Ala Arg Lys
  1               5                  10                  15

Arg His Gly Pro Gly Pro Arg Glu Ala Arg Gly Ala Arg Pro Gly Pro
            20                  25                  30

Arg Val Pro Lys Thr Leu Val Leu Val Val Ala Ala Val Leu Leu Leu
        35                  40                  45

Val Ser Ala Glu Ser Ala Leu Ile Thr Gln Gln Asp Leu Ala Pro Gln
    50                  55                  60

Gln Arg Ala Ala Pro Gln Gln Lys Arg Ser Ser Pro Ser Glu Gly Leu
65                  70                  75                  80

Cys Pro Pro Gly His His Ile Ser Glu Asp Gly Arg Asp Cys Ile Ser
                85                  90                  95

Cys Lys Tyr Gly Gln Asp Tyr Ser Thr His Trp Asn Asp Leu Leu Phe
            100                 105                 110

Cys Leu Arg Cys Thr Arg Cys Asp Ser Gly Glu Val Glu Leu Ser Pro
        115                 120                 125

Cys Thr Thr Thr Arg Asn Thr Val Cys Gln Cys Glu Glu Gly Thr Phe
    130                 135                 140

Arg Glu Glu Asp Ser Pro Glu Met Cys Arg Lys Cys Arg Thr Gly Cys
145                 150                 155                 160
```

```
Pro Arg Gly Met Val Lys Val Gly Asp Cys Thr Pro Trp Ser Asp Ile
                165                 170                 175

Glu Cys Val His Lys Glu Ser Gly Ile Ile Ile Gly Val Thr Val Ala
            180                 185                 190

Ala Val Val Leu Ile Val Ala Val Phe Val Cys Lys Ser Leu Leu Trp
        195                 200                 205

Lys Lys Val Leu Pro Tyr Leu Lys Gly Ile Cys Ser Gly Gly Gly Gly
    210                 215                 220

Asp Pro Glu Arg Val Asp Arg Ser Ser Gln Arg Pro Gly Ala Glu Asp
225                 230                 235                 240

Asn Val Leu Asn Glu Ile Val Ser Ile Leu Gln Pro Thr Gln Val Pro
                245                 250                 255

Glu Gln Glu Met Glu Val Gln Glu Pro Ala Glu Pro Thr Gly Val Asn
            260                 265                 270

Met Leu Ser Pro Gly Glu Ser Glu His Leu Leu Glu Pro Ala Glu Ala
        275                 280                 285

Glu Arg Ser Gln Arg Arg Arg Leu Leu Val Pro Ala Asn Glu Gly Asp
    290                 295                 300

Pro Thr Glu Thr Leu Arg Gln Cys Phe Asp Asp Phe Ala Asp Leu Val
305                 310                 315                 320

Pro Phe Asp Ser Trp Glu Pro Leu Met Arg Lys Leu Gly Leu Met Asp
                325                 330                 335

Asn Glu Ile Lys Val Ala Lys Ala Glu Ala Ala Gly His Arg Asp Thr
            340                 345                 350

Leu Tyr Thr Met Leu Ile Lys Trp Val Asn Lys Thr Gly Arg Asp Ala
        355                 360                 365

Ser Val His Thr Leu Leu Asp Ala Leu Glu Thr Leu Gly Glu Arg Leu
    370                 375                 380

Ala Lys Gln Lys Ile Glu Asp His Leu Leu Ser Ser Gly Lys Phe Met
385                 390                 395                 400

Tyr Leu Glu Gly Asn Ala Asp Ser Ala Met Ser
                405                 410
```

<210> 4
<211> 386
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

```
Met Gly Leu Trp Gly Gln Ser Val Pro Thr Ala Ser Ser Ala Arg Ala
  1               5                  10                  15

Gly Arg Tyr Pro Gly Ala Arg Thr Ala Ser Gly Thr Arg Pro Trp Leu
             20                  25                  30
```

```
Leu Asp Pro Lys Ile Leu Lys Phe Val Val Phe Ile Val Ala Val Leu
         35                  40                  45

Leu Pro Val Arg Val Asp Ser Ala Thr Ile Pro Arg Gln Asp Glu Val
     50                  55                  60

Pro Gln Gln Thr Val Ala Pro Gln Gln Gln Arg Arg Ser Leu Lys Glu
 65                  70                  75                  80

Glu Glu Cys Pro Ala Gly Ser His Arg Ser Glu Tyr Thr Gly Ala Cys
                 85                  90                  95

Asn Pro Cys Thr Glu Gly Val Asp Tyr Thr Ile Ala Ser Asn Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Ser Cys Leu Leu Cys Thr Val Cys Lys Ser Gly Gln Thr Asn Lys
        115                 120                 125

Ser Ser Cys Thr Thr Thr Arg Asp Thr Val Cys Gln Cys Glu Lys Gly
    130                 135                 140

Ser Phe Gln Asp Lys Asn Ser Pro Glu Met Cys Arg Thr Cys Arg Thr
145                 150                 155                 160

Gly Cys Pro Arg Gly Met Val Lys Val Ser Asn Cys Thr Pro Arg Ser
                165                 170                 175

Asp Ile Lys Cys Lys Asn Glu Ser Ala Ala Ser Ser Thr Gly Lys Thr
            180                 185                 190

Pro Ala Ala Glu Glu Thr Val Thr Thr Ile Leu Gly Met Leu Ala Ser
        195                 200                 205

Pro Tyr His Tyr Leu Ile Ile Ile Val Val Leu Val Ile Ile Leu Ala
    210                 215                 220

Val Val Val Val Gly Phe Ser Cys Arg Lys Lys Phe Ile Ser Tyr Leu
225                 230                 235                 240

Lys Gly Ile Cys Ser Gly Gly Gly Gly Gly Pro Glu Arg Val His Arg
                245                 250                 255

Val Leu Phe Arg Arg Arg Ser Cys Pro Ser Arg Val Pro Gly Ala Glu
            260                 265                 270

Asp Asn Ala Arg Asn Glu Thr Leu Ser Asn Arg Tyr Leu Gln Pro Thr
        275                 280                 285

Gln Val Ser Glu Gln Glu Ile Gln Gly Gln Glu Leu Ala Glu Leu Thr
    290                 295                 300

Gly Val Thr Val Glu Ser Pro Glu Glu Pro Gln Arg Leu Leu Glu Gln
305                 310                 315                 320

Ala Glu Ala Glu Gly Cys Gln Arg Arg Arg Leu Leu Val Pro Val Asn
                325                 330                 335

Asp Ala Asp Ser Ala Asp Ile Ser Thr Leu Leu Asp Ala Ser Ala Thr
            340                 345                 350
```

```
Leu Glu Glu Gly His Ala Lys Glu Thr Ile Gln Asp Gln Leu Val Gly
        355                 360                 365

Ser Glu Lys Leu Phe Tyr Glu Glu Asp Glu Ala Gly Ser Ala Thr Ser
    370                 375                 380

Cys Leu
385
```

<210> 5
<211> 401
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

```
Met Asn Lys Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser Ile
  1               5                  10                  15

Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His Tyr Asp
             20                  25                  30

Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro Pro Gly Thr
         35                  40                  45

Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr Val Cys Ala Pro
     50                  55                  60

Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp Ser Trp His Thr Ser Asp Glu Cys
 65                  70                  75                  80

Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys Glu Leu Gln Tyr Val Lys Gln Glu
                 85                  90                  95

Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val Cys Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr
            100                 105                 110

Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe
        115                 120                 125

Gly Val Val Gln Ala Gly Thr Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg
    130                 135                 140

Cys Pro Asp Gly Phe Phe Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys
145                 150                 155                 160

Arg Lys His Thr Asn Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys
                165                 170                 175

Gly Asn Ala Thr His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr
            180                 185                 190

Gln Lys Cys Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg
        195                 200                 205

Phe Ala Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val
    210                 215                 220

Asp Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile
```

225 230 235 240

Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys Leu
245 250 255

Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile Ile Gln
260 265 270

Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile Gly His Ala
275 280 285

Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu Ser Leu Pro Gly
290 295 300

Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr Ile Lys Ala Cys Lys
305 310 315 320

Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser Leu Trp Arg Ile Lys Asn
325 330 335

Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu Met His Ala Leu Lys His Ser
340 345 350

Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr
355 360 365

Ile Arg Phe Leu His Ser Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu
370 375 380

Phe Leu Glu Met Ile Gly Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys
385 390 395 400

Leu

<210> 6
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 6
caggtgcagc tggtgcagtc tgg 23

<210> 7
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 7
caggtcaact taagggagtc tgg 23

<210> 8
<211> 23

<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 8
gaggtgcagc tggtggagtc tgg 23

<210> 9
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 9
caggtgcagc tgcaggagtc ggg 23

<210> 10
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 10
gaggtgcagc tgttgcagtc tgc 23

<210> 11
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 11
caggtacagc tgcagcagtc agg 23

<210> 12
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 12
tgaggagacg gtgaccaggg tgcc 24

<210> 13
<211> 24

<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 13
tgaagagacg gtgaccattg tccc 24

<210> 14
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 14
tgaggagacg gtgaccaggg ttcc 24

<210> 15
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 15
tgaggagacg gtgaccgtgg tccc 24

<210> 16
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 16
gacatccaga tgacccagtc tcc 23

<210> 17
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 17
gatgttgtga tgactcagtc tcc 23

<210> 18
<211> 23

<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 18
gatattgtga tgactcagtc tcc 23

<210> 19
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 19
gaaattgtgt tgacgcagtc tcc 23

<210> 20
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 20
gacatcgtga tgacccagtc tcc 23

<210> 21
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 21
gaaacgacac tcacgcagtc tcc 23

<210> 22
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 22
gaaattgtgc tgactcagtc tcc 23

<210> 23
<211> 23

<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 23
cagtctgtgt tgacgcagcc gcc 23

<210> 24
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 24
cagtctgccc tgactcagcc tgc 23

<210> 25
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 25
tcctatgtgc tgactcagcc acc 23

<210> 26
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 26
tcttctgagc tgactcagga ccc 23

<210> 27
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 27
cacgttatac tgactcaacc gcc 23

<210> 28
<211> 23

<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 28
caggctgtgc tcactcagcc gtc 23

<210> 29
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 29
aattttatgc tgactcagcc cca 23

<210> 30
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 30
acgtttgatt tccaccttgg tccc 24

<210> 31
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 31
acgtttgatc tccagcttgg tccc 24

<210> 32
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 32
acgtttgata tccactttgg tccc 24

<210> 33
<211> 24

<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 33
acgtttgatc tccaccttgg tccc 24

<210> 34
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 34
acgtttaatc tccagtcgtg tccc 24

<210> 35
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 35
cagtctgtgt tgacgcagcc gcc 23

<210> 36
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 36
cagtctgccc tgactcagcc tgc 23

<210> 37
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 37
tcctatgtgc tgactcagcc acc 23

<210> 38
<211> 23

<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 38
tcttctgagc tgactcagga ccc 23

<210> 39
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 39
cacgttatac tgactcaacc gcc 23

<210> 40
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 40
caggctgtgc tcactcagcc gtc 23

<210> 41
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> PCR primer useful for amplifying VH and VL domains

<400> 41
aattttatgc tgactcagcc cca 23

<210> 42
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1014A04 scFv

<400> 42
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Lys Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ile Ser Gly Asp Ser Phe Asn Ala Tyr
20 25 30

```
Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
         35                  40                  45

Gly Trp Phe Asn Pro Asp Ser Gly Thr Ala Asp Ser Ala Gln Lys Phe
     50                  55                  60

His Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe
 65                  70                  75                  80

Leu Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                 85                  90                  95

Val Arg Gln His Arg Gly Asn Thr Phe Ala Pro Trp Gly Arg Gly Thr
            100                 105                 110

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala
    130                 135                 140

Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Thr
145                 150                 155                 160

Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro
                165                 170                 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Gly Val Asn Gln Arg Pro Ser
            180                 185                 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
        195                 200                 205

Leu Thr Val Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Asn Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu Gly
                245

<210> 43
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1014G03 scFv

<400> 43
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Met Pro Gly Ala
  1               5                  10                  15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Arg Val Ser Gly Asp Thr Phe Thr Ala Tyr
             20                  25                  30

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
         35                  40                  45
```

```
Gly Trp Phe Asn Pro Ile Ser Gly Thr Ala Gly Ser Ala Glu Lys Phe
     50                  55                  60

Arg Gly Arg Val Ala Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Asn Arg Leu Thr Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                 85                  90                  95

Ala Arg Gln His Arg Gly Asn Thr Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val
    130                 135                 140

Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser
145                 150                 155                 160

Ser Asp Ile Gly Ala Tyr Lys Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro
                165                 170                 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Val Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser
            180                 185                 190

Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Gln Thr Ala Ser
        195                 200                 205

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220

Asn Ser Tyr Gln Gly Tyr Asn Thr Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val Thr Val Leu Gly
                245
```

<210> 44
<211> 244
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1014A02 scFv

<400> 44

```
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
  1               5                  10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Tyr Trp Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Gly Ser Ile Asp Tyr Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
```

```
     50                  55                  60

Ser Arg Val Thr Met Thr Ile Asp Lys Ser Lys Lys Gln Phe Pro Leu
 65                  70                  75                  80

Lys Ile Asp Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
                 85                  90                  95

Arg Gln Leu Gly Arg Ile Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Ser Ala Leu Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser
    130                 135                 140

Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ala Gly Ser Ser Ser
145                 150                 155                 160

Asn Ile Gly Gly Asn Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Ala Thr
                165                 170                 175

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val
            180                 185                 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala
        195                 200                 205

Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr
    210                 215                 220

Trp Asp Asp Ser Arg Gly Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240

Thr Val Leu Gly

<210> 45
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1014A12 scFv

<400> 45
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Lys Arg Pro Gly Ala
  1               5                  10                  15

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

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
         35                  40                  45

Gly Trp Phe Asn Pro Asp Ser Gly Thr Ala Asp Ser Ala Gln Lys Phe
     50                  55                  60

His Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe
 65                  70                  75                  80
```

```
Leu Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                 85                  90                  95

Val Arg Gln His Arg Gly Asn Thr Phe Ala Pro Trp Gly Arg Gly Thr
            100                 105                 110

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val
    130                 135                 140

Ser Gly Pro Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser
145                 150                 155                 160

Ser Asp Val Gly Gly Tyr Lys Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro
                165                 170                 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile His Asp Val Ser Arg Arg Pro Ser
            180                 185                 190

Glu Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
        195                 200                 205

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220

Ser Ser Tyr Ser Ser Thr Asn Ser Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val Thr Val Leu Gly
                245

<210> 46
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1014B01 scFv

<400> 46
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
  1               5                  10                  15

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

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
         35                  40                  45

Gly Trp Phe Asn Pro Asn Ser Gly Thr Ala Asp Ser Ser Gln Lys Phe
     50                  55                  60

His Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                 85                  90                  95
```

```
Ala Arg Gln His Arg Ser Asn Thr Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val
    130                 135                 140

Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser
145                 150                 155                 160

Ser Asp Ile Gly Ala Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Phe Gln Gln His Pro
                165                 170                 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Ser Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser
            180                 185                 190

Gly Val Pro Asp Arg Leu Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
        195                 200                 205

Leu Thr Val Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220

Gly Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val Thr Val Leu Gly
                245
```

<210> 47
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1014B11 scFv

```
<400> 47
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
  1               5                  10                  15

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

Phe Ile His Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met
         35                  40                  45

Gly Trp Phe Asn Pro Ile Ser Gly Thr Ala Gly Ser Pro Gln Lys Phe
     50                  55                  60

His Gly Arg Val Ala Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Thr Arg Leu Ala Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
                 85                  90                  95

Ala Arg Gln His His Ser Asn Thr Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110
```

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val
130 135 140

Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Asn
145 150 155 160

Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Glu Val Asn Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ser Ser Tyr Thr Thr Ser Asn Thr Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Leu Thr Val Leu Gly
245

<210> 48
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1014F11 scFv

<400> 48
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Arg Val Ser Gly Asp Thr Phe Thr Ala Tyr
20 25 30

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Phe Asn Pro Ile Ser Gly Thr Ala Gly Ser Ala Ala Arg Phe
50 55 60

Arg Gly Arg Val Ala Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Arg Leu Thr Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln His Arg Gly Asn Thr Phe Asp Pro Trp Gly Lys Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

```
Gly Gly Gly Gly Ser Ala Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala
    130                 135                 140

Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser
145                 150                 155                 160

Ser Asp Val Gly Gly Tyr Lys Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro
                165                 170                 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Glu Val Ser Met Arg Pro Ser
            180                 185                 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
        195                 200                 205

Leu Thr Val Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220

Ala Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Asn Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225                 230                 235                 240

Leu Thr Val Leu Gly
                245
```

<210> 49
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1014G04 scFv

<400> 49

```
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Lys Arg Pro Gly Ala
  1               5                  10                  15

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

Phe Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Phe Asn Pro Asp Ser Gly Thr Ala Asp Ser Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

His Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Phe
65                  70                  75                  80

Leu Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Val Arg Gln His Arg Gly Asn Thr Phe Ala Pro Trp Gly Arg Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala
    130                 135                 140
```

```
Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser
145                 150                 155                 160

Ser Asp Val Gly Ser Tyr Glu Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro
                165                 170                 175

Gly Lys Ala Pro Arg Leu Met Ile Ser Glu Val Asn Lys Arg Pro Ser
            180                 185                 190

Gly Val Pro Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
        195                 200                 205

Leu Thr Val Ser Gly Leu Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220

Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Asn Asn Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val Thr Val Leu Gly
                245

<210> 50
<211> 250
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1015A02 scFv

<220>
<221> SITE
<222> (250)
<223> Xaa equals either Gly or Ser

<400> 50
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
  1               5                  10                  15

Thr Leu Ser Leu Lys Cys Asn Val Ser Gly Gly Ser Ile Gly Thr Gly
             20                  25                  30

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
         35                  40                  45

Trp Ile Gly Tyr Ile His Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Lys Pro Ser
     50                  55                  60

Leu Arg Ser Arg Leu Thr Val Ser Met Asp Thr Ser Arg Asn Gln Phe
 65                  70                  75                  80

Ser Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr
                 85                  90                  95

Cys Val Arg Glu Trp Ala Asn Gly Asp His Trp Ser Ala Phe Asp Leu
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125
```

```
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ala Val Leu Thr
    130                 135                 140

Gln Pro Ser Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Pro
145                 150                 155                 160

Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Gly Asn Thr Val Asn Trp Tyr
                165                 170                 175

Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Asn Asp
            180                 185                 190

Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
        195                 200                 205

Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala
    210                 215                 220

Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ile Gly Tyr Val Phe
225                 230                 235                 240

Gly Thr Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Xaa
                245                 250


<210> 51
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1015A07 scFv

<400> 51
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
  1               5                  10                  15

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

Phe Ile His Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Phe Asn Pro Ile Ser Gly Thr Ala Asp Ser Pro Gln Lys Phe
    50                  55                  60

His Gly Arg Val Ala Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Thr Arg Leu Ala Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gln His His Ser Asn Thr Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Met
    130                 135                 140
```

```
Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser
145                 150                 155                 160

Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro
                165                 170                 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Ala Val Thr Asn Arg Pro Ser
            180                 185                 190

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Ala Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
        195                 200                 205

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Asn Thr Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val Thr Val Leu Gly
                245
```

<210> 52
<211> 245
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1015E01 scFv

<220>
<221> SITE
<222> (4)
<223> Xaa equals Val or Leu

<220>
<221> SITE
<222> (5)
<223> Xaa equals Ala or Val

<220>
<221> SITE
<222> (7)
<223> Xaa equals Ala or Ser

<220>
<221> SITE
<222> (10)
<223> Xaa equals Asp or Glu

<220>
<221> SITE
<222> (12)
<223> Xaa equals Asn or Lys

<220>
<221> SITE
<222> (23)
<223> Xaa Met or Lys

<400> 52
Glu Val Gln Xaa Xaa Gln Xaa Gly Ala Xaa Val Xaa Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Phe Ile His Trp Leu Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Phe Asn Pro Ile Ser Gly Thr Ala Asp Ser Pro Gln Lys Phe
50 55 60

His Gly Arg Val Ala Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Thr Arg Leu Ala Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln His His Ser Asn Thr Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Met
130 135 140

Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser
145 150 155 160

Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Ala Val Thr Asn Arg Pro Ser
180 185 190

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Ala Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Asn Thr Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240

Val Thr Val Leu Gly
245

<210> 53
<211> 249
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220>
<223> T1006F07 scFv

<400> 53
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Glu Pro Ser Phe Gln Gln Trp Gly His Tyr Ser Tyr Gly Met
            100                 105                 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gln Ser Val
    130                 135                 140

Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Ala Ala Arg
145                 150                 155                 160

Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Ser Trp Tyr
                165                 170                 175

Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr Gln Asp Asn
            180                 185                 190

Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly
        195                 200                 205

Asn Thr Ala Thr Leu Lys Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala
    210                 215                 220

Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Ser Ser Ala Asp Trp Val Phe Gly
225                 230                 235                 240

Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
                245
```

<210> 54
<211> 735
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1014A04 scFv

<400> 54
gaggtgcagc tggtgcagtc tggggctgac gtgaagaggc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaaga tttctggaga cagcttcaac gcctacttta ttcactgggt gcgtcaggcc 120
cctggacagg ggcttgagtg gatgggatgg ttcaaccctg acagtggtac cgcagactct 180
gcacagaagt ttcacggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccagcag tactgccttc 240

ttggagctga gcagactgag atctgacgac acagccgtgt attactgtgt gagacaacat 300
cggggtaaca cgttcgcccc ctggggccgg gggacaatgg tcaccgtctc gagtggaggc 360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cacagtctgt gctgactcag 420
ccaccctccg cgtccgggtc tcctggacag tcagtcacca tctcctgcac tggaaccacc 480
agtgacgttg gtggttataa ctatgtctcc tggtaccaac agcacccagg caaagccccc 540
aaactcatga tttatggggt caatcagcgg ccctcagggg tccctgatcg cttctctggc 600
tccaagtctg gcaacacggc ctccctgacc gtctctgggc tccaggctga ggatgaggct 660
gattattact gcagttcata tgcaggcagc aacaattggg tgttcggcgg agggaccaag 720
ctgaccgtcc taggt 735

<210> 55
<211> 735
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1014G03 scFv

<400> 55
gaggtccagc tggtacagtc tggagctgaa gtgaagatgc ctggggcctc agtcaagctc 60
tcctgcaggg tttctggaga caccttcacc gcctacttca ttcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg ttcaacccta tcagtggcac cgcaggctct 180
gctgagaagt ttcgcggcag ggtcgccatg accagggaca cgtccatcag cactgcctac 240
atggaattga acaggctgac atttgacgac acggccgtct attattgtgc gagacaacat 300
cgggggaata cgtttgaccc ctggggccag ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cacagtctgc cctgactcag 420
cctgcctccg tgtctgggtc tcctggacag tcgatcacca tctcctgcac tggaaccagc 480
agtgacattg gtgcttataa gtatgtctcc tggtatcaac aacacccagg caaagccccc 540
aaacttgtga tttatgaggt cagtaatcgg ccctcagggg tttccagtcg cttctctggc 600
tccaagtctg gccagacggc ctccctgacc atctctgggc tccaggctga cgacgaggct 660
gattattact gcaactcata tcaaggttac aacacgtggg tgttcggcgg agggaccaag 720
gtcaccgtcc taggt 735

<210> 56
<211> 732
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1014A02 scFv

<400> 56
caggtgcagc tgcaggagtc cggcccagga ctggtgaagc cctcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt gattactact ggagttgggt ccggcagtcc 120
cccgggaagg gactggagtg gattgggtct atcgattatg ccggcagcac caattacaac 180
ccgtccctca agagccgagt caccatgaca atagacaagt ccaagaagca attccccctg 240
aagatagatt ctgtgaccgc cgcagatacg gccatgtatt actgtgcgag acaacttggg 300
cggatttctg actactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcgagtgg aggcggcggt 360
tcaggcggag gtggctctgg cggtggcgga agtgcacttt cctatgtgct gactcagcca 420
ccctcagcgt ctgggacccc cgggcagagg gtcaccatct cttgtgctgg aagcagctcc 480
aacatcggag gaaatactgt aaactggtac cagcaactcc cagcaacggc ccccaaactc 540
ctcatctata gtaataatca gcggccctca ggggtccctg accgattctc tggctccaag 600
tctggcacgt cagcctccct ggccatcagt gggctccagt ctgaggatga ggctgattat 660
tactgtgcaa catgggatga cagtcggggt ggttgggtgt tcggcggagg gaccaagctg 720
accgtcctag gt 732

<210> 57
<211> 735
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1014A12 scFv

<400> 57
gaggtccagc tggtgcagtc tggggctgac gtgaagaggc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaaga tttctggaga cagcttcacc gcctacttta ttcactgggt gcgtcaggcc 120
cctggacagg ggcttgagtg gatgggatgg ttcaaccctg acagtggtac cgcagactct 180
gcacagaagt ttcacggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccagcag tactgccttc 240
ttggagctga gcagactgag atctgacgac accgccgtat attactgtgt gagacaacat 300
cggggtaaca cgttcgcccc ctggggccgg gggacaatgg tcaccgtctc gagtggaggc 360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cacagtctgc cctgactcag 420
cctgcctccg tgtctggtcc tcctggacag tcgatcacca tctcctgcac tggatccagc 480
agtgacgttg gtggttataa gtatgtctcc tggtaccaac aacacccagg caaagccccc 540
aaactcatta ttcatgatgt cagtaggcgg ccctcagagg tttctagtcg cttctctggc 600
tccaagtctg gcaacacggc ctccctgacc atctctgggc tccaggctga ggacgaggct 660
gagtactact gcagctcata ttcaagcacc aactcttggg tgttcggcgg agggaccaag 720
gtcaccgtcc taggt 735

<210> 58
<211> 735
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1014B01 scFv

<400> 58
caggtccagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaaga tttctggaga caccttcgcc gcctacttta ttcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggctggagtg gatgggatgg ttcaacccta acagtggtac cgcagactct 180
tcacagaagt ttcacggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cactgcctac 240
atggagttga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attattgtgc gagacaacat 300
cggtctaata cgttcgaccc ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc gagtggaggc 360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cacagtctgt cgtgacgcag 420
ccgccctcag tgtctgggtc cctggacag tcagtcacca tctcctgcac tggaaccagc 480
agtgacattg gtgcttataa ttatgtctcc tggttccagc agcacccagg taaagccccc 540
aaactcataa tttctgaggt cagtaagcgg ccctcagggg tccctgatcg cctctctggc 600
tccaagtctg gcaacacggc ctccctgacc gtctccgggc tccaggctga ggatgaggct 660
gattattact gcggctcata tgcaggcagc aatatttggg tgttcggcgg agggaccaag 720
gtcaccgtcc taggt 735

<210> 59
<211> 735
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1014B11 scFv

<400> 59
gaggtccagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtaaaggtc 60
tcctgcaaga tttctggaga cagcttcacc gcctatttta ttcactggct gcgacaggcc 120
cctggagaag ggcttgagtg gatgggatgg ttcaatccta tcagcggtac cgccggctct 180
ccacagaagt ttcacggcag ggtcgccatg acccgtgaca cgtccatcag tactgcctac 240
atggagttga ccaggctggc atctgacgac acggccattt attattgtgc gagacaacat 300
cactctaata cgttcgaccc ctggggccaa ggaaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cacaatctgc cctgactcag 420
cctgcctccg tgtctgggtc tcctggacag tcgatcacca tctcctgcac tggaaccaac 480
agtgacgttg gtggttacaa ctatgtctcc tggtaccaac aacacccagg caaagccccc 540

aaactcatga tttatgaggt caataatcgg ccctcagggg tttctaatcg cttctctggc 600
tccaagtctg gcaacacggc ctccctgacc atctctgggc tccaggctga cgacgaggct 660
gattattact gcagctcata tacaaccagc aacacttggg tgttcggcgg agggaccaag 720
ctgaccgtcc taggt 735

<210> 60
<211> 735
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1014F08 scFv

<400> 60
gaggtccagc tggtgcagtc tggggctgaa gtgaagaagc ctggggcctc agtcaagctc 60
tcctgcaggg tttctggaga caccttcacc gcctacttca ttcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcctgagtg gatgggatgg ttcaacccta tcagtggcac cgcaggctct 180
gctgcgaggt ttcgcggcag ggtcgccatg accagggaca cgtccatcag cactgcctac 240
atggaattga acaggctgac atttgacgac acggccgtct attattgtgc gagacaacat 300
cgggggaata cctttgaccc ctggggcaaa ggcaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cactgcctgt gctgactcag 420
ccaccctccg cgtccgggtc tcctggacag tcagtcacca tctcctgcac tggaaccagc 480
agtgacgttg gtggttataa gtatgtctcc tggtaccaac agcacccagg caaagccccc 540
aaactcatga tttatgaggt cagtatgcgg ccgtcagggg tcccggatcg cttctctggc 600
tccaagtctg gcaacacggc ctccctgacc gtctctgggc tccaggctga ggatgaggct 660
gattattact gcgcctcata tgcaggcagc aacaattggg tgttcggcgg agggaccaag 720
ctgaccgtcc taggt 735

<210> 61
<211> 735
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1014G04 scFv

<400> 61
gaagtgcagc tggtgcagtc tggggctgac gtgaagaggc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaaga tttctggaga cagcttcacc gcctacttta ttcactgggt gcgtcaggcc 120
cctggacagg ggcttgagtg gatgggatgg ttcaaccctg acagtggtac cgcagacttt 180
gcacagaagt ttcacggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccagcag tactgccttc 240
ttggagctga gcagactgag atctgacgac accgccgtat attactgtgt gagacaacat 300
cggggtaaca cgttcgcccc ctggggcagg ggaaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cacagcctgt gctgactcag 420
ccccctccg cgtccgggtc gcctggacag tcagtcacca tctcctgcac tggaaccagc 480
agtgacgttg gtagttatga gtatgtctcc tggtaccaac aacacccagg caaagccccc 540
agactcatga tttctgaggt caataagcgg ccctcagggg tccctaatcg cttctctggc 600
tccaagtctg gcaacacggc ctccctgacc gtctctgggc tccaggctga cgatgaggct 660
gattactact gcagctcata tgcaggcagc aacaattggg tgttcggcgg agggaccaag 720
gtcaccgtcc taggt 735

<210> 62
<211> 750
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1015A02 scFv

<400> 62

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
aaatgcaatg tctctggtgg ctccattggt actggtgatt actattggag ttggatccgc 120
cagccccag ggaagggcct ggagtggatt ggctacatcc atagcagtgg gagcacttat 180
tacaagccgt ccctcaggag tcgacttacc gtatcgatgg atacgtccag gaatcagttc 240
tccctgaagc tgacctctgt gactgccgca gacacggcac tgtattactg tgtcagagag 300
tgggccaatg gtgaccactg gagtgcattt gaccctctggg gccaaggaac cctggtcacc 360
gtctcgagtg gaggcggcgg ttcaggcgga ggtggctctg gcggtggcgg aagtgcacag 420
gctgtgctga ctcagccgtc ctcagcgtct gggacccccg ggcagagggt cactatcccc 480
tgttctggaa gcagctccaa catcggaggt aatactgtta attggtacca acaactccca 540
ggaacggccc ccaaactcct catctatggt aatgatcagc ggccgtcagg ggtccctgac 600
cgattctctg gctccaagtc tggcacctca gcctccctgg ccatcactgg gctccagtct 660
gaggatgagg ctgattatta ctgtgcagca tgggatgaca gcctgattgg ttatgtcttc 720
ggaactggga cccagctcac cgttttargt 750

<210> 63
<211> 735
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1015A07 scFv

<400> 63
gaagtgcagc tggcgcagtc tggcgctgag gtgaataagc ctggggcctc agtaaaggtc 60
tcctgcaaga tttctggaga cagcttcacc gcctatttta ttcactggct gcgacaggcc 120
cctggagaag ggcttgagtg gatgggatgg ttcaatccta tcagcggtac cgccgactct 180
ccacagaagt ttcacggcag ggtcgccatg acccgtgaca cgtccatcag tactgcctac 240
atggagttga ccaggctggc atctgacgac acggccattt attattgtgc gagacaacat 300
cactctaata cgttcgaccc ctggggccaa ggaaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cacagtctgc cctgactcag 420
cctgcctcca tgtctgggtc tcctggacag tcgatcacca tctcctgcac tggaaccagc 480
agtgacgttg gtggttataa ctatgtctcc tggtaccaac agcacccagg caaagccccc 540
aaactcatga tttatgcggt cactaatcgg ccctcagggg tttctaatcg cttctctgcc 600
tccaagtctg gcaacacggc ctccctgacc atctctgggc tccaggctga ggacgaggct 660
gattattact gcagctcata tacaagcagc aacacttggg tgttcggcgg agggaccaag 720
gtcaccgtcc taggt 735

<210> 64
<211> 735
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1015E01 scFv

<400> 64
gaagtgcags tggygcagkc tggsgctgas gtgaakaagc ctggsgcctc agtaaaggtc 60
tcctgcawga tttctggaga cagcttcacc gcctatttta ttcactggct gcgacaggcc 120
cctggagaag ggcttgagtg gatgggatgg ttcaatccta tcagcggtac cgccgactct 180
ccacagaagt ttcacggcag ggtcgccatg acccgtgaca cgtccatcag tactgcctac 240
atggagttga ccaggctggc atctgacgac acggccattt attattgtgc gagacaacat 300
cactctaata cgttcgaccc ctggggccaa ggaaccctgg tcaccgtctc gagtggaggc 360
ggcggttcag gcggaggtgg ctctggcggt ggcggaagtg cacagtctgc cctgactcag 420
cctgcctcca tgtctgggtc tcctggacag tcgatcacca tctcctgcac tggaaccagc 480
agtgacgttg gtggttataa ctatgtctcc tggtaccaac agcacccagg caaagccccc 540
aaactcatga tttatgcggt cactaatcgg ccctcagggg tttctaatcg cttctctgcc 600
tccaagtctg gcaacacggc ctccctgacc atctctgggc tccaggctga ggacgaggct 660
gattattact gcagctcata tacaagcagc aacacttggg tgttcggcgg agggaccaag 720
gtcaccgtcc taggt 735

<210> 65
<211> 747
<212> DNA
<213> Artificial sequence

<220>
<223> DNA encoding T1006F07 scFv

<400> 65
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaacca 300
tcctttcagc agtggggcca ctactcctac ggtatggacg tctggggcca ggggacaatg 360
gtcaccgtct cgagtggagg cggcggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggaagt 420
gcacagtctg tgctgactca gccaccgtca gtgtccgtgt ccccaggaca ggcagccaga 480
atcacctgct ctggagataa gttgggggat aaatatgctt cgtggtatca acagaggcca 540
ggccagtccc ctgttttggt catctatcaa gataacaaaa ggccctcagg gatccctgag 600
cgattctctg gctccaattc tgggaacaca gccactctga aaatcagcgg gacccaggct 660
atggatgagg ctgactatta ctgtctggcg tgggacagca gcgctgattg ggtcttcggc 720
ggagggacca aggtcaccgt cctaggt 747

<210> 66
<211> 281
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 66
Met Ala Met Met Glu Val Gln Gly Gly Pro Ser Leu Gly Gln Thr Cys
1 5 10 15

Val Leu Ile Val Ile Phe Thr Val Leu Leu Gln Ser Leu Cys Val Ala
20 25 30

Val Thr Tyr Val Tyr Phe Thr Asn Glu Leu Lys Gln Met Gln Asp Lys
35 40 45

Tyr Ser Lys Ser Gly Ile Ala Cys Phe Leu Lys Glu Asp Asp Ser Tyr
50 55 60

Trp Asp Pro Asn Asp Glu Glu Ser Met Asn Ser Pro Cys Trp Gln Val
65 70 75 80

Lys Trp Gln Leu Arg Gln Leu Val Arg Lys Met Ile Leu Arg Thr Ser
85 90 95

Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro
100 105 110

Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly
115 120 125

Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu
130 135 140

Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly
145 150 155 160

```
His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile
                165                 170                 175

His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe
            180                 185                 190

Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln
        195                 200                 205

Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys
    210                 215                 220

Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr
225                 230                 235                 240

Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile
                245                 250                 255

Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala
            260                 265                 270

Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
        275                 280
```

【図１】

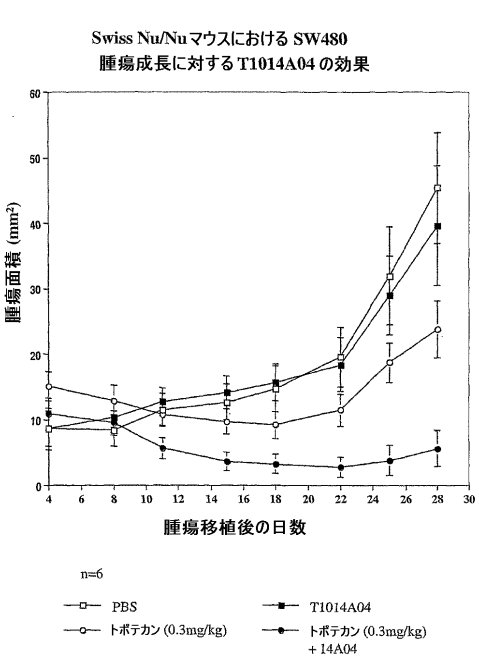

FIG. 1

【図２】

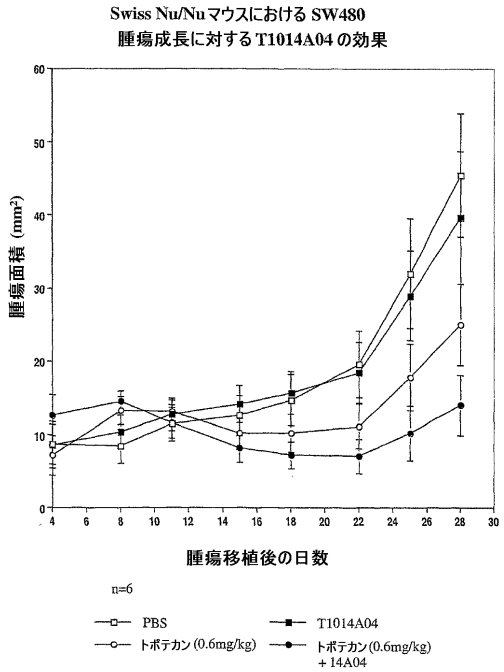

FIG. 2

【図３】

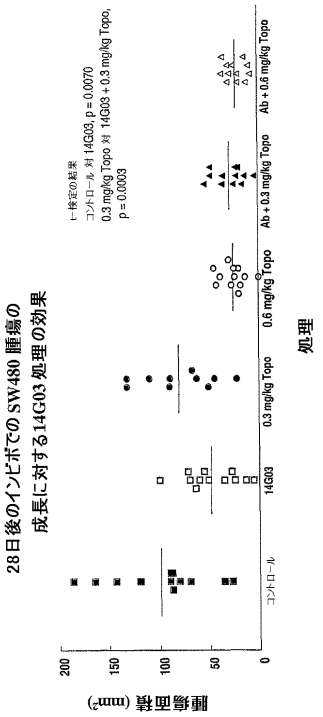
28日後のインビボでのSW480腫瘍の
成長に対する14G03処理の効果
腫瘍面積 (mm²)
200
150
100
50
0
処理
コントロール
14G03
0.3 mg/kg Topo
0.6 mg/kg Topo
Ab + 0.3 mg/kg Topo
Ab + 0.6 mg/kg Topo
t-検定の結果
コントロール 対 14G03, p = 0.0070
0.3 mg/kg Topo 対 14G03 + 0.3 mg/kg Topo,
p = 0.0003

FIG. 3

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI	
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N 5/00	A
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K 39/395	N
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61K 39/395	T
G01N 33/53	*(2006.01)*	A61P 35/00	
G01N 33/574	*(2006.01)*	G01N 33/53	D
C12P 21/08	*(2006.01)*	G01N 33/574	Z
		C12P 21/08	

(31)優先権主張番号 60/309,176
(32)優先日 平成13年8月2日(2001.8.2)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/323,807
(32)優先日 平成13年9月21日(2001.9.21)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/327,364
(32)優先日 平成13年10月9日(2001.10.9)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/331,044
(32)優先日 平成13年11月7日(2001.11.7)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/331,310
(32)優先日 平成13年11月14日(2001.11.14)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/341,237
(32)優先日 平成13年12月20日(2001.12.20)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 60/369,860
(32)優先日 平成14年4月5日(2002.4.5)
(33)優先権主張国 米国(US)

微生物の受託番号 ATCC PTA-3570
微生物の受託番号 ATCC PTA-3571
微生物の受託番号 ATCC PTA-3675
微生物の受託番号 ATCC 209037
微生物の受託番号 ATCC 209038
微生物の受託番号 ATCC 209039
微生物の受託番号 ATCC 209040
微生物の受託番号 ATCC 209041
微生物の受託番号 ATCC 209042
微生物の受託番号 ATCC 97919
微生物の受託番号 ATCC 97920
微生物の受託番号 ATCC 97921
微生物の受託番号 ATCC 97922
微生物の受託番号 ATCC 97923
微生物の受託番号 ATCC 97924
微生物の受託番号 ATCC 97853
微生物の受託番号 ATCC 97798

微生物の受託番号 ATCC 97801

(72)発明者 サルセド, セオドラ
アメリカ合衆国 メリーランド ２０８８６, モンゴメリー ビレッジ, フェザーツリー テラス ９８１０
(72)発明者 ルーベン, スティーブン エム.
アメリカ合衆国 メリーランド ２０８３３, ブルックビル, ピライト レーン １９４２０
(72)発明者 ローゼン, クレイグ エイ.
アメリカ合衆国 メリーランド ２０８８２, レイトンズビル, ローリング ヒル レイン ２２４００
(72)発明者 アルバート, ビビアン アール.
アメリカ合衆国 メリーランド ２０８５０, ロックビル, ミルズ ファーム ロード １３７１０
(72)発明者 ドブソン, クラリー ルイス
イギリス国 シービー４ １エフゼット ケンブリッジショア, ケンブリッジ, ウッドヘッド ドライブ, ブラックソーン クローズ ６１
(72)発明者 ヴォーン, トリスタン ジョン.
イギリス国 シービー２ ５エイキュー ケンブリッジショア, ケンブリッジ, グレイト シェルフォード, コパイス アベニュー ２５

審査官 清水 晋治

(56)参考文献 国際公開第００／０７３３４９（WO, Ａ１）
Nature biotechnology. 1996, Vol.14, No.3, p.309-314
Journal of immunology. 2001, Vol.166, No.8, p.4891-4898

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
C12N 15/00-15/90
C07K 14/00-19/00
PubMed
JSTPlus(JDreamII)
JMEDPlus(JDreamII)
SwissProt/PIR/GeneSeq
GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

专利名称(译)	免疫特异性结合TRAIL受体的抗体		
公开(公告)号	JP4309758B2	公开(公告)日	2009-08-05
申请号	JP2003500202	申请日	2002-05-07
[标]申请(专利权)人(译)	人类基因科学公司		
申请(专利权)人(译)	人类Jinomu科学公司		
当前申请(专利权)人(译)	人类Jinomu科学公司		
[标]发明人	サルセドセオドラ ルーベンスティーブンエム ローゼンクレイグエイ アルバートビビアンアール ドブソンクラリールイス ヴォーントリスタンジョン		
发明人	サルセド, セオドラ ルーベン, スティーブン エム. ローゼン, クレイグ エイ. アルバート, ビビアン アール. ドブソン, クラリー ルイス ヴォーン, トリスタン ジョン.		
IPC分类号	C07K16/30 C12N15/09 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K39/395 A61P35/00 G01N33/53 G01N33/574 C12P21/08 A61K31/00 A61K45/00 A61K45/06 A61P1/00 A61P1/18 A61P11/00 A61P15/00 A61P17/00 A61P25/00 A61P31/18 A61P37/06 C07K16/28		
CPC分类号	A61K31/00 A61K39/395 A61K45/06 A61K2039/505 A61P1/00 A61P1/18 A61P11/00 A61P15/00 A61P17/00 A61P25/00 C07K16/2878 C07K16/30 C07K2317/565 C07K2317/622 A61K2300/00		
FI分类号	C07K16/30 C12N15/00.ZNAA C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.A A61K39/395.N A61K39/395.T A61P35/00 G01N33/53.D G01N33/574.Z C12P21/08		
代理人(译)	夏木森下		
审查员(译)	清水慎		
优先权	60/293473 2001-05-25 US 60/294981 2001-06-04 US 60/309176 2001-08-02 US 60/323807 2001-09-21 US 60/327364 2001-10-09 US 60/331044 2001-11-07 US 60/331310 2001-11-14 US 60/341237 2001-12-20 US 60/369860 2002-04-05 US		
其他公开文献	JP2005515963A5 JP2005515963A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及免疫特异性结合TRAIL受体TR4的抗体或相关分子。此类抗体可用于例如预防和治疗癌症和其他增殖性疾病。本发明还涉及编码抗TR4抗体的核酸，包含这些核酸的载体和宿主细胞，以及制备它们的方法。本发明涉及用于预防，检测，诊断，治疗或改善疾病或病症，特别是癌症和其他过度增殖性疾病的方法和组合物，所述方法包括用免疫特异性免疫TRAIL受体TR4。包括给动物（优选人）施用有效量的一种或多种抗体或其片段或变体或相关分子，其结合动物（优选人）。

登记号	序列表中的SEQ ID NO:	DNA编码	VH	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	抗体名称/别名	ATCC 专利保藏品
TT01H4A04	42	54	1-18	28-35	50-66	99-107	136-245	157-170	186-192	225-234	NSO-TRAIL-R4 P4-B2-B1	ATCC 2010年7月8日
TT01H4B03	43	55	1-18	28-35	50-66	99-107	136-245	157-170	186-192	225-234	TRAIL-R4 NSO 14G8-B3 P1-A7	ATCC 2010年7月8日
TT01H4B22	44	56	1-18	28-35	50-66	99-105	134-244	155-169	184-190	223-233		
TT01H4F12	45	57	1-18	28-35	50-66	99-107	136-245	157-170	186-192	225-234		
TT01H4G01	46	58	1-18	28-35	50-66	99-107	136-245	157-170	186-192	225-234		
TT01H4G11	47	59	1-18	28-35	50-66	99-107	136-245	157-170	186-192	225-234		
TT01H4P06	48	60	1-18	28-35	50-66	99-107	136-245	157-170	186-192	225-234	NSO 抗-TRAIL-H4P06 B2B7-P1-1	ATCC 2010年8月19日
TT01H4P04	49	61	1-18	28-35	50-66	99-107	136-245	157-170	186-192	225-234		
TT01H4Q02	50	62	1-20	28-37	52-67	100-112	140-250	160-174	190-196	229-239		
TT01H4Q07	51	63	1-18	28-35	50-66	99-107	136-245	157-170	186-192	225-234		
TT01H5E01	52	64	1-18	28-35	50-66	99-107	136-245	157-170	186-192	225-234		
TT01H5H07	53	65	1-25	28-35	50-66	99-114	142-249	164-174	194-200	233-243		