

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード [*] (参考)
C 0 7 K 14/31	ZNA	C 0 7 K 14/31	ZNA 2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/00		A 6 1 K 39/085	4 C 0 8 4
39/085		A 6 1 P 7/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 7/00		29/00	4 H 0 4 5
29/00		35/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 (全 38数) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2000 - 617917(P2000 - 617917)	(71)出願人	ユニバーシティ オブ カリフォルニア , サン ディエゴ アメリカ合衆国カリフォルニア州92093,ラ ホヤ,ジルマン ドライブ 9500
(86)(22)出願日	平成12年5月15日(2000.5.15)	(72)発明者	シルバーマン, グレッグ・ジェイ アメリカ合衆国カリフォルニア州92024,エ ンシニタス,クウェイル ガーデン コート 1256
(85)翻訳文提出日	平成13年11月15日(2001.11.15)	(74)代理人	弁理士 田中 玲子 (外 1 名)
(86)国際出願番号	PCT/US00/13402		
(87)国際公開番号	W000/69457		
(87)国際公開日	平成12年11月23日(2000.11.23)		
(31)優先権主張番号	60/134,386		
(32)優先日	平成11年5月15日(1999.5.15)		
(33)優先権主張国	米国(US)		
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 望ましい活性を有するプロテインAに基づく結合ドメイン

(57)【要約】

免疫グロブリン（ I g ）への結合に関するブドウ球菌プロテインA（ S p A ）変種が提供される。該変種は， 1 またはそれ以上のアミノ酸において S p A の天然の可変重鎖 I I I (“ V_H 3 ”) I g - F a b 結合領域 (“ 結合領域 ”) のアミノ酸配列と異なるポリペプチドを含み，ここで，ポリペプチドは， I g - F a b に対して S p A とは異なる結合特異性を示すか，または非 - I g 標的分子に対して S p A とは異なる結合特異性を示す。さらに，変種を製造する方法および I g の精製ならびに診断および治療的介入のために変種を使用する方法が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 SpAの天然の可変重鎖III (“V_H3”) Ig-Fab結合領域 (“結合領域”) のアミノ酸配列と1またはそれ以上のアミノ酸において異なるポリペプチドを含む、免疫グロブリン(Ig)への結合についてのブドウ球菌プロテインA(SpA)変種であって、ポリペプチドはIg-Fabに対してSpAとは異なる結合特異性を示すことを特徴とするSpA変種。

【請求項2】 ポリペプチドが、1またはそれ以上のアミノ酸において、ドメインE、D、A、BおよびCからなる群より選択されるSpAのV_H3Ig-Fab結合領域のアミノ酸配列と異なる、請求項1記載のSpA変種。

【請求項3】 ポリペプチドが、1またはそれ以上のアミノ酸においてSpAのドメインDのV_H3Ig-Fab結合領域のアミノ酸配列と異なり、前記結合領域がSpAの残基1-61からなる、請求項2記載のSpA変種。

【請求項4】 ポリペプチドがIg-Fcに対する結合特異性をさらに有する、請求項1記載のSpA変種。

【請求項5】 ポリペプチドがIg-Fcに対してSpAと異なる結合特異性を有する、請求項4記載のSpA変種。

【請求項6】 ポリペプチドのアミノ酸の1またはそれ以上が、Ala25、Gly29、Phe30、Ser33、Asp36、Asp37およびVal44からなるSpAドメインD結合領域アミノ酸の群と異なる、請求項3記載のSpA変種。

【請求項7】 ポリペプチドが、
a) アミノ酸配列が1またはそれ以上のアミノ酸においてSpAのV_H3Ig-Fab結合領域と異なるポリペプチドのライブラリを調製し；そして、
b) Ig-Fabをライブラリと接触させ、前記ポリペプチドが前記Ig-Fabに対してSpAと異なる結合特異性を有するか否かを判定することにより、ライブラリから1またはそれ以上のポリペプチドを選択する、
の工程からなる方法により製造される、請求項1記載のSpA変種。

【請求項8】 SpAのV_H3Ig-Fab結合領域がドメインDであり、かつ工程(b)において選択されるポリペプチドが前記Ig-Fabに対してS

p AのドメインDと異なる結合特異性を有する，請求項7記載のS p A変種。

【請求項9】 ポリペプチド中のアミノ酸の1またはそれ以上が，A l a 2 5，G l y 2 9，P h e 3 0，S e r 3 3，A s p 3 6，A s p 3 7およびV a l 4 4からなるS p AドメインD結合領域アミノ酸の群とは異なる，請求項8記載のS p A変種。

【請求項10】 ポリペプチドが蛋白質合成により製造される，請求項1記載のS p A変種。

【請求項11】 S p AのV_H3 I g - F a b結合領域がドメインDであり，かつ合成されるポリペプチドが前記I g - F a bに対してS p AのドメインDとは異なる結合特異性を有するものである，請求項10記載のS p A変種。

【請求項12】 ポリペプチド中のアミノ酸の1またはそれ以上が，A l a 2 5，G l y 2 9，P h e 3 0，S e r 3 3，A s p 3 6，A s p 3 7およびV a l 4 4からなるS p AドメインD結合領域アミノ酸の群とは異なる，請求項11記載のS p A変種。

【請求項13】 ライブラリが，
(a ') S p A結合領域変種をコードする核酸のライブラリを調製し；次に
(b ') ライブラリを選択する前に核酸を適当な宿主中で発現させる，
の工程により調製される，請求項7記載のS p A変種。

【請求項14】 ライブラリが，それぞれその表面においてS p A結合領域変種を表示する糸状バクテリオファージのライブラリであり，および各糸状バクテリオファージがバクテリオファージの表面において表示されるS p A結合領域変種をコードする核酸を含む，請求項7記載のS p A変種。

【請求項15】 ポリペプチドがV_H3 I g - F a bに対する結合特異性を有する，請求項1記載のS p A変種。

【請求項16】 ポリペプチドがV_H3以外の可変重鎖領域クランのI g - F a bに対する結合特異性を有する，請求項1記載のS p A変種。

【請求項17】 S p Aの可変重鎖I I I (“ V_H3 ”) I g - F a b結合領域 (“ 結合領域 ”) のアミノ酸配列と1またはそれ以上のアミノ酸において異なるポリペプチドを含むブドウ球菌プロテインA (“ S p A ”) 変種であって，

ポリペプチドは非-Ig標的分子に対してSpAとは異なる結合特異性を示すことを特徴とするSpA変種。

【請求項18】 ポリペプチドが、1またはそれ以上のアミノ酸においてドメインE、D、A、BおよびCからなる群より選択されるSpAのV_H3Ig-Fab結合領域のアミノ酸配列と異なる、請求項17記載のSpA変種。

【請求項19】 ポリペプチドが、1またはそれ以上のアミノ酸においてSpAのドメインDのV_H3Ig-Fab結合領域のアミノ酸配列と異なり、前記結合領域がSpAの残基1-61からなる、請求項18記載のSpA変種。

【請求項20】 ポリペプチドのアミノ酸の1またはそれ以上が、Ala25、Gly29、Phe30、Ser33、Asp36、Asp37およびVal44からなるSpAドメインD結合領域アミノ酸の群と異なる、請求項19記載のSpA変種。

【請求項21】 ポリペプチドが、
c) 1またはそれ以上のアミノ酸においてSpAのV_H3Ig-Fab結合領域とアミノ酸配列が異なるポリペプチドのライブラリを製造し；そして
d) 標的分子をライブラリと接触させ、前記1またはそれ以上のポリペプチドが前記標的分子に対してSpAとは異なる結合特異性を有するか否かを判定することにより、ライブラリから1またはそれ以上のポリペプチドを選択する、
の工程からなる方法により製造される、請求項17記載のSpA変種。

【請求項22】 SpAのV_H3Ig-Fab結合領域がドメインDであり、および工程(b)において選択されるポリペプチドが標的分子に対してSpAのドメインDとは異なる結合特異性を有するものである、請求項21記載のSpA変種。

【請求項23】 ポリペプチド中のアミノ酸の1またはそれ以上が、Ala25、Gly29、Phe29、Ser30、Asp36、Asp37およびVal44からなるSpAドメインD結合領域アミノ酸の群と異なる、請求項22記載のSpA変種。

【請求項24】 ポリペプチドが蛋白質合成により製造される、請求項17記載のSpA変種。

【請求項25】 SpAのV_H3 Ig - Fab結合領域がドメインDであり、かつ合成されるポリペプチドが標的分子に対してSpAのドメインDと異なる結合特異性を有するものである、請求項24記載のSpA変種。

【請求項26】 ポリペプチド中のアミノ酸の1またはそれ以上が、Ala25, Gly29, Phe30, Ser33, Asp36, Asp37およびVal44からなるSpAドメインD結合領域アミノ酸の群と異なる、請求項25記載のSpA変種。

【請求項27】 ライブラリがそれぞれその表面でSpA結合領域変種を表示する糸状バクテリオファージのライブラリであり、かつ各糸状バクテリオファージがバクテリオファージの表面上で表示されるSpA結合領域変種をコードする核酸を含む、請求項25記載のSpA変種。

【請求項28】 リンパ球の試料においてIg - Fab発現リンパ球サブセットの存在を検出する方法であって、請求項1記載のSpA変種を用いて試料をアッセイすることを含む方法。

【請求項29】 細胞の試料において生物学的細胞サブセットを発現する標的分子の存在を検出する方法であって、請求項17記載のSpA変種を用いて試料をアッセイすることを含む方法。

【請求項30】 特定のサブセットに属するリンパ球の数が異常に上昇している個体において該リンパ球サブセットに属するIg - Fab発現リンパ球の数を減少させる方法であって、請求項1記載のSpA変種を個体に投与することを含み、ここで、SpA変種の投与は個体において標的とされている数を減少させ、かつ前記減少は個体の健康に有益な治療効果を有することを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】****発明の分野**

本発明は、炎症性、免疫性および新生物性疾病の診断および治療、およびこれらの疾病の診断的および治療的介入のためのブドウ球菌プロテインAに由来するドメイン変種の製造、および他の望ましい活性を有する変種の生成に関する。

【0002】**発明の背景**

ある種の炎症性、血液性および免疫性疾患の診断および治療において重要なことは、免疫系中の限定された分子標的に対する結合特異性を示す試薬を調製することである。そのような試薬を治療的に用いる場合、現在の多くの化学療法または"免疫調節性"の治療薬に付随する有害な非特異的毒性効果を回避することが最も重要である。

【0003】

抗体薬剤は、免疫疾患の診断および治療に広く用いられてきた。免疫B細胞およびB細胞由来白血病の場合、B細胞の表面上に表示される免疫グロブリン(Ig)分子は、特異的試薬により検出するための魅力的な標的を提供する。

【0004】

すなわち、 β -細胞癌を含む免疫細胞をよりよく標的とするように改変されており、微生物発現系で経済的に発現させることができる試薬を製造する方法が必要とされている。

【0005】**発明の概要**

したがって、細胞表面上で発現される免疫グロブリン(Ig)Fabドメインに結合する改良されたターゲティング試薬を製造することにより、免疫疾患または免疫細胞癌を診断および治療するためのより効果的な方法を提供することが本発明の目的である。IgFabドメインに対して新たなかつ改良された結合特異性を示す、ブドウ球菌プロテインAの変種を製造することもまた本発明の目的である。

【0006】

これらのおよび他の目的を達成するために、本発明の1つの観点にしたがって、免疫グロブリン(Ig)への結合についてのブドウ球菌プロテインA(SpA)変種が提供される。該変種は、1またはそれ以上のアミノ酸においてSpAの天然の可変重鎖III(“V_H3”)Ig-Fab結合領域(“結合領域”)のアミノ酸配列と異なるポリペプチドを含み、ここで、ポリペプチドはIg-Fabに対してSpAと異なる結合特異性を示す。SpA変種ポリペプチドは、例えば、以下の工程からなる方法により製造される：

- a) 1またはそれ以上のアミノ酸においてSpAのV_H3Ig-Fab結合領域とアミノ酸配列が異なるポリペプチドのライブラリを調製し；そして
- b) Ig-Fabをライブラリと接触させ、前記ポリペプチドが前記Ig-Fabに対してSpAと異なる結合特異性を有するか否かを判定することにより、ライブラリから1またはそれ以上のポリペプチドを選択する。

【0007】

別の態様においては、本発明は、1またはそれ以上のアミノ酸においてブドウ球菌プロテインA(SpA)の可変重鎖III(“V_H3”)Ig-Fab結合領域(“結合領域”)のアミノ酸配列と異なるポリペプチドを含み、ここでポリペプチドは非-Ig標的分子に対してSpAと異なる結合特異性を示すことを特徴とするSpA変種を提供する。このSpA変種ポリペプチドは、例えば、以下の工程からなる方法により製造することができる：

- c) アミノ酸配列がSpAのV_H3Ig-Fab結合領域と1またはそれ以上のアミノ酸において異なるポリペプチドのライブラリを調製し；そして
- d) 標的分子をライブラリと接触させ、前記1またはそれ以上のポリペプチドが前記標的分子に対してSpAと異なる結合特異性を有するか否かを判定することにより、ライブラリから1またはそれ以上のポリペプチドを選択する。

【0008】

さらに、リンパ球の試料においてIg-Fab発現リンパ球サブセットの存在を検出する方法、およびSpA変種組成物を用いることにより細胞の試料において生物学的細胞サブセットを発現する標的分子の存在を検出する方法が提供され

る。

【0009】

さらに別の態様においては、本発明は、特定のサブセットに属するリンパ球の数が異常に上昇している個体において該リンパ球サブセットに属するIg-Fab発現リンパ球の数を減少させる方法を提供する。該方法は、SpA変種を個体に投与することを含み、ここで、SpA変種の投与は個体において標的とされている数を減少させ、かつ前記減少は個体の健康に有益な治療効果を有することを特徴とする。

【0010】

発明の詳細な説明

本明細書に開示される、免疫グロブリンFab(Ig-Fab)ドメインに対して新たなまたは改良された結合特異性を示すスーパー抗原SpAの変種を製造し選択する方法は、本発明者らが、SpAドメイン中に存在する、Ig-Fabと相互作用してSpA中のIg-Fab結合部位を媒介する必須の残基を発見したことに基づく。これらの変種スーパー抗原は、例えば、ファージディスプレイ技術を用いて発現されるライブラリとして製造することができる。適切な特異性を有するSpA変種を選択し、さらにFabの詳細な特異性および親和性を決定するために評価することができる。変種ドメインのモノマーまたはマルチマーは、例えば、分子生物学的手法および細菌発現系を用いて作成することができる。

【0011】

SpA構造およびIg結合部位

SpAは、一般的な細菌病原体であるStaphylococcus aureusにより天然に産生される毒性因子であり、高度に相同性の細胞外免疫グロブリン(Ig)-結合ドメイン(E,D,A,BおよびCと称される)が5つ縦につながった42-kDa蛋白質として、分泌された形および膜付随形の両方で存在する。SpAの各細胞外ドメインは、別個のIg-結合部位を有する。一方の部位は、Fcγ(IgのIgGクラスの定常領域)用であり、他方はある種のIg分子のFab部分用である(抗原認識を担うIgの部位)(1)。Fcγ結

合部位は、ほとんどのIgGサブクラスのCH2およびCH3の接点のエルボー領域に位置することが明らかにされており、この結合特性は抗体の標識および精製に広く用いられている(2, 3)。

【0012】

SpAにおけるFab結合部位は、これまであまりよく特徴づけられていないが、Ig重鎖の可変領域上の部位を含むことが示されている(4)。SpAの5つの膜外ドメインはそれぞれ別々にFab-結合部位を含む。

【0013】

【表1】

表I SpAドメインD-Fab相互作用に關与する結合

VH 位置 FW1	塩結合	H 結合	ファンデルワールス
Gly H15*		Gln 26	Leu 51
Bストランド Ser H17			Gln 26 Gln 29
Arg H19	Asp 36		Gln 32
FW3			
C"ストランド Lys H57		Asp 36	Asp 37
Tyr H59		Asp 37	Gln 40 Asp 37
Lys H63			Gln 40 Asn 43
Gly H65*			Asn 43 Val 44 Glu 47
Arg H66*			Glu 47
Dストランド Thr H68			Ser 33 Val 44 Asp 36
Ile H69			Asp 36
Ser H70			Asp 36
Eストランド Gln H81			Gln 32 Gly 29 Ser 33 Asp 36
Asn H82a*		Ser 33	Gly 29 Phe 30

* これらのVH残基の4個はVH領域のストランド間(非CDR)部分中にある

【0014】

【表2】

表II 組換えSpA変種の固有Ig結合特性

	可能な価数 (ドメインの数)	Fab- 結合 活性 <u>Ic₅₀</u>	Fcy- 結合 活性 <u>Ic₅₀</u>
SpA (天然	5	$2 \times 10^{(-6)} \text{ M}$	$4 \times 10^{(-7)} \text{ M}$
MSPA	5	$10^{(-5)} \text{ M}$	ND
DimDomD'	2	$5 \times 10^{(-3)} \text{ M}$	ND
TetmDomD'	4	$5 \times 10^{(-3)} \text{ M}$	ND
ドメイン D (野生型)	1	$10^{(-2)} \text{ M}$	$2 \times 10^{(-4)} \text{ M}$

IC50はマイクロタイターウエル上にコーティングされた蛋白質の結合活性を50%阻害するのに必要な濃度である

ND: 検出できない

【0015】

【表3】

表III 異なるVHクランに対するSpADメインDの結合のためのVII接触部位における保存および相違

		<u>2A2 Fab-ドメイン D 結合</u>	
<u>ドメイン</u>			
<u>D</u>	<u>VH</u>	<u>NCS1(VH)</u>	<u>NCS2(VH)</u>
<u>残基</u>	<u>接触</u>		
Gln 26	Gly 15	1 VDW 1 H 結合 1 VDW	2 VDW 1 H 結合
Gly 29	Ser 17 Gln 81 Asn82a	4 VDW 5 VDW	1 VDW 3 VDW 4 VDW
Phe 30	Asn82a	4 VDW	1 VDW
Gln 32	Arg 19 Gln 81	4 VDW 2 VDW	2 VDW 3 VDW
Ser 33	Thr 68 Gln 81 Asn82a	1 短 VDW 2 VDW 1 VDW 1 H 結合	4 VDW 2 VDW 1 H 結合
Asp 36	Arg 19 Lys 57 Thr 68 Ile69 Ser 70 Gln81	1 VDW 1 塩結合 1 H 結合 1 VDW 2 VDW 6 VDW 1 VDW	2 VDW 1 塩結合 1 H 結合 5 VDW 1 VDW 6 VDW 1 VDW
Asp 37	Lys 57 Tyr 59 Thr 68	2 VDW 2 VDW 1 H 結合 3 VDW	4 VDW 3 VDW 1 H 結合 なし
Gln 40	Tyr 59 Lys 63	3 VDW	6 VDW 2 VDW
Asn 43	Lys 63 Gly 65	1 VDW	2 VDW 2 VDW

【 0 0 1 6 】

【表4】

Val 44	Gly 65	2 VDW	2 VDW
Glu 47	Gly 65	3 VDW	3 VDW
	Arg 66	3 VDW	6 VDW

VDW: ファンデルワールス力

H: 水素結合

【0017】

【表5】

表Ⅳ クランVHIII中の、クランVHIおよびクランVHIIIg中の 対応する 一と異なるアミノ酸接触残基

VH3接触との相違の結果		
<u>クラン VHIII (2A2)</u>	<u>クラン VHI</u>	<u>クラン VHII(10)</u>
Gly 15	G	<u>ST</u>
Ser 17	S	T
Gln 81	<u>EQ</u>	<u>KQ</u>
Asn82a	<u>SR</u>	<u>SN</u>
Arg 19	R	<u>S</u>
Thr68	T	T
Lys57	T	Tn
Ile69	<u>MI</u>	<u>MI_F</u>
Ser70	<u>TS</u>	<u>SN</u>
Tyr59	Y	Y
Lys63	Q	<u>KI</u>
Gly65	G	<u>S</u>
Arg66	R	R

クランVHIまたはVHII中の下線を施した残基はVHIIIと異なる
用いたアミノ酸残基は一文字コードで表す
小文字はあまり一般的ではない変異を表す

【 0 0 1 8 】

【表6】

表V ランダム化ドメインライブラリの構築において用いたオリゴヌクレオチドの配列

名前	配列 [5'→3']
DomD ヘリックス1AS	CGT TTA AGT TAG GCA TGT TGT CGA TTT CAT AGA AGG CGC TTT GTT GAT CTT TGT TGA AGT TGT TTT GTT GCG CAT CAG CGG CCG CC
DomD ヘリックス2S	AC AAC ATG CCT AAC TTA AAC GAA NNK CAA CGT AAC NNK NNK GCA CAG NNK CTG AAA NNK NNK CCA AGC CAA AGC ACT AAC
DomD ヘリックス3S	CCA AGC CAA AGC ACT AAC NNK TTA GGT GAA GCT AAA AAA TTA AAC GAA TCT CAG GCA CCG AAA GGC CAG
ヘリックス1S	G GCG GCC GCT GAT GCG
ヘリックス2AS	GTT AGT GCT TTG GCT TGG
PC3H S	GAG GAG GAG GAG GTG GCC CAG GCG GCC GCT GAT GCG CAA C
PC3H AS	GAG GAG GAG GAG CTG GCC GGC CTG GCC TTT CGG TGC TTG AG

【0019】

参考文献

1. Allman, D.M., Ferguson, S.E., and Cancro, M.P. 1992. Peripheral B cell maturation. I. Immature peripheral B cells in adults are heat-stable antigenhi and exhibit unique signaling characteristics. J.Immunol. 149:2533-2540.
2. Alting-Mees, M.A. and Short, J.M. 1993. Polycos vectors: a system for packaging filamentous phage and phagemid vectors using lambda phage packaging extracts. Gene 137:93-100.
3. Bachmann, M.F., Rohrer, U.H., Kundig, T.M., Burki, K., Hengartner, H., and Zinkernagel, R.M. 1993. The influence of antigen organization on B cell responsiveness. Science 262:1448-1451.
4. Barbas, C.F., Hu, D., Dunlop, N., Sawyer, L., Cababa, D., Hendry, R.M., Nara, P.L., and Burton, D.R. 1994. In vitro evolution of a neutrali

zing human antibody to human immunodeficiency virus type 1 to enhance affinity and broaden strain cross-reactivity. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 91:3809-3813.

5. Berberian, L., Goodglick, L., Kipps, T.J., and Braun, J. 1993. Immunoglobulin V_H3 gene products: natural ligands for HIV gp120. *Science* 261:1588-1591.

6. Berberian, L., Valles-Ayoub, Y., Sun, N., Martinez-Maza, O., and Braun, J. 1991. A V_H clonal deficit in human immunodeficiency virus-positive individuals reflects a B-cell maturational arrest. *Blood*. 78:175-179.

7. Braden, B. C., Goldman, E. R., Mariuzza, R. A., and Poljak, R. J. A anatomy of an antibody molecule: structure, kinetics, thermodynamics and mutational studies of the antilysozyme antibody D1.3. *Immunol Rev* 163, 45-57. 98.

8. Braisted, A.C. and Wells, J.A. 1996. Minimizing a binding domain from protein A. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 93:5688-5692.

9. Brodeur, P.H. and Riblet, R. 1984. The immunoglobulin heavy chain variable region (Igh-V) locus in the mouse. I. One hundred Igh-V genes comprise seven families of homologous genes. *Eur.J.Immunol.* 14:922-930.

10. Brown, P.B., Kohler, H., and Rowley, D.A. 1975. Specific suppression of the antibody response in vitro by serum from paralyzed mice. *J.Immunol.* 115:419-424.

11. Chothia, C. and Lesk, A.M. 1987. Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins. *J.Mol.Biol.* 196:901-917.

12. Demaison, C., David, D., Fautrel, B., and Theze, J. 1996. V(H) gene-family representation in peripheral activated B cells from systemic lupus erythematosus (SLE) patients. *Clin.Exp.Immunol.* 104:439-445.

13. Desaymard, C., Giusti, A.M., and Scharff, M.D. 1984. Rat anti-T15 monoclonal antibodies with specificity for V_H- and V_H-V_L epitopes. *Mol.Immunol.* 21:961-967.

14. Djojonegoro, B.M., Benedik, M.J., and Willson, R.C. 1994. Bacteriophage surface display for optimization of separations ligands: Display of immunoglobulin-binding protein A of *Staphylococcus Aureus*. *Bio/Technology* (N.Y). 12:169-172
15. Djojonegoro, B.M., Benedik, M.J., and Willson, R.C. 1994. Bacteriophage surface display of an immunoglobulin-binding domain of *Staphylococcus aureus* protein A. *Biotechnology* (N.Y). 12:169-172.
16. Drew, M.J. 1994. Resolution of refractory, classic thrombotic thrombocytopenic purpura after staphylococcal protein A immunoadsorption. *Transfusion* 34:536-538.
17. Endresen, C. 1979. The binding of protein A of immunoglobulin G and of Fab and Fc fragments. *Acta.path.microbiol.scand. Sect. C*:185-189.
18. Feeney, A.J. 1990. Lack of N regions in fetal and neonatal mouse immunoglobulin V-D-J junctional sequences. *J.Exp.Med.* 172:1377-1390.
19. Feeney, A.J. 1991. Predominance of the prototypic T15 anti-phosphorylcholine junctional sequence in neonatal pre-B cells. *J.Immunol.* 147:4343-4350.
20. Fields, B. A., Malchiodi, E. L., Li, H., Ysern, X., Stauffacher, C. V., Schlievert, P. M., Karjalainen, K., and Mariuzza, R. A. Crystal structure of a T-cell receptor beta-chain complexed with a superantigen [see comments]. *Nature* 384(6605), 188-92. 96.
21. Goodnow, C.C., Crosbie, J., Adelstein, S., Lavoie, T.B., Smoth-Gill, S.J., Brink, R.A., Pritchard, B.H., Wotherspoon, J.S., Loblay, R.H., Raphael, K. et al. 1988. Altered immunoglobulin expression and functional silencing of self-reactive B lymphocytes in transgenic mice. *Nature* 334:676-682.
23. Granzow, R. and Reed, R. 1992. Interactions in the fourth dimension. *Bio/Technology* 10:390.
24. Hakoda, M., Hayashimoto, S., Yamanaka, H., Terai, C., Kamatani, N.,

and Kashiwazaki, S. 1994. Molecular basis for the interaction between human IgM and staphylococcal protein A. *Clin.Immunol.Immunopathol.* 72:394-401.

25. Hillson, J.L., Karr, N.S., Oppliger, I.R., Mannik, M., and Sasso, E.H. 1993. The structural basis of germline-encoded V_H3 immunoglobulin binding to staphylococcal protein A. *J.Exp.Med.* 178:331-336.

26. Ibrahim, S., Seppala, I., and Makela, O. 1993. V-region-mediated binding of human Ig by protein A. *J.Immunol.* 151:3597-3603.

27. Ibrahim, S., Seppala, I.J., Sarvas, H., and Makela, O. 1993. Proportion of protein A bindable molecules in human IgM and IgA antibodies to seven antigens. *Microb.Pathog.* 15:159-168.

28. Inganas, M. 1981. Comparison of mechanisms of interaction between protein A from *Staphylococcus aureus* and human monoclonal IgG, IgA and IgM in relation to the classical Fc gamma and the alternative F(ab')₂ epsilon protein A interactions. *Scand.J.Immunol.* 13:343-352.

29. Ito, W., Ishiguro, H., and Kurosawa, Y. 1991. A general method for introducing a series of mutations into cloned DNA using the polymerase chain reaction. *Gene* 102:67-70.

30. Jansson, B., Uhlen, M., and Nygren, P.A. 1998. All individual domains of staphylococcal protein A show Fab binding. *FEMS.Immunol.Med.Microbiol.* 20:69-78.

31. Kabat, E. A., Wu, T. T., and Bilofsky, H. Unusual distributions of amino acids in complementarity-determining (hypervariable) segments of heavy and light chains of immunoglobulins and their possible roles in specificity of antibody-combining sites. *J Biol Chem* 252(19), 6609-16. 77.

32. Kavalier, J., Caton, A.J., Staudt, L.M., and Gerhard, W. 1991. A B cell population that dominates the primary response to influenza virus hemagglutinin does not participate in the memory response. *Eur.J.Immunol.* 21:2687-2695.

33. Kirkham, P.M., Mortari, F., Newton, J.A., and Schroeder, H.W.J. 1992. Immunoglobulin VH clan and family identity predicts variable domain structure and may influence antigen binding. *EMBO J.* 11:603-609.
34. Kotzin, B. L., Leung, D. Y., Kappler, J., and Marrack, P. Superantigens and their potential role in human disease. *Adv Immunol* 54, 99-166.
- 93.
35. Kozlowski, L.M., Kunning, S.R., Zheng, Y., Wheatley, L.M., and Levinson, A.I. 1995. Staphylococcus aureus Cowan I-induced human immunoglobulin responses: Preferential IgM rheumatoid factor production and V_H3 mRNA expression by protein A-binding B cells. *J.Clin.Immunol.* 15:145-151.
36. Krishnan, M.R., Jou, N.T., and Marion, T.N. 1996. Correlation between the amino acid position of arginine in VH-CDR3 and specificity for native DNA among autoimmune antibodies. *J.Immunol.* 157:2430-2439.
37. Kristiansen, S.V., Pascual, V., and Lipsky, P.E. 1994. Staphylococcal protein A induces biased production of Ig by V_H3-expressing B lymphocytes. *J.Immunol.* 153:2974-2984.
38. Kushwaha, A., Chowdhury, P.S., Arora, K., Abrol, S., and Chaudhary, V.K. 1994. Construction and characterization of M13 bacteriophages displaying functional IgG-binding domains of staphylococcal protein A. *Gene* 151:45-51.
39. Li, H., Llera, A., Tsuchiya, D., Leder, L., Ysern, X., Schlievert, P. M., Karjalainen, K., and Mariuzza, R. A. Three-dimensional structure of the complex between a T cell receptor beta chain and the superantigen staphylococcal enterotoxin B. *Immunity* 9(6), 807-16. 98.
40. Li, Y.S., Hayakawa, K., and Hardy, R.R. 1993. The regulated expression of B lineage associated genes during B cell differentiation in bone marrow and fetal liver. *J.Exp.Med.* 178:951-960.
41. Linton, P.J., Lo, D., Lai, L., Thorbecke, G.J., and Klinman, N.R. 1992. Among naive precursor subpopulations only progenitors of memory B c

ells originate germinal centers. *Eur.J.Immunol.* 22:1293-1297.

42. MacCallum, R. M., Martin, A. C., and Thornton, J. M. Antibody-antigen interactions: contact analysis and binding site topography. *J Mol Biol* 262(5), 732-45. 96.

43. Matsuda, F., Shin, E.K., Nagaoka, H., Matsumura, R., Haino, M., Fukita, Y., Taka-ishi, S., Imai, T., Riley, J.H., Anand, R. et al. 1993. Structure and physical map of 64 variable segments in the 3' 0.8 megabase region of the human immunoglobulin heavy-chain locus. *Nature genetics* 3:88-94.

44. Murakami, M. and Honjo, T. 1995. Involvement of B-1 cells in mucosal immunity and autoimmunity. *Immunol.Today* 16:534-539.

45. Newkirk, M.M., Rauch, J., Mageed, R.A., Jefferis, R., Posnett, D.N., and Silverman, G.J. 1993. Restricted immunoglobulin variable region gene usage by hybridoma rheumatoid factors from patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Mol.Immunol.* 30:255-263.

46. Nguyen, A., Kavalier, J., and Erickson, J. 1994. Regulation of anti-DNA B cells in nonautoimmune transgenic mice: Functional and biochemical analyses of self-tolerance. *J.Cell.Biochem.* 209:Suppl. 18D.

47. Nord, K., Gunneriusson, E., Ringdahl, J., Stahl, S., Uhlen, M., and Nygren, P.A. 1997. Binding proteins selected from combinatorial libraries of an alpha-helical bacterial receptor domain. *Nat.Biotechnol.* 15:772-777.

48. Nord, K., Nilsson, J., Nilsson, B., Uhlen, M., and Nygren, P.A. 1995. A combinatorial library of an alpha-helical bacterial receptor domain. *Protein.Eng.* 8:601-608.

49. Padlan, E. A., Abergel, C., and Tipper, J. P. Identification of specificity-determining residues in antibodies. *FASEB J* 9(1), 133-9. 95.

50. Patten, P. A., Rock, E. P., Sonoda, T., Fazekas de St. Groth, B., Jorgensen, J. L., and Davis, M. M. Transfer of putative complementarity-d

etermining region loops of T cell receptor V domains confers toxin reactivity but not peptide/MHC specificity. *J Immunol* 150(6), 2281-94. 93.

51. Pontzer, C.H., Irwin, M.J., Gascoigne, N.R., and Johnson, H.M. 1992. T-cell antigen receptor binding sites for the microbial superantigen staphylococcal enterotoxin A. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 89:7727-7731.

52. Pullen, A.M., Bill, J., Kubo, R.T., Marrack, P., and Kappler, J.W. 1991. Analysis of the interaction site for the self superantigen Mls-1a on T cell receptor V beta. *J.Exp.Med.* 173:1183-1192.

53. Randen, I., Potter, K.N., Li, Y., Thompson, K.M., Pascual, V., Forre, O., Natvig, J.B., and Capra, J.D. 1993. Complementarity-determining region 2 is implicated in the binding of staphylococcal protein A to human immunoglobulin VHIII variable regions. *Eur.J.Immunol.* 23:2682-2686.

54. Riblet, R., Blomberg, B., Weigert, M., Lieberman, R., Taylor, B.A., and Potter, M. 1975. Genetics of mouse antibodies. I. Linkage of the dextran response locus, VH-DEX, to allotype. *Eur.J.Immunol.* 5:775-777.

55. Roben, P., Barbas, S.M., Sandoval, L., Lecerf, J.M., Stollar, B.D., Solomon, A., and Silverman, G.J. 1996. Repertoire cloning of lupus anti-DNA autoantibodies. *J.Clin.Invest.* 98:2827-2837.

56. Roben, P., Salem, A., and Silverman, G.J. 1995. V_H3 antibodies bind domain D of staphylococcal protein A. *J.Immunol.* 154:6437-6446.

57. Sasano, M., Burton, D.R., and Silverman, G.J. 1993. Molecular selection of human antibodies with an unconventional bacterial B cell superantigen. *J.Immunol.* 151:5822-5839.

58. Sasso, E.H., Silverman, G.J., and Mannik, M. 1989. Human IgM molecules that bind staphylococcal protein A contain VHIII H chains. *J.Immunol.* 142:2778-2783.

59. Sasso, E.H., Silverman, G.J., and Mannik, M. 1991. Human IgA and IgG F(ab')₂ that bind to staphylococcal protein A belong to the VHIII subgroup. *J.Immunol.* 147:1877-1883.

60. Seppala, I., Kaartinen, M., Ibrahim, S., and Makela, O. 1990. Mouse Ig coded by VH families S107 or J606 bind to protein A. *J.Immunol.* 145: 2989-2993.
61. Sheriff, S., Silverton, E. W., Padlan, E. A., Cohen, G. H., Smith-Gill, S. J., Finzel, B. C., and Davies, D. R. (1987) Three-dimensional structure of an antibody-antigen complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84(22), 8075-9.
62. Siegel, D.L., Chang, T.Y., Russell, S.L., and Bunya, V.Y. 1997. Isolation of cell surface-specific human monoclonal antibodies using phage display and magnetically-activated cell sorting: applications in immunohematology. *J.Immunol.Methods* 206:73-85.
63. Silberstein, L.E., Jefferies, L.C., Goldman, J., Friedman, D., Moore, J.S., Nowell, P.C., Roelcke, D., Pruzanski, W., Roudier, J., and Silverman, G.J. 1991. Variable region gene analysis of pathologic human autoantibodies to the related i and I red blood cell antigens. *Blood.* 78:2372-2386.
64. Silberstein, L.E., Jefferies, L.C., Goldman, J., Friedman, D., Moore, J.S., Nowell, P.C., Roelcke, D., Pruzanski, W., Roudier, J., and Silverman, G.J. 1991. Variable region gene analysis of pathologic human autoantibodies to the. *Blood.* 78:2372-2386.
65. Silverman, G.J. 1992. Human antibody responses to bacterial antigens: studies of a model conventional antigen and a proposed model B cell superantigen. *Int.Rev.Immunol.* 9:57-78.
66. Silverman, G.J. 1994. Superantigens and the spectrum of unconventional B cell antigens. *The Immunologist* 2:51-57.
67. Silverman, G.J., Goni, F., Fernandez, J., Chen, P.P., Frangione, B., and Carson, D.A. 1988. Distinct patterns of heavy chain variable region subgroup use by human monoclonal autoantibodies of different specificity. *J.Exp.Med.* 168:2361-2366.

68. Silverman, G.J., Nayak, J.V., Warnatz, K., Cary, S., Tighe, H., and Curtiss, V.E. 1998. The dual phases of the response to neonatal exposure to a VH family-restricted staphylococcal B-cell superantigen. *J.Immunol.* 161:5720-5732.
69. Silverman, G.J., Pires, R., and Bouvet, J.P. 1996. An endogenous sialoprotein and a bacterial B cell superantigen compete in their VH family-specific binding interactions with human Igs. *J.Immunol.* 157:4496-4502.
71. Silverman, G.J., Roben, P., Bouvet, J.-P., and Sasano, M. 1995. Superantigen properties of a human sialoprotein involved in gut-associated immunity. *J.Clin.Invest.* 96:417-426.
73. Silverman, G.J., Sasano, M., and Wormsley, S.B. 1993. Age-associated changes in binding of human B lymphocytes to a V_H3-restricted unconventional bacterial antigen. *J.Immunol.* 151:5840-5855.
74. Silverman, G.J., Sasano, M., and Wormsley, S.B. 1993. The variable-region specificity of bacterial Fab-binding proteins: The search for B cell superantigens. *Immunomethods* 2:17-23.
75. Silverman, G.J., Schrohenloher, R.E., Accavitti, M.A., Koopman, W.J., and Carson, D.A. 1990. Structural characterization of the second major cross-reactive idiotype group of human rheumatoid factors. Association with the VH4 gene family. *Arthritis Rheum.* 33:1347-1360.
76. Smith, G.P. 1985. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science* 228:1315-1317.
77. Starovasnik, M.A., Braisted, A.C., and Wells, J.A. 1997. Structural mimicry of a native protein by a minimized binding domain. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 94:10080-10085.
78. ten Boekel, E., Melchers, F., and Rolink, A.G. 1998. Precursor B cells showing H chain allelic inclusion display allelic exclusion at the I

level of pre-B cell receptor surface expression. *Immunity*. 8:199-207.

79. Tighe, H., Warnatz, K., Brinson, D., and Corr, M. 1997. Peripheral deletion of rheumatoid factor B cells after abortive activation by IgG. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 94:646-651.

80. Tomlinson, I.M., Cook, G.P., Carter, N.P., Elaswarapu, R., Smith, S., Walter, G., Buluwela, L., Rabbitts, T.H., and Winter, G. 1994. Human immunoglobulin VH and D segments on chromosomes 15q11.2 and 16p11.2. *Hum.Mol.Genet.* 3:853-860.

81. Tomlinson, I.M., Walter, G., Marks, J.D., Llewelyn, M.B., and Winter, G. 1992. The repertoire of human germline VH sequences reveals about fifty groups of VH segments with different hypervariable loops. *J.Mol.Biol.* 227:776-798.

82. Warner, G.L., Davies, S., and Scott, D.W. 1989. Cholera toxin-sensitive and insensitive signaling via surface Ig. *J.Immunol.* 143:458-463.

83. Webb, S. R. and Gascoigne, N. R. T-cell activation by superantigens. *Curr Opin Immunol* 6(3), 467-75. 94.

84. White, J., Herman, A., Pullen, A.M., Kubo, R., Kappler, J.W., and Marrack, P. 1989. The V beta-specific superantigen staphylococcal enterotoxin B: stimulation of mature T cells and clonal deletion in neonatal mice. *Cell* 56:27-35.

85. White, J., Pullen, A., Choi, K., Marrack, P., and Kappler, J.W. 1993. Antigen recognition properties of mutant V beta 3+ T cell receptors are consistent with an immunoglobulin-like structure for the receptor. *J. Exp.Med.* 177:119-125.

86. Whitmore, A.C., Prowse, D.M., Haughton, G., and Arnold, L.W. 1991. Ig isotype switching in B lymphocytes. The effect of T cell-derived interleukins, cytokines, cholera toxin, and antigen on isotype switch frequency of a cloned B cell lymphoma. *Int.Immunol.* 3:95-103.

87. Wiesenhuber, C.W., Irish, B.L., and Bertram, J.H. 1994. Treatment

of patients with refractory rheumatoid arthritis with extracorporeal protein A immunoadsorption columns: a pilot trial. J.Rheumatol. 21:804-812.

88. Wilson, I. A. and Stanfield, R. L. (1994) Antibody-antigen interactions: new structures and new conformational changes. Curr Opin Struct Biol 4(6), 857-67.

89. Wilson, I. A. Stanfield R. L. (1993) Antibody-antigen interactions. Current Biology 4, 857-867.

90. Young, W.W., Tamura, Y., Wolock, D.M., and Fox, J.W. 1984. Staphylococcal protein A binding to the Fab of mouse monoclonal antibodies. J.Immunol. 133:3163-3166.

91. Zhang, M., Majid, A., Bardwell, P., Vee, C., and Davidson, A. (1998) Rheumatoid factor specificity of a V_H3 -encoded antibody is dependent on the heavy chain CDR3 region and is independent of protein A binding. J Immunol 161(5), 2284-9.

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、MS (FcIgG結合特性を欠失したSpA - MSPA - の変異体型) に新生児暴露した後の、MS - 結合B細胞の周辺部および中心部における欠失を示す。

【図2】 図2は、SpAによる処置が骨髄および脾臓においてFab - 結合親和性と直接比例する表面抗原 (SAg) - 特異的IgM分泌細胞の持続的喪失を誘導することを示す。

【図3】 図3は、SpAまたはMSPAがS107ファミリーに由来する天然のIgM抗-PC抗体の持続的喪失を誘導することを示す。

【図4】 図4は、SpAまたはMSPAが脾臓S107 - mu mRNA発現の持続的喪失を誘導することを示す。

【図5】 図5は、SpAによる新生児処置が成人マウスにおいてPC - 特異的ワクチンによるチャレンジに対する持続的耐性を引き起こすことを示す。

【図6】 図6は、 V_H3 Fab (2A2, 左上パネル) および V_H4 / クラウンII Fab (7FAB, 右上パネル; 1BVL, 左下パネル; および1JRH

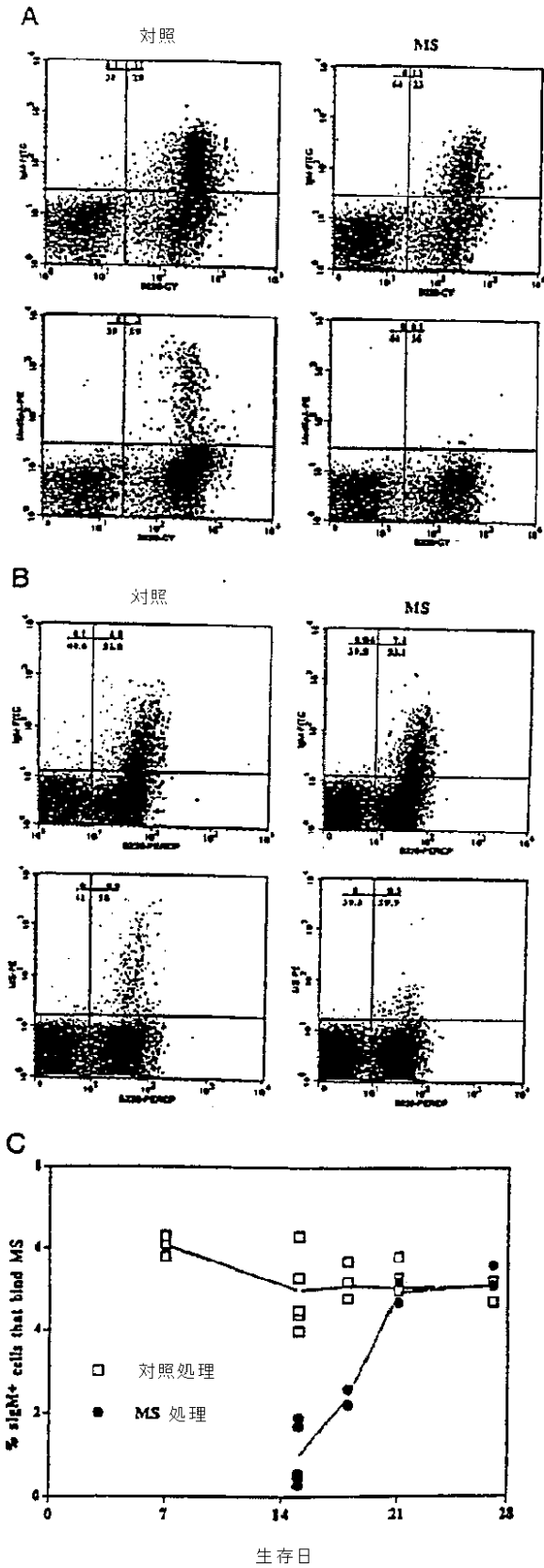
、右下パネル) 抗体上へのドメインDの重層を示す分子のグラフである。

【図7】 図7は、M13ファージで発現させた変異ドメインDライブラリのFabに対する結合を示す。

【図8】 図8は、PCRオーバーラップによるライブラリ合成およびファージディスプレイのための合成SpAドメインD変種の変種ライブラリの製造に用いた最終プライマーの概略図である。

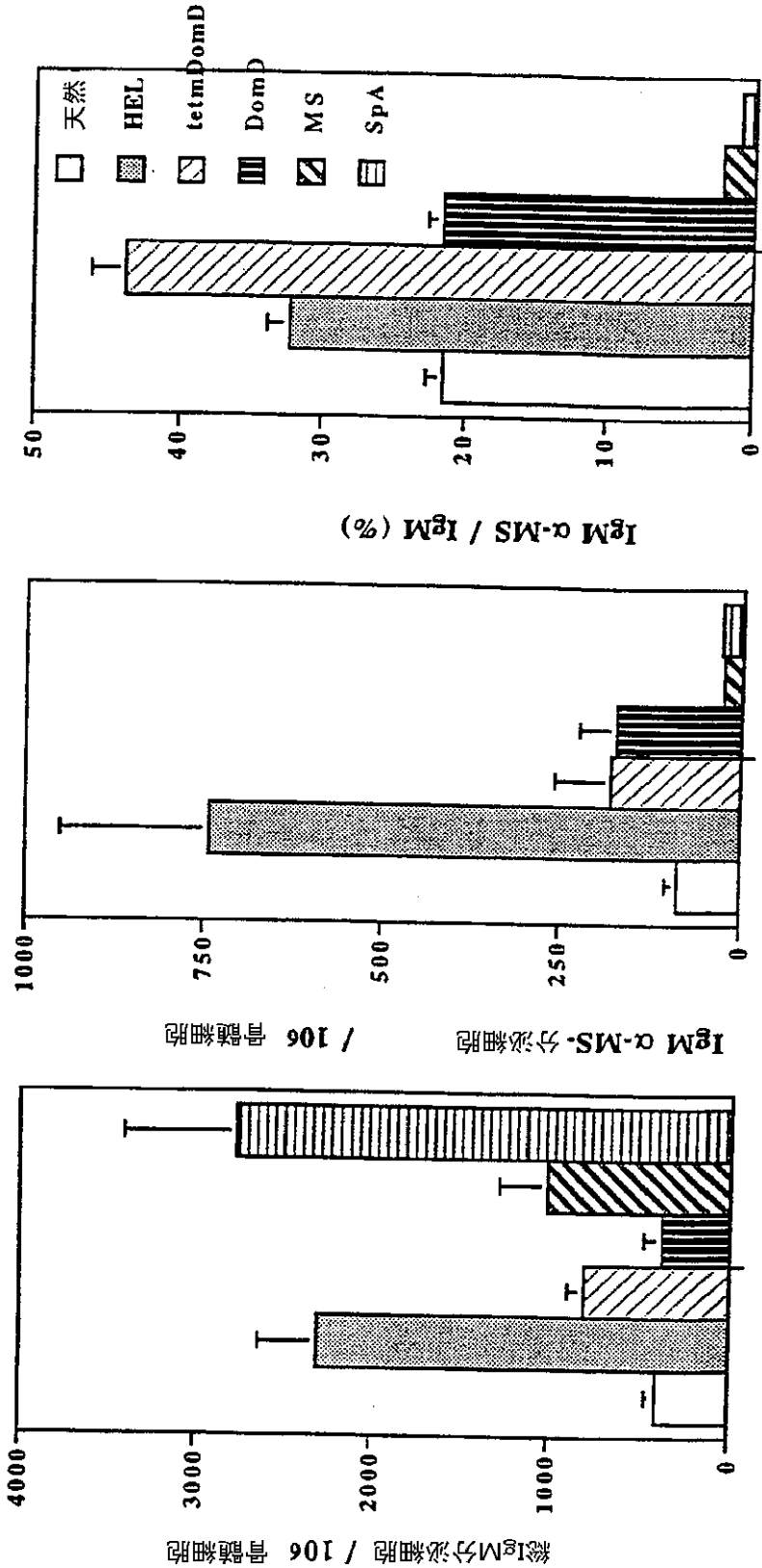
【図9】 図9は、変種SpAドメインDライブラリの合成を示すアガロースゲル電気泳動分析である。

【图1】



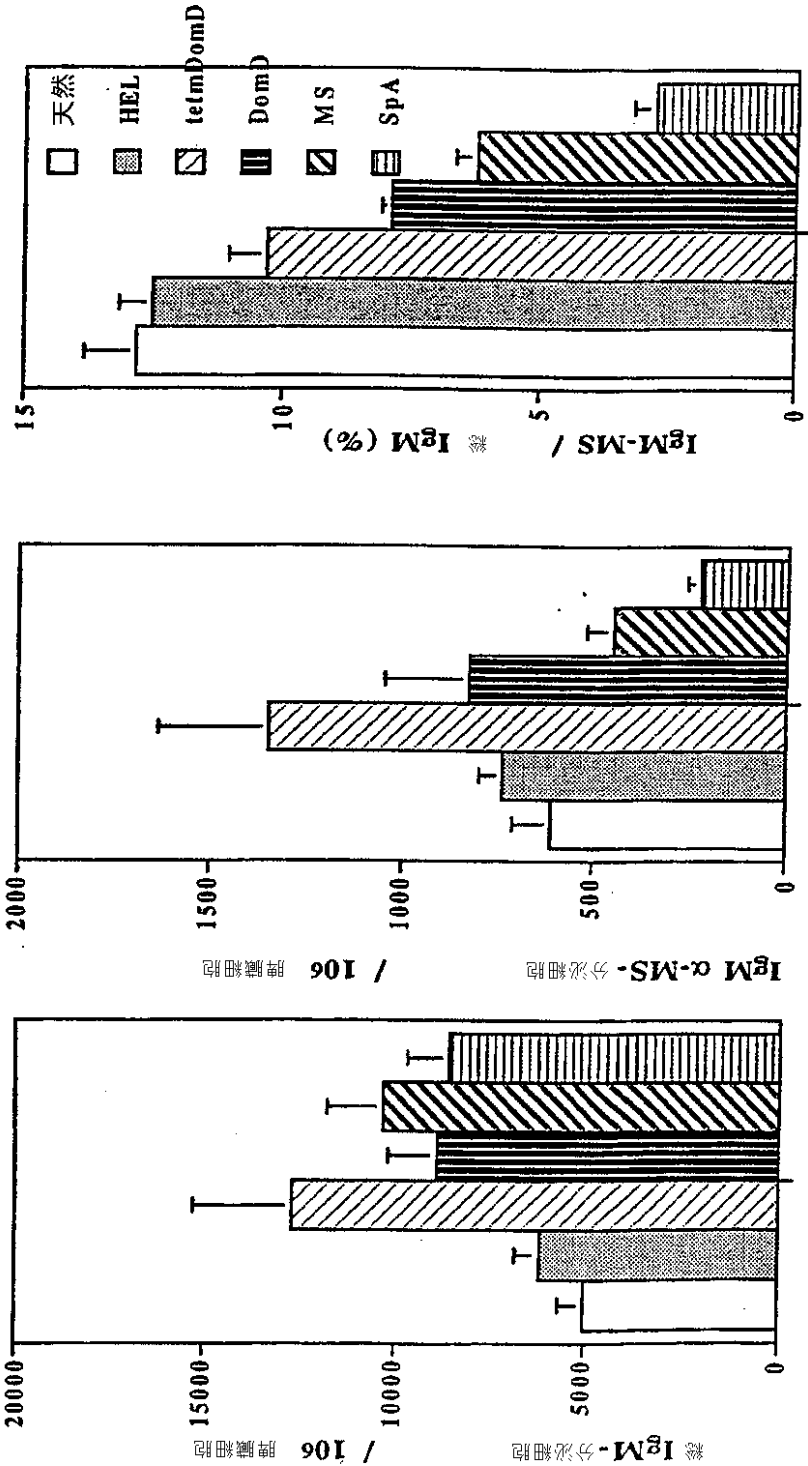
【図2A】

骨髓においてB細胞S_{Ag}はS_{Ag}特異的IgM分泌細胞の選択的喪失を誘導した

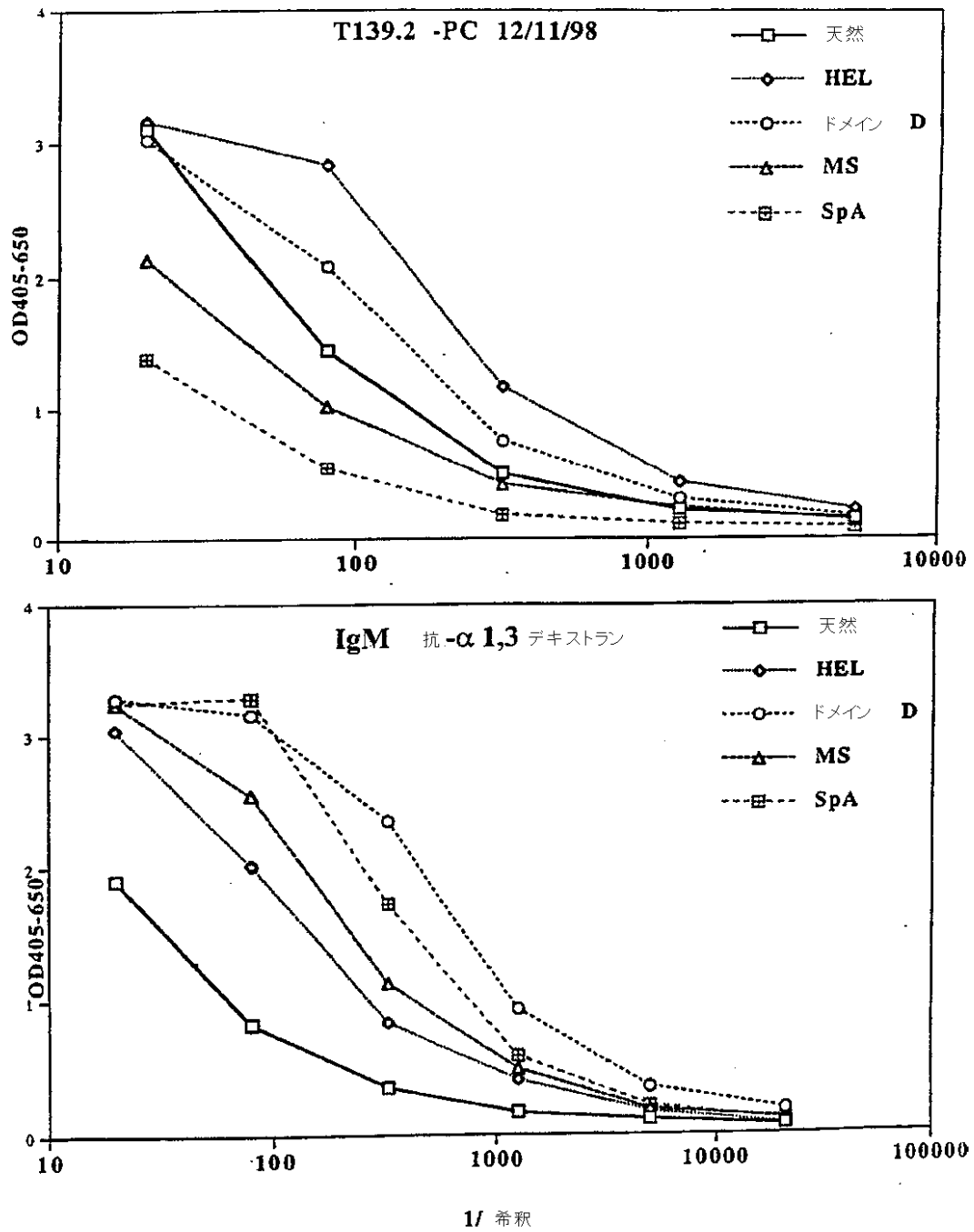


【図2B】

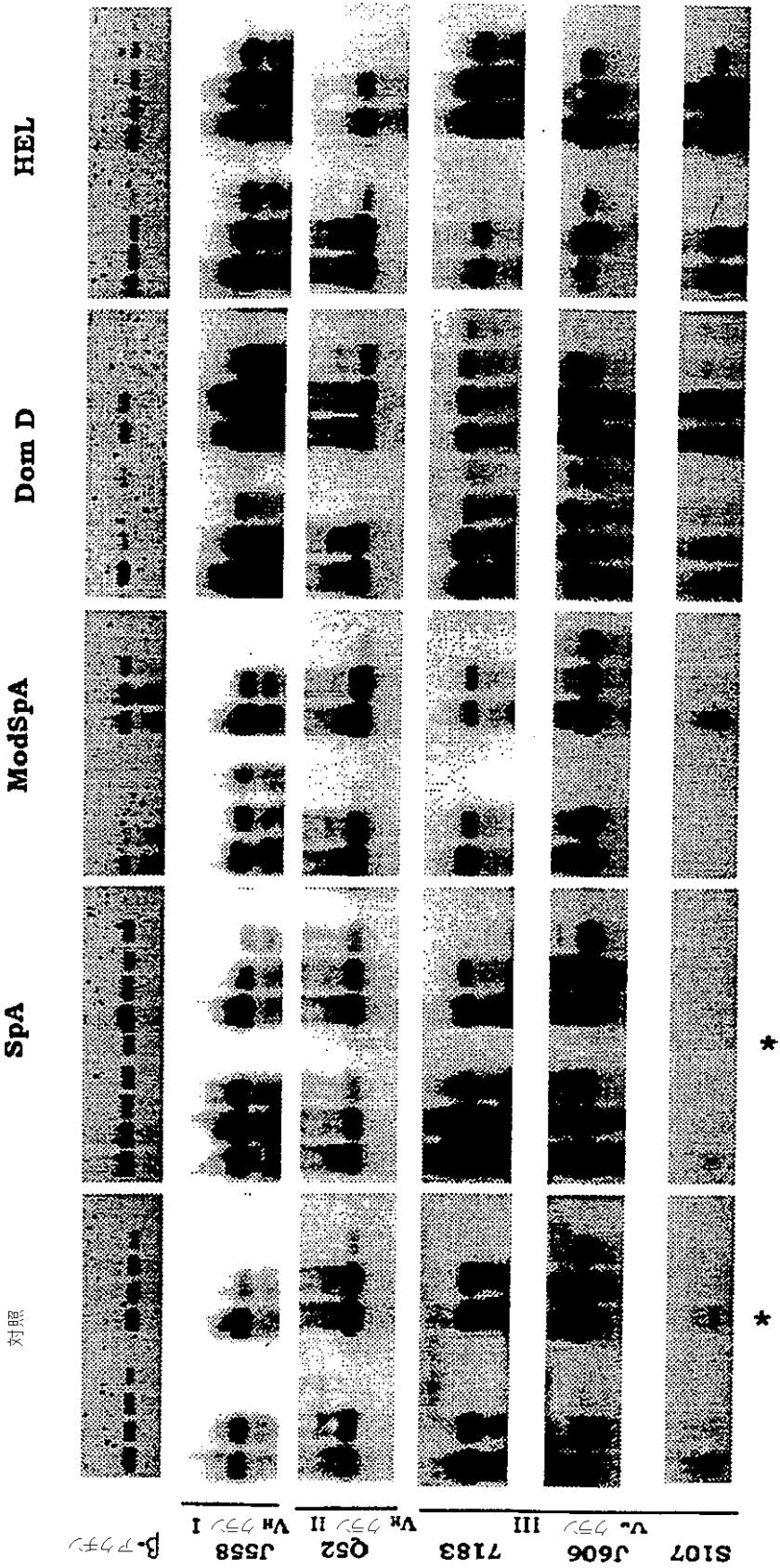
脾臓においてB細胞SAgはSAg特異的IgM分泌細胞の選択的喪失を誘導した



【図3】

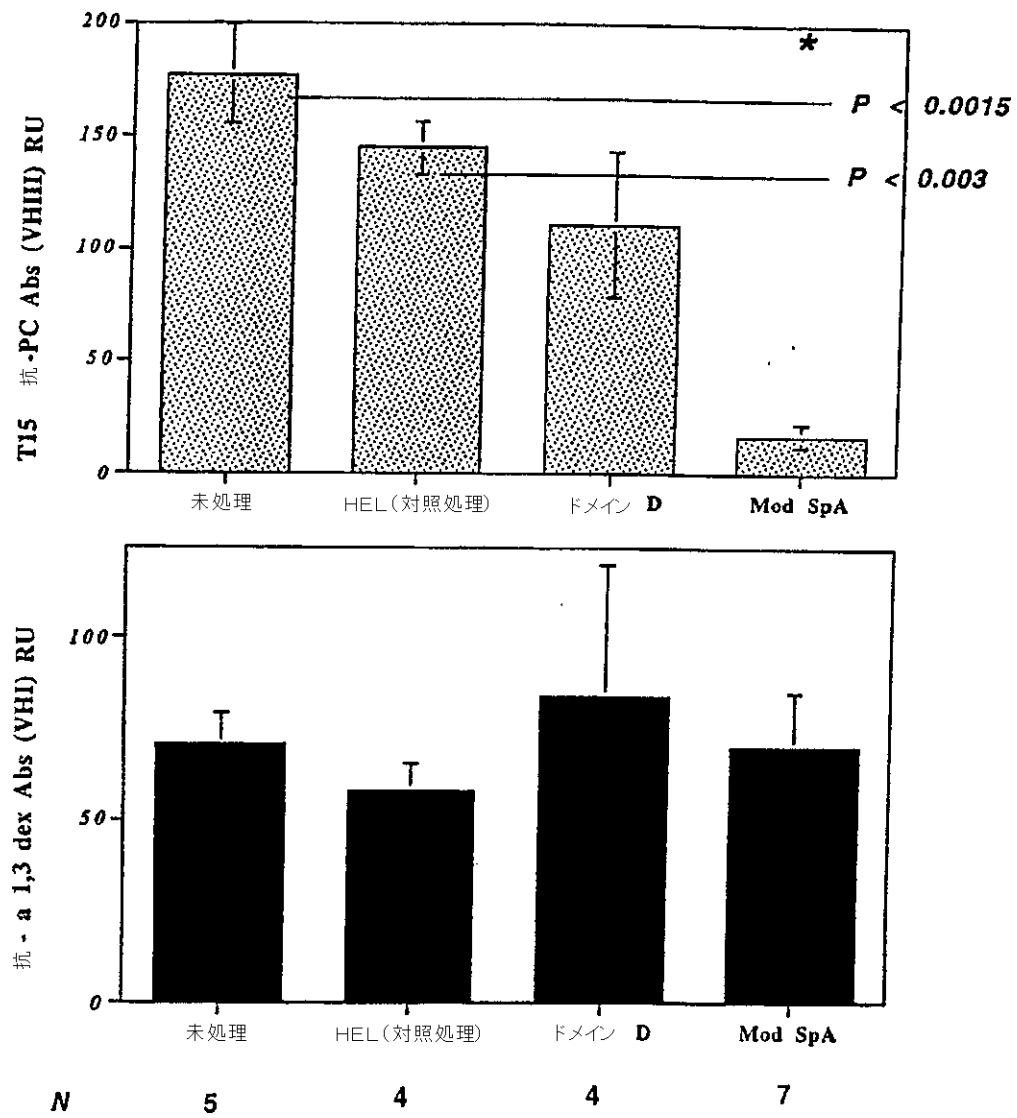


【図4】

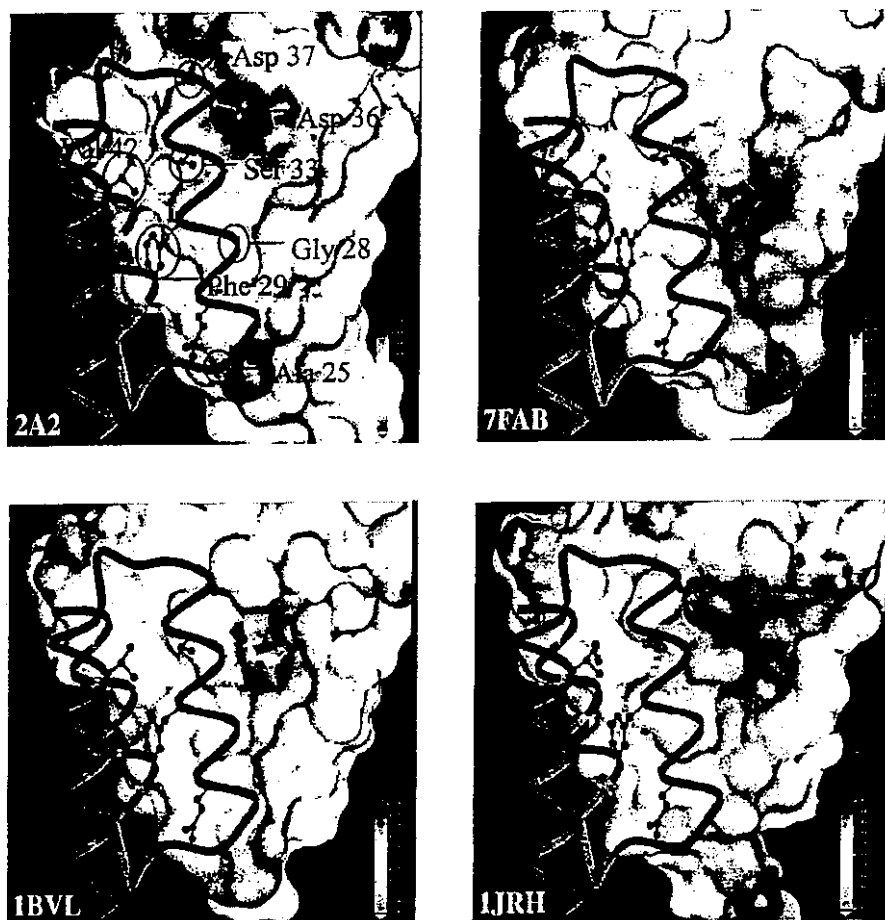


【図5】

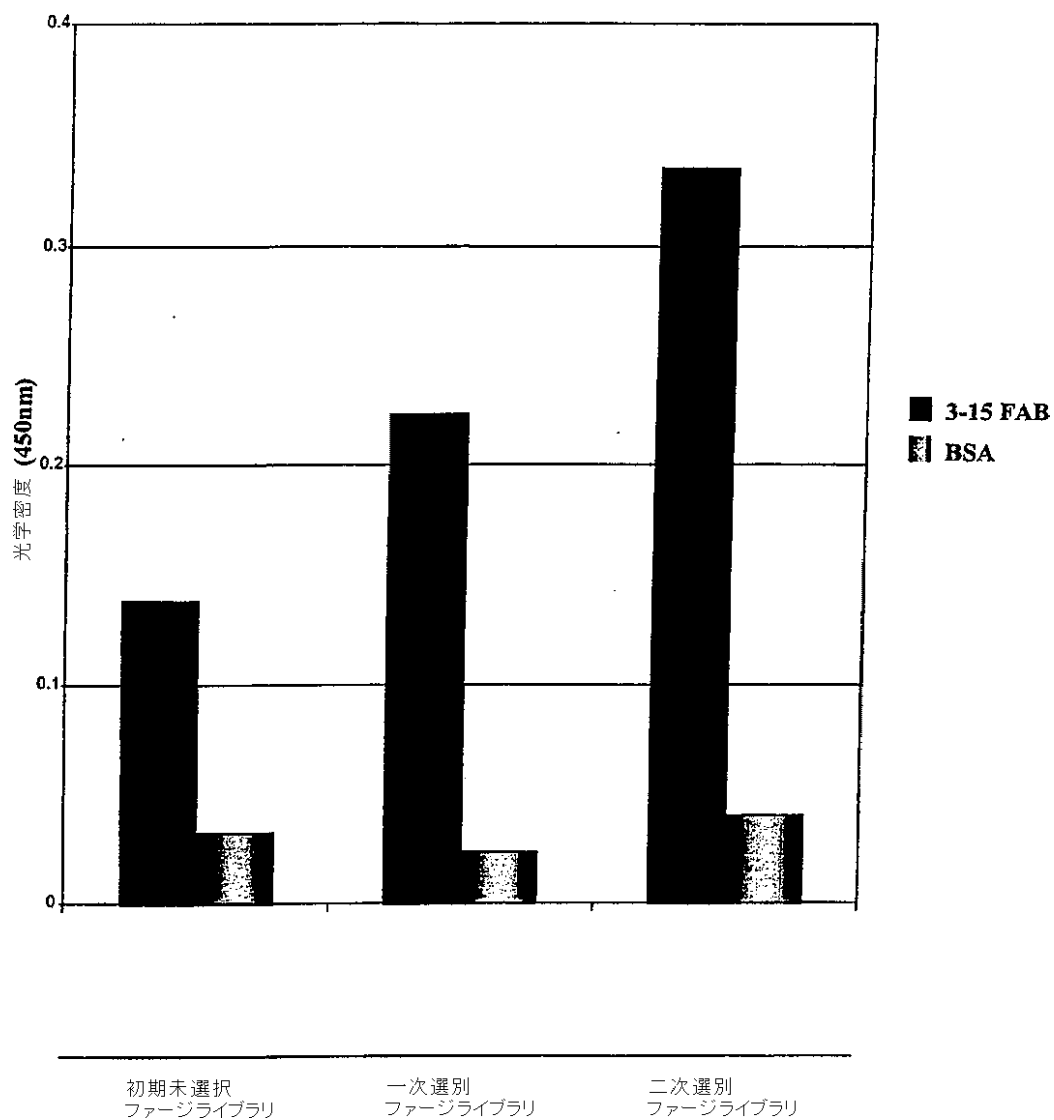
多価形のSpAで処理したマウスはVH3付随誘導性特異的B細胞許容性を有する



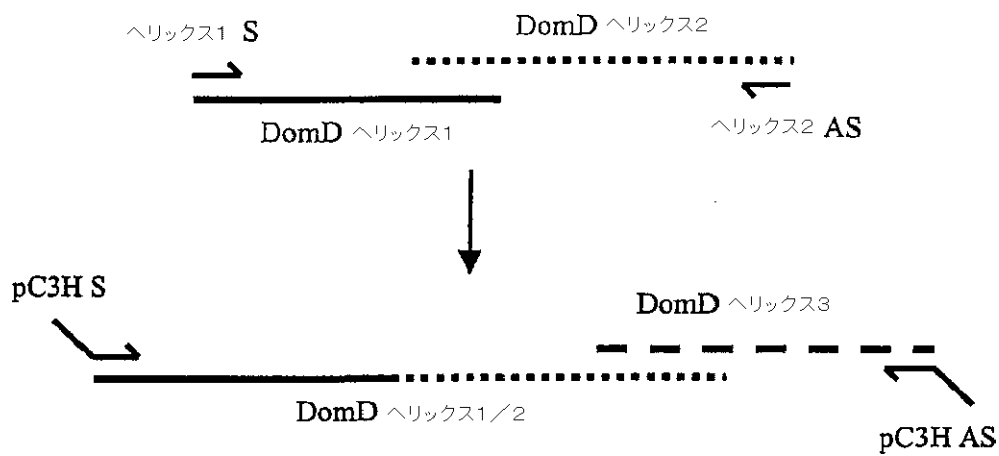
【図6】



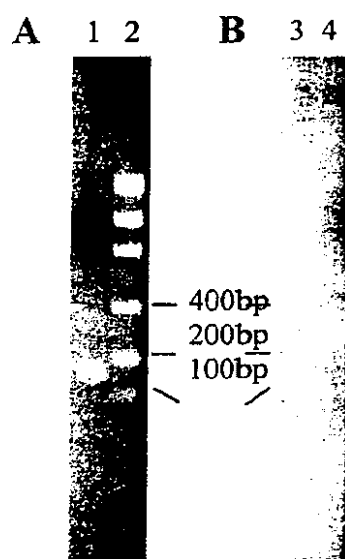
【図7】



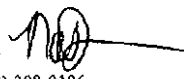
【図8】



【図9】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US00/13402
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 39/085, 45/00 US CL : 424/237.1, 282.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 424/237.1, 282.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) DIALOG, WEST, US PATFULL search terms: protein A, mutant, mutagen?, variant, variant, domain, Fab, Fc		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ROBEN et al. V _H 3 family antibodies bind Domain D of staphylococcal protein A. Journal of Immunology. 15 June 1997, Vol. 154, No. 12, pages 6437-6445, see page 6438, especially Figure 1, page 6440, Figure 3, abstract and entire document.	1-15, 18-28
Y	LENERT et al. Ig V _H -dependent interaction between immunoglobulins and CD4. International Reviews of Immunology. 1997, Vol. 14, No. 4, pages 351-362, see pages 355-357, abstract and entire document.	29
X	OLSZEWSKI et al, Folding simulations and computer redesign of protein A three helix bundle motifs. Proteins. July 1996, Vol. 25, No. 3, pages 286-299, especially page 287, Table 1.	1-6
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 28 JULY 2000		Date of mailing of the international search report 29 AUG 2000
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer GINNY PORTNER  Telephone No. (703) 308-0196

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US00/13402

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5,831,012 A (NILSSON et al) 03 November 1998, see col. 18, line 15, claim 3 and entire document.	1, 6
Y	HILLSON et al. The structural basis of Germline-encoded V _H 3 immunoglobulin binding to staphylococcal protein A. Journal of Experimental Medicine. 01 July 1993, Vol. 178, No. 1, pages 331-336, see page 332, figure 1, Family 3 and Family 4 and Family 6 results, abstract and entire document.	16
Y	NORD et al. Binding proteins selected from combinatorial libraries of an alpha helical bacterial receptor domain. Nature Biotechnology. August 1997, Vol. 15, No. 8, pages 772-777, especially page 776, col. 1, first paragraph, abstract and entire document.	17
Y	SILVERMAN, G. J. Human antibody responses to bacterial antigens: studies of a model conventional antigen and a proposed model B cell superantigen. International Reviews of Immunology. 1992, Vol. 9, No. 1, pages 57-78, especially page 72, Figure 7, abstract and entire document.	29
Y	SASANO et al. Molecular selection of human antibodies with an unconventional bacterial B cell antigen. Journal of Immunology, 15 November 1993, Vol. 151, No 10, pages 5822-5839, see page 5837, col. 1, first paragraph, abstract and entire document.	29
Y	SILVERMAN, G. J. Unconventional B-cell antigens and human immune repertoires. Annals of the New York Academy of Sciences, 29 September 1995, Vol. 764, pages 342-355, see page 350, figure 4, abstract and entire document.	29
Y	US 5,100,788 A (LOFDAHL et al) 31 March 1992, see abstract, claims and entire document.	1-29
X	FEUO et al. Variable region structure and staphylococcal protein A binding specificity of a mouse monoclonal IgM anti-laminin-receptor antibody. Immunology. July 1997, Vol. 91, No. 3, pages 479-485, especially page 483, Figures 4 and 5, col. 2, paragraph 4, and entire document.	1
A, P	US 6,013,763 A (BRAISTED et al) 11 January 2000, see abstract, claims and entire document.	1-29

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US00/13402

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SILVERMAN, G. J. B cell superantigens: possible roles in immunodeficiency and autoimmunity. Seminars in Immunology. February 1998, Vol. 10, No. 1, pages 43-55, especially pages 43-44, and entire document.	1-29
A	AKERSTROM et al. On the interaction between single chain Fv antibodies and bacterial immunoglobulin-binding proteins. Journal of Immunological Methods. 28 December 1994, Vol. 177, No. 1-2, pages 151-163, see page 153, Table 1, antibody numbers 10 and 24-33, see entire document.	1-29

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)
A 6 1 P	35/00	A 6 1 P	37/00
	37/00	G 0 1 N	33/15
G 0 1 N	33/15		33/48
	33/48		33/50
	33/50		33/53
	33/53		
			33/566
	33/566	A 6 1 K	37/02
(81)指定国	E P (A T , B E , C H , C Y , D E , D K , E S , F I , F R , G B , G R , I E , I T , L U , M C , N L , P T , S E) , O A (B F , B J , C F , C G , C I , C M , G A , G N , G W , M L , M R , N E , S N , T D , T G) , A P (G H , G M , K E , L S , M W , S D , S L , S Z , T Z , U G , Z W) , E A (A M , A Z , B Y , K G , K Z , M D , R U , T J , T M) , A E , A G , A L , A M , A T , A U , A Z , B A , B B , B G , B R , B Y , C A , C H , C N , C R , C U , C Z , D E , D K , D M , D Z , E E , E S , F I , G B , G D , G E , G H , G M , H R , H U , I D , I L , I N , I S , J P , K E , K G , K P , K R , K Z , L C , L K , L R , L S , L T , L U , L V , M A , M D , M G , M K , M N , M W , M X , N O , N Z , P L , P T , R O , R U , S D , S E , S G , S I , S K , S L , T J , T M , T R , T T , T Z , U A , U G , U S , U Z , V N , Y U , Z A , Z W		
Fターム(参考)	2G045 AA25 AA29 CA17 CB26 DA12 DA13 DA14 DA36 FB03 FB05 4C084 AA02 CA04 CA59 DA32 NA14 ZA512 ZB072 ZB112 4C085 AA02 BA13 BB11 BB41 BB42 CC22 EE01 GG01 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA11 DA86 EA31 EA54 FA74		

专利名称(译)	基于蛋白A的结合结构域具有期望的活性		
公开(公告)号	JP2002544237A	公开(公告)日	2002-12-24
申请号	JP2000617917	申请日	2000-05-15
[标]申请(专利权)人(译)	加州大学圣地亚哥分校		
申请(专利权)人(译)	加州大学圣地亚哥分校		
[标]发明人	シルバーマングレグジェイ		
发明人	シルバーマン, グレグ・ジェイ		
IPC分类号	G01N33/48 A61K38/00 A61K39/085 A61P7/00 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 C07K14/31 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61K38/00 A61P29/00 C07K14/31		
FI分类号	C07K14/31.ZNA A61K39/085 A61P7/00 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/00 G01N33/15.Z G01N33/48.M G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.Y G01N33/566 A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA29 2G045/CA17 2G045/CB26 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB03 2G045/FB05 4C084/AA02 4C084/CA04 4C084/CA59 4C084/DA32 4C084/NA14 4C084/ZA512 4C084/ZB072 4C084/ZB112 4C085/AA02 4C085/BA13 4C085/BB11 4C085/BB41 4C085/BB42 4C085/CC22 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA11 4H045/DA86 4H045/EA31 4H045/EA54 4H045/FA74		
优先权	60/134386 1999-05-15 US		
其他公开文献	JP2002544237A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了与免疫球蛋白 (Ig) 结合的葡萄球菌蛋白A (SpA) 变体。所述变体包含与SpA的天然存在的可变重链III (“ V^h 3”) Ig-Fab结合区 (“结合区”) 的氨基酸序列不同的一个或多个氨基酸的多肽，其中 因此，该多肽对Ig-Fab与SpA或对不同于SpA的非Ig靶分子表现出不同的结合特异性。还提供了产生变体的方法以及将变体用于Ig纯化以及诊断和治疗干预的方法。