

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2003 - 523745

(P2003 - 523745A)

(43)公表日 平成15年8月12日(2003.8.12)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 0 1 K 67/027	2 G 0 4 5
A 0 1 K 67/027		A 6 1 K 31/7088	4 B 0 2 4
A 6 1 K 31/7088		45/00	4 B 0 6 3
38/00		48/00	4 B 0 6 4
45/00		A 6 1 P 25/00	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全273数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 558456(P2001 - 558456)

(86)(22)出願日 平成13年2月7日(2001.2.7)

(85)翻訳文提出日 平成14年8月8日(2002.8.8)

(86)国際出願番号 PCT/US01/03916

(87)国際公開番号 W001/059120

(87)国際公開日 平成13年8月16日(2001.8.16)

(31)優先権主張番号 60/180,864

(32)優先日 平成12年2月8日(2000.2.8)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 09/722,920

(32)優先日 平成12年11月27日(2000.11.27)

(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 アムジェン インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91320,
サウザンド オークス, ワン アムジェ
ン センター ドライブ

(72)発明者 ジング, シュチアン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91362,
サウザンド オークス, ボーデロ レー
ン 3254

(72)発明者 パス, マイケル ビー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91360,
サウザンド オークス, エヌ. マリア
ン アベニュー 1743

(74)代理人 弁理士 川口 義雄 (外 4 名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 I L - 1 7 様分子およびその使用

(57)【要約】

本発明は、新規の I L - 1 7 様ポリペプチドおよび新規の I L - 1 7 様ポリペプチドをコードする核酸分子を提供する。本発明はまた、ベクター、宿主細胞、選択的結合因子、および I L - 1 7 様ポリペプチドを産生する方法を提供する。提供されるものはまた、 I L - 1 7 様ポリペプチドまたはそれらのアンタゴニストを用いた疾患の診断、処置、または予防の方法である。本発明はさらに、診断試薬であって、配列番号 2 に示されるアミノ酸配列、あるいはそれらの対立遺伝子改変体およびスプライス改変体を含む、それらのフラグメント、改変体またはホモログをコードする、検出可能に標識されたポリヌクレオチドを含む、診断試薬を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 単離された核酸分子であって、該核酸分子は、以下：

- (a) 配列番号1に示されるようなヌクレオチド配列；
- (b) 配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；
- (c) (a)または(b)の相補体に中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列であって、該コードされるポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；および、
- (d) (a)～(c)のいずれかに相補的なヌクレオチド配列からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、核酸分子。

【請求項2】 単離された核酸分子であって、該核酸分子は、以下：

- (a) 配列番号2に示されるようなポリペプチドに少なくとも約70、75、80、85、90、95、96、97、98、または99%同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；
- (b) 配列番号1に示されるようなヌクレオチド配列の対立遺伝子改変体またはスプライス改変体をコードするヌクレオチド配列であって、該コードされるポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；
- (c) 少なくとも約25アミノ酸残基のポリペプチドフラグメントをコードする、配列番号1；(a)；または(b)のヌクレオチド配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；
- (d) 少なくとも約16ヌクレオチドのフラグメントを含む、配列番号1または(a)～(c)のヌクレオチド配列；
- (e) (a)～(d)のいずれかの相補体に中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列であって、該ポリペプチド

は、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；および、

(f)(a)～(c)のいずれかに相補的なヌクレオチド配列からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、核酸分子。

【請求項3】 単離された核酸分子であって、該核酸分子は、以下：

(a) 少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(b) 少なくとも1つのアミノ酸挿入を有する配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(c) 少なくとも1つのアミノ酸欠失を有する配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(d) C末端短縮および/またはN末端短縮を有する配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(e) アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、C末端短縮およびN末端短縮からなる群より選択される少なくとも1つの改変を有する配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(f) 少なくとも約16ヌクレオチドのフラグメントを含む(a)～(e)のいずれかのヌクレオチド配列；

(g) (a)～(f)のいずれかの相補体に中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；ならびに、

(h)(a)~(e)のいずれかに相補的なヌクレオチド配列からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、核酸分子。

【請求項4】 請求項1、2または3に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項5】 請求項4に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項6】 真核生物細胞である、請求項5に記載の宿主細胞。

【請求項7】 原核生物細胞である、請求項5に記載の宿主細胞。

【請求項8】 IL-17様ポリペプチドを産生するプロセスであって、請求項5に記載の宿主細胞を該ポリペプチドを発現するのに適切な条件下で培養する工程、および必要に応じて、該培養物から該ポリペプチドを単離する工程を包含する、プロセス。

【請求項9】 請求項8に記載のプロセスによって産生された、ポリペプチド。

【請求項10】 請求項8に記載のプロセスであって、前記核酸分子は、ネイティブIL-17様ポリペプチドについてのプロモーターDNA以外のプロモーターDNAを含み、該プロモーターは、該IL-17様ポリペプチドをコードするDNAに作動可能に連結されている、プロセス。

【請求項11】 請求項2に記載の単離された核酸分子であって、ここで、前記同一性パーセントが、コンピュータープログラムGAP、BLASTP、BLASTN、FASTA、BLASTA、BLASTX、BestFitおよびSmith-Watermanアルゴリズムを使用して決定される、核酸分子。

【請求項12】 IL-17様ポリペプチドの活性または産生の候補インヒビターを同定するためのプロセスであって、該プロセスは、請求項5、6、または7に記載の細胞を該候補インヒビターに曝露する工程、および該細胞におけるIL-17様ポリペプチドの活性または産生を測定する工程、該候補インヒビターに曝露された細胞におけるIL-17様ポリペプチドの活性を該候補インヒビターに曝露されなかった細胞における活性と比較する工程を包含する、プロセス。

【請求項13】 IL-17様ポリペプチドの活性または産生の候補刺激因

子を同定するためのプロセスであって、該プロセスは、請求項5、6または7に記載の細胞を該候補刺激因子に曝露する工程、および該細胞におけるIL-17様ポリペプチドの活性または産生を測定する工程、該候補刺激因子に曝露された細胞におけるIL-17様活性を該刺激因子に曝露されなかった細胞における活性と比較する工程を包含する、プロセス。

【請求項14】 配列番号2に示されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項15】 単離されたポリペプチドであって、該ポリペプチドは、以下：

(a) 配列番号3に示されるような成熟アミノ酸配列であって、残基5で成熟アミノ末端を含み、必要に応じてさらに、アミノ末端メチオニンを含む、アミノ酸配列；

(b) 配列番号2のオルソログのアミノ酸配列であって、コードされるポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(c) 配列番号2のアミノ酸配列に少なくとも約70、75、80、85、90、95、96、97、98、または99%同一であるアミノ酸配列であって、該ポリペプチドは、GAP、BLASTP、BLASTN、FASTA、BLASTA、BLASTX、BestFit、またはSmith-Watermanアルゴリズムコンピュータープログラムを使用して決定される場合、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(d) 少なくとも約25アミノ酸残基を含む配列番号2に示されるアミノ酸配列のフラグメントであって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、フラグメント；

(e) 配列番号2、もしくは(a)~(c)の少なくとも1つに示されるようないずれかのアミノ酸配列の対立遺伝子改変体またはスプライス改変体のアミノ酸配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項16】 単離されたポリペプチドであって、該ポリペプチドは、以下：

(a) 少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号2に示されるようなアミノ酸配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(b) 少なくとも1つのアミノ酸挿入を有する配列番号2に示されるようなアミノ酸配列であって、該コードされるポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(c) 少なくとも1つのアミノ酸欠失を有する配列番号2に示されるようなアミノ酸配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(d) C末端短縮および/またはN末端短縮を有する配列番号2に示されるようなアミノ酸配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；ならびに、

(e) アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、C末端短縮およびN末端短縮からなる群より選択される少なくとも1つの改変を有する配列番号2に示されるようなアミノ酸配列であって、該ポリペプチドは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列、からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

【請求項17】 請求項1、2、または3に記載される核酸分子によってコードされる単離されたポリペプチド。

【請求項18】 配列番号2の第47位のアミノ酸が、ロイシン、ノルロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニン、アラニンまたはフェニルアラニンである、請求項15または16に記載のポリペプチド。

【請求項19】 配列番号2の第110位のアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸である、請求項15または16に記載のポリペプチド。

【請求項20】 配列番号2の第141位のアミノ酸が、チロシン、トリプトファン、フェニルアラニン、スレオニン、またはセリンである、請求項15ま

たは16に記載のポリペプチド。

【請求項21】 配列番号2の第151位のアミノ酸が、プロリン、アラニンまたはグリシンである、請求項15または16に記載のポリペプチド。

【請求項22】 配列番号2の第159位のアミノ酸が、システイン、セリンまたはアラニンである、請求項15または16に記載のポリペプチド。

【請求項23】 配列番号2の第161位のアミノ酸が、システイン、セリンまたはアラニンである、請求項15または16に記載のポリペプチド。

【請求項24】 配列番号2の第164位のアミノ酸が、システイン、セリンまたはアラニンである、請求項15または16に記載のポリペプチド。

【請求項25】 配列番号2の第193位のアミノ酸が、システイン、セリンまたはアラニンである、請求項15または16に記載のポリペプチド。

【請求項26】 配列番号2の第219位のアミノ酸が、システイン、セリンまたはアラニンである、請求項15または16に記載のポリペプチド。

【請求項27】 配列番号2の第221位のアミノ酸が、システイン、セリンまたはアラニンである、請求項15または16に記載のポリペプチド。

【請求項28】 請求項15に記載の単離されたポリペプチドであって、ここで、前記同一性パーセントが、GAP、BLASTP、BLASTN、FASTA、BLASTA、BLASTX、BestFitおよびSmith-Watermanアルゴリズムからなる群より選択されるコンピュータープログラムを使用して決定される、ポリペプチド。

【請求項29】 配列番号2のアミノ酸配列を含むペプチドで動物を免疫することによって産生された、抗体。

【請求項30】 請求項14、15、または16に記載のポリペプチドを特異的に結合する、抗体またはそのフラグメント。

【請求項31】 モノクローナル抗体である、請求項30に記載の抗体。

【請求項32】 配列番号2のアミノ酸配列を含むペプチドに結合するモノクローナル抗体を産生する、ハイブリドーマ。

【請求項33】 サンプル中のIL-17様ポリペプチドの量を検出または定量する方法であって、IL-17様ポリペプチドを含むことが疑われるサンプ

ルに請求項29、30、または31に記載の抗IL-17様抗体またはそのフラグメントを接触させる工程、および該抗体またはフラグメントの結合を検出する工程を包含する、方法。

【請求項34】 少なくとも1つのポリペプチドを特異的に結合する選択的結合因子またはそのフラグメントであって、該ポリペプチドは、以下：

配列番号2に示されるようなアミノ酸配列；および、

配列番号2の少なくとも1つに示されるアミノ酸配列のフラグメント；または、天然に存在する改変体、からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、選択的結合因子。

【請求項35】 抗体またはそのフラグメントである、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項36】 ヒト化抗体である、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項37】 ヒト抗体またはそのフラグメントである、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項38】 ポリクローナル抗体またはそのフラグメントである、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項39】 モノクローナル抗体またはそのフラグメントである、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項40】 キメラ抗体またはそのフラグメントである、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項41】 CDRグラフト化抗体またはそのフラグメントである、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項42】 抗イディオタイプ抗体またはそのフラグメントである、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項43】 可変領域フラグメントである、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項44】 FabまたはFab'フラグメントである、請求項43に記載の可変領域フラグメント。

【請求項45】 選択的結合因子またはそのフラグメントであって、配列番号2のアミノ酸配列を有するポリペプチドに対する特異性を有する、少なくとも1つの相補性決定領域を含む、選択的結合因子。

【請求項46】 検出可能な標識に結合される、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項47】 IL-17様ポリペプチドの生物学的活性を拮抗する、請求項34に記載の選択的結合因子。

【請求項48】 IL-17様ポリペプチドのレベルの変化に関連する疾患、状態または障害を、処置、予防または改善するための方法であって、請求項34に記載の選択的結合因子の有効量を患者に投与する工程を包含する、方法。

【請求項49】 配列番号2に記載のアミノ酸配列を含むポリペプチドで動物を免疫することによって産生された、選択的結合因子。

【請求項50】 請求項1、2、または3に記載の核酸によってコードされるポリペプチドを結合し得る選択的結合因子を産生する、ハイブリドーム。

【請求項51】 請求項14、15または16に記載のポリペプチドおよび薬学的に受容可能な処方剤を含む、組成物。

【請求項52】 前記薬学的に受容可能な処方剤が、キャリア、アジュバント、可溶化剤、安定剤、抗酸化剤またはそれらの組み合わせである、請求項51に記載の組成物。

【請求項53】 前記ポリペプチドが、配列番号2に示されるような成熟アミノ酸配列を含む、請求項51に記載の組成物。

【請求項54】 請求項14、15または16に記載のポリペプチドの誘導体を含む、ポリペプチド。

【請求項55】 水溶性ポリマーで共有結合的に改変されている、請求項54に記載のポリペプチド。

【請求項56】 請求項55に記載のポリペプチドであって、前記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール、モノメトキシ-ポリエチレングリコール、デキストラン、セルロース、ポリ-(N-ビニルピロリドン)ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレ

ンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、およびポリビニルアルコールからなる群より選択される、ポリペプチド。

【請求項57】 請求項1、2または3に記載の核酸分子および薬学的に受容可能な処方剤を含む、組成物。

【請求項58】 前記核酸分子が、ウイルスベクター中に含まれる、請求項57に記載の組成物。

【請求項59】 請求項1、2または3に記載の核酸分子を含む、ウイルスベクター。

【請求項60】 異種アミノ酸配列に融合された請求項14、15または16に記載のポリペプチドを含む、融合ポリペプチド。

【請求項61】 前記異種アミノ酸配列が、IgG定常ドメインまたはそのフラグメントである、請求項60に記載の融合ポリペプチド。

【請求項62】 IL-17様ポリペプチドレベルの減少から生じる哺乳動物における医学的状態を、処置、予防または改善するための方法であって、請求項14、15または16に記載のポリペプチドあるいは請求項1、2または3に記載の核酸によってコードされるポリペプチドを、該哺乳動物に投与する工程を包含する、方法。

【請求項63】 異常なレベルのIL-17様ポリペプチドによって引き起こされるかまたはそれから生じる、被験体における病理学的状態または病理学的状態に対する感受性を診断する方法であって、以下：

(a) サンプル中の請求項14、15または16に記載のポリペプチドあるいは請求項1、2または3に記載の核酸分子によってコードされるポリペプチドの発現の存在または量を決定する工程；および、

(b) 正常な被験体または早期の被験体由来の生物学的サンプル、組織サンプルまたは細胞サンプルにおけるIL-17様ポリペプチドのレベルと比較する工程であって、ここで、病理学的状態に対する感受性は、該ポリペプチドの発現の存在または量に基づく、工程を包含する、方法。

【請求項64】 デバイスであって、以下：

(a) 移植に適した膜；および、

(b) 該膜内にカプセル化された細胞であって、該細胞は、請求項13、14、または15に記載のタンパク質を分泌する、細胞；を備え、

該膜は、該タンパク質産物に対して透過性であり、そして該細胞に有害な物質に対して不透過性である、デバイス。

【請求項65】 デバイスであって、以下：

(a) 移植に適した膜；および、

(b) 該膜内にカプセル化されたIL-17様ポリペプチド、を備え、ここで、該膜は、該ポリペプチドに対して透過性である、デバイス。

【請求項66】 ポリペプチドに結合する化合物を同定する方法であって、以下：

(a) 請求項14、15または16に記載のポリペプチドに化合物を接触させる工程；および、

(b) 該化合物に対する該ポリペプチドの結合の程度を決定する工程、を包含する、方法。

【請求項67】 IL-17様ポリペプチドの生物学的活性のアンタゴニストを同定する方法であって、以下：

(a) 低分子化合物にIL-17様ポリペプチドを接触させる工程；

(b) 該低分子化合物の存在下でのIL-17様ポリペプチドの生物学的活性を検出する工程；ならびに、

(c) 該低分子化合物の存在下および非存在下でのIL-17様ポリペプチドの生物学的活性のレベルを比較する工程、を包含する、方法。

【請求項68】 動物におけるポリペプチドのレベルを調節する方法であって、請求項1、2、または3に記載の核酸分子を該動物に投与する工程を包含する、方法。

【請求項69】 IL-17様ポリペプチド活性のアンタゴニストであって、該アンタゴニストは、IL-17様ポリペプチドに対する特異性を有する、IL-17様選択的結合因子、低分子、アンチセンスオリゴヌクレオチドおよびペ

プチドまたはそれらの誘導体からなる群より選択される、アンタゴニスト。

【請求項70】 IL-17様の細胞産生を減少させる方法であって、請求項69に記載のアンタゴニストをコードする核酸で細胞を形質転換またはトランスフェクトする工程を包含する、方法。

【請求項71】 請求項70に記載の方法であって、前記アンタゴニストは、アンチセンス試薬であり、該試薬は、IL-17様のmRNAに結合し得る一本鎖核酸配列を含むオリゴヌクレオチドを含む、方法。

【請求項72】 請求項1、2、または3に記載の核酸分子を含む、トランスジェニック非ヒト哺乳動物。

【請求項73】 請求項1、2または3に記載の核酸分子の破壊を含み、IL-17様ポリペプチドの発現が減少されている、トランスジェニック非ヒト哺乳動物。

【請求項74】 診断試薬であって、配列番号2に示されるアミノ酸配列、あるいはそれらの対立遺伝子改変体およびスプライス改変体を含む、それらのフラグメント、改変体またはホモログをコードする、検出可能に標識されたポリヌクレオチドを含む、診断試薬。

【請求項75】 前記標識されたポリヌクレオチドが、一本鎖cDNAである、請求項74に記載の診断試薬。

【請求項76】 生物学的サンプル中のIL-17様核酸の存在を決定するための方法であって、以下の工程：

(a) IL-17様核酸を含むことが疑われる生物学的サンプルを提供する工程；

(b) 該生物学的サンプルに請求項74に記載の診断試薬を接触させる工程であって、該工程は、該診断試薬が、該生物学的サンプル中に含まれるIL-17様核酸とハイブリダイズする条件下で行う、工程；

(c) 該生物学的サンプル中の核酸と該診断試薬との間のハイブリダイゼーションを検出する工程；および、

(d) 該生物学的サンプルと該診断試薬との間のハイブリダイゼーションのレベルを、既知の濃度のIL-17様核酸と該診断試薬との間のハイブリダイゼー

ションのレベルと比較する工程、
を包含する、方法。

【請求項77】 組織サンプルまたは細胞サンプル中のIL-17様核酸の存在を検出するための方法であって、以下の工程：

(a) IL-17様核酸を含むことが疑われる組織サンプルまたは細胞サンプルを提供する工程；

(b) 該組織サンプルまたは細胞サンプルに請求項77に記載の診断試薬を接触させる工程であって、該工程は、該診断試薬が、IL-17様核酸とハイブリダイズする条件下で行う、工程；

(c) 該組織サンプルまたは細胞サンプル中のIL-17様核酸と該診断試薬との間のハイブリダイゼーションを検出する工程；および、

(d) 該組織サンプルまたは細胞サンプルと該診断試薬との間のハイブリダイゼーションのレベルを、既知の濃度のIL-17様核酸と該診断試薬との間のハイブリダイゼーションのレベルと比較する工程、
を包含する、方法。

【請求項78】 前記ポリヌクレオチド分子が、DNAである、請求項76または77に記載の方法。

【請求項79】 前記ポリヌクレオチド分子が、RNAである、請求項76または77に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

(関連出願)

本願は、2000年2月8日に出願された米国特許第60/180,864号から優先権を主張する2000年11月27日に出願された米国特許第09/722,920号から優先権を主張する。

【0002】

(発明の分野)

本発明は、新規IL-17様ポリペプチドおよびこれをコードする核酸分子に関する。本発明はまた、IL-17様ポリペプチドを産生するための、ベクター、宿主細胞、薬学的組成物、選択的結合因子および方法に関する。IL-17様ポリペプチドと関連する疾患の診断および処置のための方法についてもまた、提供される。

【0003】

(発明の背景)

核酸分子の同定、クローニング、発現、および操作における技術進歩は、ヒトゲノムの解読に基づく新規治療剤の発見を大きく加速した。現在、高速核酸配列決定技術は、前例のない速度で配列情報を作製し得、そしてコンピュータ分析と結合されて、ゲノムの一部および全体への重複配列のアセンブリならびにポリペプチドコード領域の同定を可能にする。既知アミノ酸配列のデータベース編集物に対する推定アミノ酸配列の比較は、以前に同定された配列および/または構造の目印に対して相同性の程度を決定することを可能にする。核酸分子のポリペプチドコード領域のクローニングおよび発現は、構造分析および機能分析のためのポリペプチド産物を提供する。それらの改変体およびそれらの誘導体を作製するための核酸分子およびコードされるポリペプチドの操作は、治療剤としての使用に関して生成物に対して有利な特性を与え得る。

【0004】

過去10年間にわたるゲノム研究における有意な技術進歩にも関わらず、ヒトゲノムに基づく新規治療剤の開発に対する可能性は、未だ広く理解されていない

。潜在的に有利なポリペプチド治療剤をコードする多くの遺伝子またはこれらがコードするポリペプチド（これらは、治療分子に対して「標的」としてはたらし得る）は、未だ同定されていない。さらに、多数のヒトゲノム由来のポリペプチド産物の構造分析および機能分析は、着手されていない。

【0005】

IL - 17は、活性化されたT細胞の誘導サイトカインである。IL - 17は、炎症前サイトカインの発現を誘導することによって炎症において調節の役割を果たすことが見出されている。近年の研究は、このIL - 17が、骨砕き術の再吸収に作用することによる骨の破壊にもまた関連し得ることを明らかにする。

【0006】

（発明の要旨）

本発明は、新規IL - 17様核酸分子およびコードされるポリペプチドに関する。

【0007】

本発明は、単離された核酸分子であって、以下：

（a）配列番号1に示されるヌクレオチド配列；

（b）配列番号2に示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；

（c）（a）または（b）の相補体に、中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列であって、ここで、このコードされたポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；および、

（d）（a）～（c）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を提供する。

【0008】

本発明はまた、単離された核酸分子であって、以下：

（a）配列番号2に示されるポリペプチドに少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペ

プチドは、コンピュータープログラム（例えば、GAP、BLASTP、BLASTN、BLASTA、BLASTX、BestFit、またはSmith-Watermanアルゴリズム）を用いて決定されたような配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(b) 配列番号1に示されるヌクレオチド配列の対立遺伝子改変体またはスライス改変体をコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このコードされたポリペプチドが、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(c) 少なくとも約25アミノ酸残基のポリペプチドフラグメントをコードする、配列番号1、(a)、または(b)のヌクレオチド配列であって、ここで、このコードされたポリペプチドが、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(d) 少なくとも約16ヌクレオチドのフラグメントを含む、配列番号1、または(a)~(c)いずれかのヌクレオチド配列；

(e) 中程度または高度にストリンジェントな条件下で、(a)~(d)のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列であって、ここで、このコードされたポリペプチドが、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；ならびに、

(f) (a)~(c)のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を提供する。

【0009】

本発明は、単離された核酸分子であって、以下；

(a) 少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号2に示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(b) 少なくとも1つのアミノ酸挿入を有する配列番号2に示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(c) 少なくとも1つのアミノ酸欠失を有する配列番号2に示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(d) C末端短縮および/またはN末端短縮を有する配列番号2に示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(e) アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、C末端短縮、およびN末端短縮からなる群より選択される少なくとも1つの改変を有する配列番号2に示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(f) 少なくとも約16ヌクレオチドのフラグメントを含む(a)~(e)のヌクレオチド配列；

(g) 中程度または高度にストリンジェントな条件下で、(a)~(f)のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；ならびに、

(h) (a)~(e)のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子をさらに提供する。

【0010】

本発明は、単離されたポリペプチドであって、以下：

(a) 配列番号2のアミノ酸残基227を介するアミノ酸残基5によって示されるような成熟IL-17様ポリペプチドを含み、そして必要に応じて、アミノ末端のメチオニンをさらに含むアミノ酸配列；

(b) 配列番号2のオルソログ(ortholog)に対するアミノ酸配列；

(c) 配列番号2に示されるアミノ酸配列に少なくとも約70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドは、コンピュータープログラム(

例えば、GAP、BLASTP、BLASTN、BLASTA、BLASTX、BestFit、またはSmith-Watermanアルゴリズム)を用いて決定されたような配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(d) 少なくとも約25アミノ酸残基を含む配列番号2に示されるアミノ酸配列のフラグメントであって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(e) 配列番号2、または(a)~(c)に示されるアミノ酸配列の対立遺伝子改変体またはスプライス改変体のいずれかに関するアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列、
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドを提供する。

【0011】

あるいは、本発明は、単離されたポリペプチドであって、以下：

(a) 少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号2に示されるアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(b) 少なくとも1つのアミノ酸挿入を有する配列番号2に示されるアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(c) 少なくとも1つのアミノ酸欠失を有する配列番号2に示されるアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(d) C末端短縮および/またはN末端短縮を有する配列番号2に示されるアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；ならびに、

(e) アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、C末端短縮、およびN末端短縮からなる群より選択される少なくとも1つの改変を有する配列番号2に示

されるアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドは、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列、
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドを提供する。

【0012】

上記の(a)~(g)のアミノ酸配列を含む融合ポリペプチドもまた、提供される。

【0013】

本発明はまた、本明細書中に示されるような単離された核酸分子を含む発現ベクター、本明細書中に示されるような組換え核酸分子を含む組換え宿主細胞、およびIL-17様ポリペプチドを産生する方法を提供し、この方法は、この宿主細胞を培養する工程、および必要に応じてそのように産生されたポリペプチドを単離する工程を包含する。これらの発現ベクターとしては、発現のためにインタクトな細胞を利用するバキュロウイルス発現ベクターが挙げられる。

【0014】

IL-17様ポリペプチドをコードする核酸分子を含むトランスジェニック非ヒト動物もまた、本発明に含まれる。IL-17様核酸分子は、IL-17様ポリペプチドの発現およびIL-17様ポリペプチドの増加したレベル(これは、増加した循環レベルを含み得る)を可能にする様式で、動物中に導入される。トランスジェニック非ヒト動物は、好ましくは哺乳動物である。IL-17様ポリペプチドをコードする核酸分子における破壊(これは、IL-17様ポリペプチドの発現をロックアウトするかまたは有意に減少させる)を含むトランスジェニック非ヒト動物もまた、提供される。

【0015】

本発明のIL-17様ポリペプチドの誘導體もまた、提供される。

【0016】

本発明において、IL-17様ポリペプチドのアナログが提供される。このアナログは、配列番号2のIL-17様ポリペプチドの保存的アミノ酸置換および/または非保存的アミノ酸置換から生じる。このようなアナログは、IL-17

様ポリペプチドを含み、ここで、例えば、配列番号2の位置47のアミノ酸が、ロイシン、ノルロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニン、アラニン、またはフェニルアラニンであるか、配列番号2の位置110のアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸であるか、配列番号2の位置141のアミノ酸が、チロシン、トリプトファン、フェニルアラニン、スレオニン、またはセリンであるか、配列番号2の位置151のアミノ酸が、プロリン、アラニンまたはグリシンであるか、配列番号2の位置159のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンであるか、配列番号2の位置161のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンであるか、配列番号2の位置164のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンであるか、配列番号2の位置193のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンであるか、配列番号2の位置219のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンであるか、あるいは配列番号2の位置221のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンである。

【0017】

本発明のIL-17様ポリペプチドに特異的に結合し得る選択的結合因子（例えば、抗体およびペプチド）が、さらに提供される。このような抗体、ポリペプチド、ペプチドおよび小分子は、アゴニストのものであってもアンタゴニストのものであってもよい。

【0018】

本発明のヌクレオチド、ポリペプチド、または選択的結合因子および1つ以上の薬学的に受容可能な処方剤を含む薬学的組成物もまた、本発明によって含まれる。薬学的組成物は、治療有効量の本発明のヌクレオチドまたはポリペプチドを提供するために使用される。本発明はまた、このポリペプチド、核酸分子、および選択的結合因子を使用する方法に関する。

【0019】

本発明のIL-17様ポリペプチドおよびIL-17様核酸分子は、疾患および障害（本明細書中に列挙されるものを含む）を処置、予防、回復、および/または検出するために使用され得る。生物学的サンプル、細胞サンプルまたは組織サンプルにおける発現分析は、IL-17様ポリペプチドが本明細書中に記載さ

れる病理学的状態の診断および/または処置において役割を果たし得ることを示唆する。この発現は、診断用薬剤（例えば、IL-17様ポリペプチド）を用いて検出され得る。

【0020】

本発明は、IL-17様ポリペプチドの異常な（すなわち、増加したかまたは減少した）レベルによって引き起こされたかまたはこのレベルから生じた被験者における病理学的状態または病理学的状態に対する感受性を診断することを含む。この診断は、サンプル中のIL-17様ポリペプチドの存在またはその発現量を決定すること、および正常な被験体または初期の被験体のいずれか由来の生物学的サンプル、組織サンプルまたは細胞サンプル中のこのポリペプチドのレベルを比較する（comprising）ことを包含する。ここで、病理学的状態に対する感受性は、このポリヌクレオチドの存在または発現量に基づく。

【0021】

本発明はまた、IL-17様ポリペプチドに結合する試験分子を同定するために、試験分子をアッセイする方法を提供する。この方法は、IL-17様ポリペプチドを試験分子と接触させて、この試験分子のこのポリペプチドに対する結合の程度を決定する工程を包含する。この方法はさらに、このような試験分子が、IL-17様ポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストであるか否かを決定する工程を包含する。本発明はさらに、IL-17様ポリペプチドの発現またはIL-17様ポリペプチドの活性に対する分子の影響を試験する方法を提供する。

【0022】

本発明は、小分子化合物にIL-17様ポリペプチドを接触させる工程、およびこれらの小分子の存在下または非存在下でIL-17様生物学的活性を測定する工程を包含するIL-17様生物学的活性のアンタゴニストまたはアゴニストを同定する方法を提供する。これらの小分子は、天然に存在する医療用化合物であり得るか、または組合せ化学ライブラリー由来であり得る。特定の実施形態において、IL-17様ポリペプチドアゴニストまたはIL-17様ポリペプチドアンタゴニストは、その活性を調節するためにIL-17様ポリペプチドと相互

作用するタンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質、または小分子であり得る。

【0023】

IL-17様ポリペプチドの発現を調節する (regulate) 方法および IL-17様ポリペプチドのレベルを調節する (modulate) (すなわち、増加または減少する) 方法がまた、本発明によって含まれる。1つの方法は、IL-17様ポリペプチドをコードする核酸分子を動物に投与する工程を包含する。別の方法において、IL-17様ポリペプチドの発現を調節する (regulate) かまたは調節する (modulate) エレメントを含む核酸分子が、投与され得る。これらの方法の例としては、本明細書中にさらに記載されるように、遺伝子治療、細胞治療、およびアンチセンス治療が挙げられる。

【0024】

本発明の別の局面において、IL-17様ポリペプチドは、その結合パートナー(「IL-17様ポリペプチドレセプター」)を同定するために使用され得る。酵母の2-ハイブリッドスクリーニング (yeast two-hybrid screens) を広範に用いて、タンパク質リガンドについてレセプターを同定してクローニングしている。(Chienら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 88:9578-9583, 1991)。IL-17様ポリペプチド結合パートナーの単離は、IL-17様ポリペプチド活性の新規アゴニストおよびアンタゴニストを同定するかまたは開発するために有用である。このようなアゴニストおよびアンタゴニストとしては、可溶性の抗IL-17様レセプター(単数または複数)、抗IL-17様選択的結合因子および/もしくは抗IL-17様レセプター選択的結合因子(例えば、抗体およびその誘導体)、小分子、IL-17様ポリペプチドに結合し得るペプチドもしくはその誘導体、あるいはアンチセンスオリゴヌクレオチドが挙げられ、これらのうちのいずれかは、開示される1つ以上の疾患または障害(本明細書中に列挙されるものを含む)を潜在的に処置するために有用であり得る。

【0025】

本発明は、生物学的サンプル、組織サンプル、または細胞サンプル中のIL-17様核酸の存在を決定する方法をさらに含む。これらの方法は、IL-17様

核酸を含んでいると疑われる生物学的サンプルを提供する工程；この生物学的サンプルを条件下で本発明の診断用試薬に接触させる工程（ここで、診断用試薬は、この生物学的サンプル中に含まれるIL-17様核酸とハイブリダイズする）；この生物学的サンプル中の核酸と診断用試薬との間のハイブリダイゼーションを検出する工程；および、この生物学的サンプルと診断用試薬との間のハイブリダイゼーションのレベルを、既知の濃度のIL-17様核酸と診断用試薬との間のハイブリダイゼーションのレベルと比較する工程、を包含する。これらの方法において検出されたポリヌクレオチドは、IL-17様DNAまたはIL-17様RNAであり得る。

【0026】

本発明はまた、患者における移植に適切な膜；およびこの膜中にカプセル化された細胞（ここで、この細胞は、本発明のIL-17様ポリペプチドを分泌し、ここで、この膜は、このタンパク質産物に対して透過性であり、かつこの細胞に有害な物質に対して不浸透性である）を含むデバイスも提供する。本発明は、移植に適切な膜および膜中にカプセル化されたこのポリペプチド（IL-17様ポリペプチドに対して透過性）を含むデバイスもさらに提供する。

【0027】

（発明の詳細な説明）

本明細書中で使用される節の表題は、体系的な目的のみのためであり、そして記載される内容を限定するようには解釈されるべきではない。本願において列挙される全ての参考文献は、明確に本明細書中に参考として援用される

（定義）

用語「IL-17様遺伝子」または「IL-17様核酸分子」あるいは「IL-17様ポリヌクレオチド」とは、配列番号1に示されるヌクレオチド配列、配列番号2に示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、ATCC受託番号PTA-1451（2000年3月7日に、American Type Culture Collection 10801 University Blvd. Manassas, VAで寄託された）におけるDNAインサートのヌクレオチド配列、または本明細書中で定義されるような関連核酸分子を含むか

、またはこれらからなる核酸分子をいう。

【0028】

用語「IL-17様ポリペプチド」とは、配列番号2または配列番号3の少なくとも1つのアミノ酸配列を含むポリペプチド、および関連ポリペプチドをいう。関連ポリペプチドとしては、IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体、IL-17様ポリペプチドオルソログ、IL-17様ポリペプチドスプライス改変体、IL-17様ポリペプチド改変体、およびIL-17様ポリペプチド誘導体が挙げられる。IL-17様ポリペプチドは、本明細書中で定義されるような成熟ポリペプチドであり得、そしてこれらが調製される方法に依存して、アミノ末端メチオニン残基を有しても有さなくてもよい。

【0029】

用語「IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体」とは、生物体または生物体の集団の染色体の所定の遺伝子座を占める遺伝子の、天然に存在する可能ないくつかの代替的形態のうちの1つをいう。

【0030】

用語「IL-17様ポリペプチド誘導体」は、配列番号2に示されるポリペプチド、本明細書中で定義されるような、IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体、IL-17様ポリペプチドフラグメント、IL-17様ポリペプチドオルソログ、IL-17様ポリペプチドスプライス改変体、またはIL-17様ポリペプチド改変体をいい、これらは、化学的に改変されている。これらの誘導体は、天然に存在するIL-17様ポリペプチドとは異なる様式において、このポリペプチドに結合する分子の型または位置のいずれかで改変される。誘導体は、IL-17様ポリペプチドに天然に結合する化学基の1つ以上の欠失によって形成された分子をさらに含む。

【0031】

用語「IL-17様ポリペプチドフラグメント」とは、配列番号2に示されるポリペプチドの、アミノ末端（リーダー配列を有するかまたは有さない）での短縮化（truncation）および/またはカルボキシル末端での短縮化を含むポリペプチド、配列番号2に示されるIL-17様ポリペプチドのアミノ酸配

列と比較して、1つ以上のアミノ酸の付加または置換または内部欠失を有する、IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体、IL-17様ポリペプチドオルソログ、IL-17様ポリペプチドスプライス改変体ならびに/あるいはIL-17様ポリペプチド改変体(ここで、得られたポリペプチドは、少なくとも6個のアミノ酸長またはそれ以上のアミノ酸長である)をいう。IL-17様ポリペプチドフラグメントは、選択的RNAスプライシング、またはインビボプロテアーゼ活性から生じ得る。好ましい実施形態において、短縮化は、約10アミノ酸、または約20アミノ酸、または約50アミノ酸、または約75アミノ酸、または約100アミノ酸、または約100より多くのアミノ酸を含む。このように生成されるポリペプチドフラグメントは、約25個連続したアミノ酸、または約50アミノ酸、または約75アミノ酸、または約100アミノ酸、約150アミノ酸または約200アミノ酸を含む。このようなIL-17様ポリペプチドフラグメントは、必要に応じて、アミノ末端メチオニン残基を含み得る。このようなフラグメントは、例えば、IL-17様ポリペプチドに対する抗体を作製するために使用されることが理解される。

【0032】

用語「IL-17様融合ポリペプチド」は、配列番号2に示されるポリペプチド、配列番号2に示されるIL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、1つ以上のアミノ酸の欠失、置換、または内部付加を有する、IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体、IL-17様ポリペプチドオルソログ、IL-17様ポリペプチドスプライス改変体、またはIL-17様ポリペプチド改変体のアミノ末端またはカルボキシル末端での、1つ以上のアミノ酸の融合(例えば、異種ペプチドまたはポリペプチド)をいう。

【0033】

用語「IL-17様ポリペプチドオルソログ(ortholog)」とは、配列番号2に示されるようなIL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列に対応する、別の種由来のポリペプチドをいう。例えば、マウスおよびヒトのIL-17様ポリペプチドは、互いにオルソログであるとみなされる。

【0034】

用語「IL-17様ポリペプチドスプライス改変体」とは、配列番号2に示されるIL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列のRNA転写物中のイントロン配列の選択的プロセッシングによって生成される、核酸分子（通常はRNA）をいう。

【0035】

用語「IL-17様ポリペプチド改変体」とは、配列番号2（リーダー配列を有するかまたは有さない）に示されるIL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、1つ以上のアミノ酸配列の置換、欠失（例えば、内部欠失および/もしくはIL-17様ポリペプチドフラグメント）、ならびに/または付加（例えば、内部付加および/もしくはIL-17様融合ポリペプチド）を有するアミノ酸配列を含むIL-17様ポリペプチドをいう。改変体は、天然に存在する（例えば、IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体、IL-17様ポリペプチドオルソログ、およびIL-17様ポリペプチドスプライス改変体）であり得るか、あるいは、人工的に構築され得る。このようなIL-17様ポリペプチド改変体は、配列番号2に示されるDNA配列から変化するDNA配列を有する、対応する核酸分子から調製され得る。好ましい実施形態において、この改変体は、1~3、または1~5、または1~10、または1~15、または1~20、または1~25、または1~50、または1~75、または1~100、または100より多くのアミノ酸の置換、挿入、付加、および/または欠失を有し、ここで、この置換は、保存的、または非保存的、あるいはそのいずれかの組み合わせであり得る。

【0036】

用語「抗原」とは、選択的結合因子（例えば、抗体）により結合され得、そしてさらに動物において使用されて、その抗原のエピトープに結合し得る抗体を産生し得る分子または分子の一部をいう。抗原は、1つ以上のエピトープを有し得る。

【0037】

用語「生物学的に活性なIL-17様ポリペプチド」、「生物学的に活性なIL-17様ポリペプチドフラグメント」、「生物学的に活性なIL-17様ポリ

ペプチド改変体」、および「生物学的に活性なIL-17様ポリペプチド誘導体」とは、IL-17様ポリペプチドに特徴的な少なくとも1つの活性（例えば、配列番号2または配列番号4のいずれかに示されるポリペプチドの活性）を有するIL-17様ポリペプチドをいう。一般に、IL-17様ポリペプチド、フラグメント、改変体、およびそれらの誘導体は、配列番号2または配列番号4のいずれかに示されるようなIL-17様ポリペプチドの特徴的な少なくとも1つの活性を有する。さらに、IL-17様ポリペプチドは、免疫原としての活性を有し得る；すなわち、このIL-17様ポリペプチドは、抗体が惹起され得る少なくとも1つのエピトープを含む。

【0038】

用語「有効量」および「治療有効量」は、本明細書中に示されるIL-17様ポリペプチドの1つ以上の生物学的活性の観察可能なレベルを支持するために使用されるIL-17様ポリペプチドまたはIL-17様核酸分子の量をいう。

【0039】

用語「発現ベクター」は、宿主細胞における使用に適切であり、そして挿入された異種核酸配列の発現を、指示および/または制御する核酸配列を含むベクターをいう。発現としては、転写、翻訳、およびRNAスプライシング（イントロンが存在する場合）のようなプロセスが挙げられるがこれらに限定されない。

【0040】

用語「宿主細胞」は、核酸配列で形質転換されたか、または形質転換され得、次いで目的の選択された遺伝子を発現し得る細胞をいうために使用される。この用語には、選択された遺伝子が存在する限り、子孫が形態学または遺伝子構造において本来の親と同一であろうとなかろうと、親細胞の子孫を含む。

【0041】

用語「同一性」とは、当該分野で公知のように、配列の比較によって決定される、2つ以上のポリペプチド分子または2つ以上の核酸分子の配列間の関係をいう。当該分野において、「同一性」はまた、場合に応じて、2つ以上のヌクレオチド配列または2つ以上のアミノ酸配列間の一致によって決定されるように、核酸分子またはポリペプチド間の配列関連性の程度を意味する。「同一性」は、2

つ以上の配列のうちより小さなものと、特定の数理的モデルまたはコンピュータプログラム（すなわち、「アルゴリズム」）によって位置づけられたギャップアラインメント（存在する場合）との間の同一による一致のパーセントを評価する。

【0042】

用語「類似性」は、概念に関するが、「同一性」とは対照的に、「類似性」は、同一による一致および保存的置換の一致の両方を含む類似点の程度をいう。2つのポリペプチド配列が、例えば10/20個同一のアミノ酸を有し、そして残りが全て非保存的置換である場合、パーセント同一性および類似性は、どちらも50%である。同じ例において、保存的置換が存在するさらに5つの位置が存在する場合、パーセント同一性は50%のままであるが、パーセント類似性は75%（15/20）である。従って、保存的置換が存在する場合、2つのポリペプチド間のパーセント類似性の程度は、これらの2つのポリペプチド間のパーセント同一性よりも高い。

【0043】

用語「単離された核酸分子」とは、（1）総DNAが供給源細胞から単離される場合に、これが天然で一緒に見出されるタンパク質、脂質、炭水化物、または他の物質のうち少なくとも約50パーセントから分離された本発明の核酸分子、（2）「単離された核酸分子」が天然で連結しているポリヌクレオチドの全てまたは一部に連結していない本発明の核酸分子、（3）天然では連結しないポリヌクレオチドに作動可能に連結した本発明の核酸分子、あるいは（4）より大きなポリヌクレオチド配列の一部として、天然には存在しない本発明の核酸分子をいう。好ましくは、本発明の単離された核酸分子は、その天然の環境において見出される任意の他の混入核酸分子または他の混入物（これらは、ポリペプチド産生における使用、または治療的使用、診断的使用、予防的使用、または研究的使用を妨げる）を実質的に含まない。

【0044】

用語「単離されたポリペプチド」とは、（1）供給源細胞から単離される場合に、天然で一緒に見出されるポリヌクレオチド、脂質、炭水化物、または他の物

質の少なくとも約50%から分離された本発明のポリペプチド、(2)「単離されたポリペプチド」が天然で連結するポリペプチドの全てまたは一部に(共有結合的または非共有結合的相互作用によって)連結しない、本発明のポリペプチド、(3)天然には連結しないポリペプチドに(共有結合的または非共有結合的相互作用によって)作動可能に連結する、本発明のポリペプチド、あるいは(4)天然には存在しない本発明のポリペプチドをいう。好ましくは、その天然の環境において見出される少なくとも1つの任意の混入ポリペプチドまたは他の混入物を実質的に含まないことが、好ましい。好ましくは、この単離されたポリペプチドは、その天然の環境において見出される任意の他の混入ポリペプチドまたは他の混入物(これは、その治療的使用、診断的使用、予防的使用、または研究的使用を妨げる)を実質的に含まない。

【0045】

用語「成熟IL-17様ポリペプチド」は、リーダー配列を欠失したIL-17様ポリペプチドをいう。成熟IL-17様ポリペプチドはまた、他の改変(例えば、アミノ末端(リーダー配列を有するかまたは有さない)および/またはカルボキシル末端のタンパク質分解性プロセッシング、より大きな前駆体からのより小さなポリペプチドの切断、N結合型および/またはO結合型グリコシル化など)を含み得る。例示的な成熟IL-17様ポリペプチドは、配列番号3のアミノ酸残基233を介するアミノ酸残基45によって示される。

【0046】

用語「核酸配列」または「核酸分子」は、DNAまたはRNA配列をいう。この用語は、DNAおよびRNAの公知の塩基アナログのいずれかから形成される分子を含み、例えば、以下であるがこれらに限定されない: 4-アセチルシトシン、8-ヒドロキシ-N6-メチルアデノシン、アジリジニル-シトシン、プソイドイソシトシン(pseudoisocytosine)、5-(カルボキシヒドロキシルメチル)ウラシル、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、イノシン、N6-イソ-ペンテニルアデニン、1-メチルアデニン、1-メチルプソイドウラシル、1-メチルグア

ニン、1 - メチルイノシン、2, 2 - ジメチルグアニン、2 - メチルアデニン、2 - メチルグアニン、3 - メチルシトシン、5 - メチルシトシン、N6 - メチルアデニン、7 - メチルグアニン、5 - メチルアミノメチルウラシル、5 - メトキシアミノ - メチル - 2 - チオウラシル、 β - D - マンノシルキューオシン (β - D - mannosylqueosine)、5' - メトキシカルボニル - メチルウラシル、5 - メトキシウラシル、2 - メチルチオ - N6 - イソペンテニルアデニン、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸、オキシブトキソシン (oxybutoxosine)、プソイドウラシル、キューオシン、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、N - ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸、プソイドウラシル、キューオシン、2 - チオシトシン、および 2, 6 - ジアミノプリン。

【0047】

用語「天然に存在する」または「ネイティブの」は、核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞などのような生物学的物質と関連して使用される場合、天然において見出され、そしてヒトによって操作されていない物質をいう。同様に、「天然に存在しない」または「ネイティブではない」は、本明細書中で使用される場合、天然で見出されないか、またはヒトによって構造的に改変もしくは合成された物質をいう。

【0048】

用語「作動可能に連結された」は、本明細書中で、隣接配列の配置をいうために使用され、ここで、このように記載される隣接配列は、その通常の機能を行うように構成または構築される。従って、コード配列に作動可能に連結した隣接配列は、このコード配列の複製、転写および/または翻訳を行うことが可能であり得る。例えば、コード配列は、このプロモーターがコード配列の転写を指示し得る場合に、プロモーターに作動可能に連結されている。隣接配列は、これが正確に機能する限り、コード配列と連続する必要はない。従って、例えば、介在する非翻訳性であるが転写される配列が、プロモーター配列とコード配列との間に存在し得、そしてこのプロモーター配列は、なおこのコード配列に「作動可能に連

結」されているとみなされ得る。

【0049】

用語「天然に存在する」または「ネイティブの」は、核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞などのような生物学的物質と関連して使用される場合、天然において見出され、そしてヒトによって操作されていない物質をいう。同様に、「天然に存在しない」または「ネイティブではない」は、本明細書中で使用される場合、天然で見出されないか、またはヒトによって構造的に改変もしくは合成された物質をいう。

【0050】

用語「薬学的に受容可能なキャリア」または「生理学的に受容可能なキャリア」は、本明細書中で使用される場合、薬学的組成物としてのIL-17様ポリペプチド、IL-17様核酸分子、またはIL-17様選択的結合因子の送達の達成または増強に適切な1つ以上の処方材料をいう。

【0051】

用語「選択的結合因子」とは、IL-17様ポリペプチドに特異性を有する分子（単数または複数）をいう。選択的結合因子としては、抗体（例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体（mAbs）、キメラ抗体、CDR-移植（graft）抗体、可溶性形態または結合形態において標識され得る抗体に対する抗イデオタイプ（抗-Id）抗体）、および公知の技術（酵素的切断、ペプチド合成、または組換え技術を含むが、これらに限定されない）によって提供されるフラグメント、領域、それらの誘導体が挙げられる。本発明の抗IL-17様選択的結合因子は、例えば、IL-17様レセプターに対してIL-17様分子の一部に結合し得る。

【0052】

本明細書中で使用される場合、用語「特異的」および「特異性」とは、選択的結合因子が、ヒトIL-17様ポリペプチドに結合し、かつヒト非IL-17様ポリペプチドに結合しない能力をいう。しかし、選択的結合因子がまた、配列番号2に示されるようなポリペプチドのオルソログ（すなわち、その種間のバージョン（例えば、マウスポリペプチドおよびラットポリペプチド））に結合し得る

ことが、理解される。

【0053】

IL-17様ポリペプチド、フラグメント、改変体、および誘導体は、当該分野に公知の方法を用いてIL-17様選択的結合因子を調製するために使用される。従って、IL-17様ポリペプチドと結合する抗体および抗体フラグメントのような選択的結合因子は、本発明の範囲内である。抗体フラグメントとしては、IL-17様ポリペプチド上のエピトープに結合する抗体のこれらの一部を含む。このようなフラグメントの例としては、全長抗体の酵素学的切断によって作製されたFabおよびF(ab')フラグメントが挙げられる。他の結合フラグメントとしては、組換えDNA技術(例えば、抗体可変領域をコードする核酸配列を含む、組換えプラスミドの発現)によって作製されたフラグメントが挙げられる。

【0054】

用語「形質導入」とは、通常はファージによる1つの細菌から別の細菌への遺伝子の伝達をいうために使用される。「形質導入」はまた、レトロウイルスによる真核生物細胞配列の獲得および伝達をいう。

【0055】

用語「トランスフェクション」は、細胞による異種または外因性DNAの取り込みをいうために使用され、そして細胞は、外因性DNAが細胞膜内に導入された場合には「トランスフェクト」されている。多数のトランスフェクション技術は、当該分野で周知であり、そして本明細書中に開示される。例えば、Grahamら, *Virology* 52:456(1973); Sambrookら, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratories, (New York, 1989); Davisら, *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier, 1986; および Chuら, *Gene* 13:197(1981)を参照のこと。このような技術を使用して、1つ以上の外因性DNA部分を適切な宿主細胞に導入し得る。

【0056】

本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」とは、細胞の遺伝的特徴における変化をいい、そして細胞は、新しいDNAを含有するように改変された場合に形質転換されている。例えば、細胞は、それがそのネイティブな状態から遺伝的に改変される場合に形質転換される。トランスフェクションまたは形質導入に続いて、DNAの形質転換は、物理的に細胞の染色体に組み込むことにより細胞のDNAと組換わり得るか、複製されることなしにエピソームエレメントとして一時的に維持され得るか、またはプラスミドとして独立的に複製し得る。DNAが細胞分裂と共に複製される場合に、細胞は、安定に形質転換されたとみなされる。

【0057】

用語「トランスフェクション」は、細胞による異種または外因性DNAの取り込みをいうために使用され、そして細胞は、外因性DNAが細胞膜内に導入された場合には「トランスフェクト」されている。多数のトランスフェクション技術は、当該分野で周知であり、そして本明細書中に開示される。例えば、Grahamら、*Virology* 52:456(1973); Sambrookら、*Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratories, (New York, 1989); Davisら、*Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier, 1986; および Chuら、*Gene* 13:197(1981)を参照のこと。このような技術を使用して、1つ以上の外因性DNA部分を適切な宿主細胞に導入し得る。

【0058】

用語「形質導入」とは、通常はファージによる1つの細菌から別の細菌への遺伝子の伝達をいうために使用される。「形質導入」はまた、レトロウイルスによる真核生物細胞配列の獲得および伝達をいう。

【0059】

用語「ベクター」は、宿主細胞にコード情報を移すために使用される任意の分子(例えば、核酸、プラスミド、またはウイルス)をいうために使用される。

【0060】

(核酸分子および/またはポリペプチドの関連性)

関連した核酸分子が、配列番号1の核酸分子の対立遺伝子改変体またはスプライス改変体を包含すること、および上記のヌクレオチド配列のいずれかに相補的である配列を包含することが理解される。関連した核酸分子はまた、配列番号2におけるポリペプチドと比較して1以上のアミノ酸残基の置換、改変、付加および/または欠失を含むかまたは本質的にこれからなるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を包含する。

【0061】

フラグメントは、配列番号2のポリペプチドの少なくとも25個のアミノ酸残基、または約50個、または約75個、または約100個、もしくは100個を超える残基のポリペプチドをコードする分子を包含する。

【0062】

さらに、関連したIL-17様核酸分子はまた、本明細書中で定義したとおりの中程度または高度にストリンジェントな条件下で、配列番号1の核酸分子またはポリペプチド(このポリペプチドは、配列番号2に示されるアミノ酸配列または本明細書中に定義したとおりの核酸フラグメントのアミノ酸配列、または本明細書中に定義したとおりのポリペプチドをコードする核酸フラグメントのアミノ酸配列を含む)をコードする分子の完全に相補的な配列とハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む分子を包含する。ハイブリダイゼーションプローブは、本明細書中に提供されるIL-17様配列を用いて調製され、cDNA、ゲノムDNAライブラリーまたは合成DNAライブラリーを関連した配列についてスクリーニングし得る。IL-1ra-LポリペプチドのDNA配列および/またはアミノ酸配列のうちの、既知配列に対して顕著な同一性を示す領域は、本明細書中に記載されるとおりの配列アラインメントを用いて容易に決定され、そしてこれらの領域を用いて、スクリーニングのためのプローブを設計し得る。

【0063】

用語「高度にストリンジェントな条件」とは、配列が非常に相補的であるDNA鎖のハイブリダイゼーションを可能にし、かつ顕著に不一致のDNAのハイブリダイゼーションを排除するように設計された条件をいう。ハイブリダイゼーシ

ヨンのストリンジェンシーは、温度、イオン強度および変性剤（例えば、ホルムアミド）の濃度によって主に決定される。ハイブリダイゼーションおよび洗浄についての「高度にストリンジェントな条件」の例は、65～68 での0.015 M塩化ナトリウム、0.0015 Mクエン酸ナトリウムまたは42 での0.015 M塩化ナトリウム、0.0015 Mクエン酸ナトリウムおよび50%ホルムアミドである。Sambrook, FritschおよびManiatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory, (Cold Spring Harbor, N.Y. 1989); Andersonら, Nucleic Acid Hybridisation: a practical approach, 第4章, IRL Press Limited (Oxford, England) を参照のこと。

【0064】

よりストリンジェントな条件（例えば、より高い温度、より低いイオン強度、より高いホルムアミドまたは他の変性剤）もまた用いられ得るが、ハイブリダイゼーションの速度が影響される。他の薬剤は、非特異的および/またはバックグラウンドのハイブリダイゼーションを減少させる目的のために、ハイブリダイゼーションおよび洗浄の緩衝液中に含まれ得る。例は、0.1%ウシ血清アルブミン、0.1%ポリビニルピロリドン、0.1%ピロリン酸ナトリウム、0.1%ドデシル硫酸ナトリウム (NaDodSO_4 または SDS)、ficoll、デンハルト溶液、超音波処理サケ精子DNA（または他の非相補的DNA）および硫酸デキストランであるが、他の適切な薬剤もまた用いられ得る。これらの添加剤の濃度および種類は、ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーに実質的に影響を与えることなく変更され得る。ハイブリダイゼーション実験は通常、pH 6.8～7.4で実施されるが、代表的なイオン強度の条件では、ハイブリダイゼーションの速度は、pHからほぼ独立する。Andersonら, Nucleic Acid Hybridisation: A Practical Approach, 第4章, IRL Press Limited (Oxford, England) を参照のこと。

【0065】

DNA二重鎖の安定性に影響を与える因子としては、塩基組成、長さおよび塩基対の不一致程度が挙げられる。ハイブリダイゼーション条件は、これらの変動要因を適応させ、そして異なる配列関連性のDNAがハイブリッドを形成するのを可能にするために当業者によって調整され得る。完全に一致したDNA二重鎖の融解温度は、以下の方程式によって推定され得る：

$$T_m(\text{ }) = 81.5 + 16.6(\log[\text{Na}^+]) + 0.41(G + C\%) - 600/N - 0.72(\% \text{ホルムアミド})$$

ここで、Nは、形成される二重鎖の長さであり、 $[\text{Na}^+]$ は、ハイブリダイゼーション溶液または洗浄溶液中でのナトリウムイオンのモル濃度であり、G + C%は、ハイブリッド中での(グアニン + シトシン)塩基の百分率である。不完全に一致したハイブリッドについては、融解温度は、1%の不一致毎に約1℃下げられる。

【0066】

用語「中程度にストリンジェントな条件」とは、「高度にストリンジェントな条件」下で生じ得るよりも高い程度の塩基対不一致を有するDNA二重鎖が形成され得る条件をいう。代表的な「中程度にストリンジェントな条件」の例は、50～65℃での0.015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウムまたは37～50℃での0.015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウムおよび20%ホルムアミドである。例示として、0.015Mナトリウムイオン中での50℃という「中程度にストリンジェントな」条件は、約21%の不一致を可能にする。

【0067】

「高度に」と「中程度」にストリンジェントな条件との間に絶対的な区別が存在しないことが当業者によって認識される。例えば、0.015Mナトリウムイオン(ホルムアミドなし)では、完全に一致した長さのDNAの融解温度は、約71℃である。65℃で(同じイオン強度で)の洗浄を用いると、約6%の不一致が可能になる。より関連性の遠い配列を捕獲するために、当業者は、単純に、温度を低くし得るかまたはイオン強度を高くし得る。

【0068】

約20ntまでのオリゴヌクレオチドプローブについての1M NaCl*中での融解温度の良好な評価は、以下によって与えられる：

$$T_m = A - T \text{塩基対あたり} 2 + G - C \text{塩基対あたり} 4$$

*6×クエン酸ナトリウム塩(SSC)中でのナトリウムイオン濃度は、1Mである。Suggsら, *Developmental Biology Using Purified Genes* 683頁(BrownおよびFox編, 1981)を参照のこと。

【0069】

オリゴヌクレオチドについての高度ストリンジェンシー洗浄条件は通常、6×SSC、0.1% SDS中でのそのオリゴヌクレオチドの T_m よりも0~5低い温度においてである。

【0070】

別の実施形態では、関連した核酸分子は、配列番号1に示されるとおりのヌクレオチド配列に対して約70パーセント同一であるヌクレオチド配列を含むかもしくはこれからなるか、または配列番号2に示すとおりのポリペプチドに対して約70パーセント同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むかもしくは本質的にこれからなる。好ましい実施形態では、ヌクレオチド配列は、配列番号1に示されるとおりのヌクレオチド配列に対して約75パーセント、もしくは約80パーセント、もしくは約85パーセント、もしくは約90パーセント、もしくは約95、96、97、98、もしくは99パーセント同一であるか、またはヌクレオチド配列は、配列番号2に示されるとおりのポリペプチド配列に対して約75パーセント、もしくは約80パーセント、もしくは約85パーセント、もしくは約90パーセント、もしくは約95、96、97、98、もしくは99パーセント同一であるポリペプチドをコードする。関連した核酸分子は、配列番号2に示されるポリペプチドの少なくとも1つの活性を保有するポリペプチドをコードする。

【0071】

核酸配列における相違は、配列番号2のアミノ酸配列に関連するアミノ酸配列

の保存的および/または非保存的改変をもたらし得る。

【0072】

配列番号2のアミノ酸配列に対する保存的改変(およびコードするヌクレオチドに対応する改変)は、天然に存在するIL-17様ポリペプチドの機能的特徴および化学的特徴と類似の機能的特徴および化学的特徴を有するIL-17様ポリペプチドを生じる。対照的に、IL-17様ポリペプチドの機能的特徴および/または化学的特徴における実質的な改変は、以下を維持することに対するその影響が顕著に異なる、配列番号2のアミノ酸配列における置換を選択することによって達成され得る:(a)例えば、シートもしくはヘリックスコンホメーションのような、置換領域における分子骨格の構造、(b)標的部位での分子の電荷もしくは疎水性、または(c)側鎖のバルク。

【0073】

例えば、「保存的アミノ酸置換」は、その位置でのアミノ酸残基の極性にも電荷にもほとんどまたは全く影響がないような、ネイティブでない残基によるネイティブなアミノ酸残基の置換に関連し得る。さらに、ポリペプチド中の任意のネイティブな残基はまた、「アラニンスキャニング変異誘発」について以前に記載されたように、アラニンによって置換され得る。

【0074】

所望されるアミノ酸置換(保存的であっても非保存的であっても)は、このような置換が所望される場合に当業者によって決定され得る。例えば、アミノ酸置換を使用して、IL-17様ポリペプチドの重要な残基を同定し得るか、もしくは本明細書中で記載されるIL-17様ポリペプチドの親和性を増加または減少させ得る。

【0075】

例示的なアミノ酸置換を表1に示す。

(表1:アミノ酸置換)

【0076】

【表1】

最初の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu	ノルロイシン, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4ジアミノ酸, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu

保存的アミノ酸置換はまた、生物学的系における合成によるよりむしろ、化学的なペプチド合成によって代表的に組み込まれる、天然には存在しないアミノ酸残基を含む。これらとしては、ペプチド模倣物、およびアミノ酸部分の他の逆転形態または反転形態が挙げられる。本明細書中に記載される核酸分子およびポリペプチド分子は、化学的に合成され得、そして組換え手段によって産生され得ることが、当業者によって理解される。

【0077】

天然に存在する残基は、共通の側鎖特性に基づいて、複数のクラスに分割され得る：

- 1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- 2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

- 3) 酸性: Asp、Glu;
- 4) 塩基性: His、Lys、Arg;
- 5) 鎖の配向に影響を与える残基: Gly、Pro; および、
- 6) 芳香族: Trp、Tyr、Phe。

【0078】

例えば、非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーの、別のクラス由来のメンバーへの交換に関連し得る。このような置換された残基は、非ヒトIL-17様ポリペプチドオルソログと相同なヒトIL-17様ポリペプチドの領域またはこの分子の非相同な領域に導入され得る。

【0079】

このような変化を行う際に、アミノ酸の疎水性親水性指標が考慮され得る。各アミノ酸は、その疎水性および電荷特性に基づいて、疎水性親水性指標を割り当てられている。疎水性親水性指標は、以下である: イソロイシン (+4.5); バリン (+4.2); ロイシン (+3.8); フェニルアラニン (+2.8); システイン/シスチン (+2.5); メチオニン (+1.9); アラニン (+1.8); グリシン (-0.4); スレオニン (-0.7); セリン (-0.8); トリプトファン (-0.9); チロシン (-1.3); プロリン (-1.6); ヒスチジン (-3.2); グルタミン酸 (-3.5); グルタミン (-3.5); アスパラギン酸 (-3.5); アスパラギン (-3.5); リジン (-3.9); およびアルギニン (-4.5)。

【0080】

タンパク質に対する相互作用的な生物学的機能を確認する際の、疎水性親水性アミノ酸指数の重要性は、当該分野において理解されている。Kyteら、*J. Mol. Biol.*, 157: 105-131 (1982)。特定のアミノ酸が類似の疎水性親水性指標またはスコアを有する他のアミノ酸と置換され得、そしてなお類似の生物学的活性を維持し得ることが、公知である。疎水性親水性指標に基づいて変化を起こす際に、疎水性親水性指標が ± 2 以内であるアミノ酸の置換が好ましく、 ± 1 以内であるものが特に好ましく、そして ± 0.5 以内であるものが、なおより特に好ましい。

【0081】

類似のアミノ酸の置換が親水性に基づいて効果的になされ得る（特に、これによって作製された生物学的機能的に等価なタンパク質またはペプチドが、この場合においてと同様に、免疫学的実施形態における使用に関して意図される場合）こともまた、当該分野において理解されている。タンパク質の最も大きな局所的平均親水性は、その隣接するアミノ酸の親水性によって支配される場合に、その免疫原性および抗原性、すなわち、そのタンパク質の生物学的特性に相関する。

【0082】

以下の親水性の値が、以下のアミノ酸残基に割り当てられた：アルギニン（+3.0）；リジン（+3.0）；アスパラギン酸（+3.0 ± 1）；グルタミン酸（+3.0 ± 1）；セリン（+0.3）；アスパラギン（+0.2）；グルタミン（+0.2）；グリシン（0）；スレオニン（-0.4）；プロリン（-0.5 ± 1）；アラニン（-0.5）；ヒスチジン（-0.5）；システイン（-1.0）；メチオニン（-1.3）；バリン（-1.5）；ロイシン（-1.8）；イソロイシン（-1.8）；チロシン（-2.3）；フェニルアラニン（-2.5）；トリプトファン（-3.4）。類似の親水性の値に基づいて変化を行う際に、親水性値が ± 2 以内であるアミノ酸の置換が好ましく、± 1 以内であるものが特に好ましく、そして ± 0.5 以内であるものが、なおより特に好ましい。一次アミノ酸配列から、エピトープをまた、親水性に基づいて同定し得る。これらの領域はまた、「エピトープコア領域」と呼ばれる。

【0083】

当業者は、配列番号2に示されるようなポリペプチドの適切な改変体を、周知の技術を使用して、決定し得る。生物学的活性を破壊することなく変化され得る分子の適切な領域を同定し得る。また、当業者は、生物学的活性または構造のために重要であり得る領域でさえ、生物学的活性を破壊することなく、またはポリペプチド構造に不利に影響を与えることなく、保存的アミノ酸置換に供され得ることを理解する。

【0084】

例えば、同じ種由来かまたは他の種由来の、類似の活性を有する類似のポリペ

プチドが既知である場合には、当業者は、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列を、このような類似のポリペプチドと比較し得る。このような比較を用いて、類似のポリペプチド間で保存される分子の残基および部分を同定し得る。このような類似のポリペプチドに対して保存されていない、IL-17様ポリペプチドの領域における変化が、IL-17様ポリペプチドの生物学的活性および/または構造にさほど不利な影響を与えないようであることが、理解される。当業者にはまた、比較的保存された領域においてさえ、化学的に類似のアミノ酸で、活性を維持しながら、天然に存在する残基で置換し得ることが公知である（保存的アミノ酸残基置換）。従って、生物学的活性または構造のために重要であり得る領域でさえ、生物学的活性を破壊することなく、またはポリペプチド構造に不利な影響を与えることなく、保存的アミノ酸置換に供される。

【0085】

活性を破壊することなく変化され得る分子の適切な領域を予測するために、当業者は、活性に重要ではないと考えられる領域を標的化し得る。例えば、同一の種由来であるかまたは他の種由来である類似の活性を有する類似のポリペプチドが既知である場合、当業者は、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列とこのような類似のポリペプチドとを比較し得る。このような比較の後に、当業者は、類似のポリペプチド間で保存される分子の残基および部分を決定し得る。当業者には、保存されていないIL-17様分子の領域は、IL-17様ポリペプチドの生物学的活性および/または構造にさほど不利な影響を与えないようであることが公知である。当業者にはまた、比較的保存された領域においてさえ、化学的に類似のアミノ酸で、活性を維持しながら、天然に存在する残基で置換し得ることが公知である（保存的アミノ酸残基置換）。

【0086】

さらに、当業者は、活性または構造のために重要である、類似のポリペプチドにおける残基を同定する、構造-機能研究を再調査し得る。このような比較の観点において、類似のポリペプチドにおける活性または構造のために重要なアミノ酸残基に対応するIL-17様ポリペプチドにおけるアミノ酸残基の重要性を予測し得る。当業者は、IL-17様ポリペプチドのこのような予測された重要な

アミノ酸残基で化学的に類似のアミノ酸置換を、選択し得る。

【0087】

当業者はまた、類似のポリペプチドにおける三次元構造およびその構造に関連するアミノ酸配列を分析し得る。この情報の観点において、当業者は、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸残基のアライメントを、その三次元構造に関して予測し得る。当業者は、そのタンパク質の表面上に存在すると予測されるアミノ酸残基に対して極端な変化を起こさないように、選択し得る。なぜなら、このような残基は、他の分子との重要な相互作用に関与し得るからである。さらに、当業者は、単一のアミノ酸置換を各所望のアミノ酸残基に含む試験改変体を生成し得る。これらの改変体は、次いで、当業者に公知の活性アッセイを使用して、スクリーニングされ得る。このような改変体は、適切な改変体に関する情報を集めるために使用され得る。例えば、特定のアミノ酸残基に対する変化が、破壊された活性、望ましくなく減少した活性、または適切でない活性を生じたことを発見した場合には、このような変化を有する改変体は、回避される。換言すれば、このような慣用的な実験から集めた情報に基づいて、当業者は、さらなる置換が、単独でかまたは他の変異と組み合わせてかのいずれかで回避されるべきであるアミノ酸を、容易に決定し得る。

【0088】

多数の科学刊行物が、アミノ酸配列分析からの二次構造の推定およびエピトープの同定に充てられてきた。Chouら、Biochemistry 13(2):222-245(1974); Chouら、Biochemistry 113(1974), :211-222(1974); Chouら、Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 47:45-148(1978); Chouら、Ann. Rev. Biochem. 47:251-276およびChouら、1979, Biophys. J., 26:367-384(1979)を参照のこと。さらに、コンピュータプログラムが、タンパク質の免疫原部分およびエピトープコア領域の推定を補助するために、現在利用可能である。例として、Jameson-Wolf解析 (Jamesonら、Comput. Appl. Biosci., 4(1):181-186(1998)およ

びWolfら、Comput. Appl. Biosci., 4(1):187-191(1988))に基づくプログラム、プログラムPepPlot(登録商標)(Brutlagら、CABS, 6:237-245(1990)、およびWeinbergerら、Science, 228:740-742(1985))およびタンパク質の三次構造を予測するための他の新しいプログラム(Fetrowら、Biotechnology, 11:479-483(1993))が挙げられる。

【0089】

さらに、コンピュータプログラムは、二次構造の推定を補助するために現在利用可能である。二次構造を推定する1つの方法は、相同性モデリングに基づく。例えば、30%を超える配列同一性、または40%を超える類似性を有する2つのポリペプチドまたはタンパク質は、しばしば類似の構造的位相幾何学を有する。タンパク質構造データベースの最近の成長は、ポリペプチドの構造またはタンパク質の構造内で折り畳みの数の可能性を含む二次構造の強化された予測可能性を提供している。Holmら、Nucl. Acid. Res., 27(1):244-247(1999)を参照のこと。このことは、所定のポリペプチドまたはタンパク質における制限された折り畳みの数が存在し、そして一旦構造の臨界数が解析されると、構造的な推測は、正確性において劇的に正確になる。

【0090】

二次構造を推定するさらなる方法は、「スレッディング(threading)」(Jones, D., Curr. Opin. Struct. Biol. 7(3):377-87(1997); Sipplら、Structure 4(1):15-9(1996))、「プロフィール分析」(Bowieら、Science, 253:164-170(1991); Gribskovら、Meth. Enzymol., 183:146-59(1990); Gribskovら、Proc. Nat. Acad. Sci. 84(13):4355-4358(1987))、および「進化学的連鎖(evolutionary linkage)」(Holmら、前出(1999)、およびBrennerら、前出を参照のこと)を包含する。

【0091】

本発明のIL-17様ポリペプチドアナログは、IL17様ポリペプチドのアミノ酸配列と関連するファミリーのメンバーを比較することによって決定され得る。例示的なIL-17様ポリペプチド関連ファミリーのメンバーは、ヒトIL-17ポリペプチドである。この比較は、Pileup alignment (Wisconsin GCG Program Package) または保存的および非保存的領域内の複数のファミリーメンバーとの等価 (オーバーラッピング) 比較によって達成され得る。

【0092】

図3に示されるように、ヒトIL-17様ポリペプチド (これは、配列番号2のアミノ酸5~227を示す) の推定アミノ酸配列は、公知のヒトIL-17ファミリーメンバー (配列番号4) と配列される。他のIL-17様ポリペプチドアナログは、当業者に公知のこれらの方法または他の方法を使用して決定され得る。これらのオーバーラッピング配列は、さらなるIL-17様アナログを生じる保存的および非保存的アミノ酸置換についての指針を提供する。これらのアミノ酸置換が、天然に存在するアミノ酸または天然に存在しないアミノ酸から構成され得ることが理解される。例えば、図3に示されうように、関連するファミリーメンバーの配列は、潜在的なIL-17様アナログが、ノルロイシン、Ile、Val、Met、AlaまたはPhe残基で置換された配列番号2の47位 (図3の42位) のLeu残基、Asp残基で置換された配列番号2の110位 (図2の106位) のGlu残基、および/またはTrp、Phe、Thr、またはSer残基で置換された配列番号2の141位 (図3の137位) のTyr残基を有することを示す。さらに、潜在的なIL-17様アナログが、AlaまたはGly残基で置換された配列番号2の151位 (図3の147位) のPro残基、SerまたはAla残基で置換された配列番号2の159位 (図3の155位) のCys残基、SerまたはAla残基で置換された配列番号2の161位 (図3の157位) のCys残基、SerまたはAla残基で置換された配列番号2の164位 (図3の160位) のCys残基、SerまたはAla残基で置換された配列番号2の193位 (図3の189位) のCys残基、Serまたは

A l a残基で置換された配列番号2の219位(図3の216位)のC y s残基、および/またはS e rまたはA l a残基で置換された配列番号2の221位(図3の213位)のC y s残基を有し得る。

【0093】

好ましい実施形態において、改変体は、1~3、または1~5、または1~10、または1~15、または1~20、または1~25、または1~50、または1~75、または1~100、または100を超えるアミノ酸置換、挿入、付加、および/または欠失を有し、ここでこの置換は、本明細書中に記載したように保存的もしくは非保存的またはこれらの任意の組み合わせであり得る。さらに、改変体は、カルボキシ末端またはアミノ末端のいずれかにアミノ酸残基の付加(リーダー配列を伴うかまたは伴わずに)を有し得る。

【0094】

好ましいI L - 17様ポリペプチド改変体としては、グリコシル化部位の数および/または型がネイティブなI L - 17様ポリペプチドと比較して変化している、グリコシル化改変体が挙げられる。1つの実施形態において、I L - 17様ポリペプチド改変体は、より多いかまたはより少ない数のN結合型グリコシル化部位を含む。N結合型グリコシル化部位は、配列：A s n - X - S e rまたはA s n - X - T h rによって特徴付けられ、ここで、Xと印されるアミノ酸残基は、プロリン以外の任意のアミノ酸残基であり得る。この配列を作製するためのアミノ酸残基の置換は、N結合型糖鎖の付加のための潜在的に新たな部位を提供する。あるいは、この配列を排除する置換は、存在するN結合型糖鎖を除去する。1つ以上のN結合型グリコシル化部位(代表的に、天然に存在するグリコシル化部位)が排除され、そして1つ以上の新たなN結合部位が作製される、N結合型糖鎖の再配列もまた、提供される。さらなる好ましいI L - 17様改変体としては、1つ以上のシステイン残基が、別のアミノ酸配列から欠失しているか、または別のアミノ酸(例えば、セリン)で置換されている、システイン改変体が挙げられる。システイン改変体は、I L - 17様ポリペプチドが、例えば不溶性の封入体の単離の後に、生物学的に活性な立体構造へとリフォールディングされなければならない場合に、有用である。システイン改変体は、一般に、ネイティブタ

ンパク質より少ないシステイン残基を有し、そして代表的には偶数のシステイン残基を有し、対合していないシステインから生じる相互作用を最小にする。

【0095】

さらに、配列番号2、あるいは他のIL-17様ポリペプチド改変体のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、同種ポリペプチドに融合してホモダイマーを形成し得るか、あるいは異種ポリペプチドに融合してヘテロダイマーを形成し得る。異種のペプチドおよびポリペプチドとしては、以下が挙げられるが、それらに限定されない：IL-17様融合ポリペプチドの検出および/または単離を可能にするエピトープ；膜貫通レセプタータンパク質またはその部分（例えば、細胞外ドメインまたは膜貫通ドメインおよび細胞内ドメイン）；膜貫通レセプタータンパク質に結合する、リガンドまたはその部分；触媒的に活性である、酵素またはその部分；オリゴマー化を促進するポリペプチドまたはペプチド（例えば、ロイシンジッパードメイン）；安定性を増加させるポリペプチドまたはペプチド（例えば、免疫グロブリン定常領域）；IL-17様ポリペプチドとは異なる治療活性を有する、ポリペプチド。さらに、IL-17様ポリペプチドは、それ自身に融合し得るか、またはフラグメント、改変体もしくはそれらの誘導体に融合し得る。

【0096】

融合は、IL-17様ポリペプチドの、アミノ末端またはカルボキシル末端のいずれかにおいて、なされ得る。融合は、リンカーもしくはアダプター分子を用いずに直接であってもよいし、リンカーもしくはアダプター分子（例えば、約20個のアミノ酸残基まで、または約50個のアミノ酸残基までの1以上のアミノ酸残基）を介してであってもよい。リンカーまたはアダプター分子はまた、DNA制限エンドヌクレアーゼまたはプロテアーゼについての切断部位を有して設計されて、融合した部分の分離を可能にし得る。一旦構築されると、この融合ポリペプチドは、本明細書中に記載の方法に従って誘導体化され得ることが、理解される。

【0097】

本発明のさらなる実施形態において、フラグメント、改変体、および/または

誘導体を含むIL-17様ポリペプチド改変体は、ヒトIgGのFc領域の1つ以上のドメインに融合される。抗体は、以下の2つの機能的に独立した部分を含む。この独立した部分は、抗原を結合する「Fab」として公知の変域ドメイン、ならびに補体活性化および食細胞による攻撃のようなエフェクター機能に関する、「Fc」として公知の定常ドメインである。Fcは、長い血清半減期を有し、一方でFabは、短寿命である。Caponら、Nature 337:525-31(1989)。治療タンパク質と一緒に構築される場合には、Fcドメインは、より長い半減期を提供し得るか、またはFcレセプター結合、プロテインA結合、補体固定、および恐らく、さらに胎盤移入のような機能を組み込み得る。同書。表IIは、当該分野において公知の特定のFc融合物の使用を要約する(融合されたIL-17様ポリペプチドの産生に適用可能な材料および方法を含む)。

【0098】

【表2】

治療的タンパク質とのFc融合

Fcの形態	融合レセプター	治療との関係	参考文献
IgG1	CD30-LのN-末端	ホジキン病; 未分化リンパ腫; T細胞リンパ腫	米国特許第5,480,981号
マウス Fcγ2a	IL-10	抗炎症; 移植拒絶	Zheng ら (1995), J. Immunol., 154: 5590-5600
IgG1	TNFレセプター	敗血症性ショック	Fisher ら (1996), N. Engl. J. Med., 334: 1697-1702; Van Zee ら (1996), J. Immunol., 156: 2221-2230
IgG, IgA, IgM, およびIgE (第1ドメインを 排除する)	TNFレセプター	炎症; 自己免疫障害	米国特許第5,808,029号 (1998年9月15日発行)
IgG1	CD4レセプター	AIDS	Capon ら (1989), Nature 337: 525-531
IgG1, IgG3	IL-2のN-末端	抗癌, 抗ウイルス	Harvill ら (1995), Immunotech., 1: 95-105
IgG1	OPGのC-末端	変形性関節症 骨密度	WO 97/23614 (1997年7月3日公開)
IgG1	レゾチンのN-末端	抗肥満症	PCT/US 97/23183, (1997年12月11日出願)
ヒト IgGγ1	CTLA-4	自己免疫障害	Linsley (1991), J. Exp. Med., 174: 561-569

一例において、ヒトIgGのヒンジ領域、CH₂領域、およびCH₃領域のすべてまたは一部は、当業者に公知の方法を使用して、IL-17様ポリペプチドのN末端またはC末端のいずれかで、融合され得る。別の例において、ヒンジ領域ならびにCH₂領域およびCH₃領域は、融合され得る。得られるIL-17様ポリペプチドFc融合ポリペプチドは、プロテインAアフィニティーカラムの使用によって、精製され得る。Fc領域に融合したペプチドおよびタンパク質は、融合していない対応物より実質的に長いインビボでの半減期を示すことが見出された。また、Fc領域への融合は、融合ポリペプチドの二量化/多量体化を可能にする。Fc領域は、天然に存在するFc領域であり得るか、または治療の質、循環時間、もしくは減少した凝集などのような、特定の質を改善するよう変更され得る。

【0099】

関連する核酸分子およびポリペプチドの同一性および類似性は、公知の方法によって容易に計算され得る。このような方法としては、Computational Molecular Biology、Lesk A.M.編、Oxford University Press、1988；Biocomputing：Informatics and Genome Projects、Smith, D.W.編、Academic Press、New York、1993；Computer Analysis of Sequence Data、Part 1、Griffin A.M.およびGriffin H.G.編、Humana Press、New Jersey、1994；Heinle, Sequence Analysis in Molecular Biology、von Heinje, G., Academic Press、1987；Sequence Analysis Primer、Gribnikov, M.およびDevereux, J.編、M. Stockton Press、New York、1991；ならびにCarilloら、SIAM J. Applied Math., 48:1073(1988)に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0100】

同一性および/または類似性を決定するための好ましい方法は、試験される配列間での最大の適合を与えるように、設計される。同一性および類似性を決定するための方法は、公に利用可能なコンピュータプログラムにおいて記載されている。2つの配列間の同一性および類似性を決定するための、好ましいコンピュータプログラム方法としては、GCGプログラムパッケージ(GAP(Devereuxら、Nucl. Acid. Res. 12:387(1984); Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI)、BLASTP、BLASTN、およびFASTA(Altschulら、J. Mol. Biol., 215:403-10(1990))を含む)が挙げられるが、これらに限定されない。BLASTXプログラムは、National Center for Biotechnology Information(NCBI)および他の供給源(BLAST Manual, Altschulら、(NCB/NLM/NIH Bethesda, MD 20894); Altschulら、1990、前出)から公に利用可能である。周知のSmith Watermanアルゴリズムもまた、同一性を決定するために使用され得る。

【0101】

2つのアミノ酸配列を整列させるための特定の整列スキームは、これら2つの配列の短い領域のみの適合を生じ得、そしてこの小さな整列領域は、2つの全長配列間に有意な関連がない場合でさえも、非常に高い配列同一性を有し得る。従って、好ましい実施形態において、選択された整列方法(GAPプログラム)は、標的ポリペプチドの少なくとも50個連続するアミノ酸にわたる整列を生じる。

【0102】

例えば、コンピュータアルゴリズムGAP(Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI)を使用して、配列同一性パーセントが決定されるべき2つのポリペプチドが、それらのそれぞれのアミノ酸の最適な適合(アルゴリズムによって決定される「適合したスパン」)のために、整列される。ギャップオープン

グペナルティー (gap opening penalty) (これは、平均対角の3倍として計算される: 「平均対角」とは、使用される比較行列 (comparison matrix) の対角の平均である; 「対角」とは、特定の比較行列によって各完全なアミノ酸適合に対して割り当てられたスコアまたは数である) およびギャップエクステンションペナルティー (gap extension penalty) (これは通常、ギャップオープニングペナルティーの0.1倍である)、ならびにPAM 250またはBLOSUM 62のような比較行列が、このアルゴリズムと組み合わせて使用される。標準的な比較行列もまた、このアルゴリズムによって使用される (Dayhoffら、Atlas of Protein Sequence and Structure、第5巻、補遺3 (1978) (PAM250比較行列について); Henikoffら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:10915-10919 (1992) (BLOSUM 62比較行列について) を参照のこと)。

【0103】

ポリペプチド配列比較のための好ましいパラメータは、以下を含む:

アルゴリズム (Algorithm): Needlemanら、1970, J. Mol. Biol. 48:443-453;

比較行列 (Comparison matrix): BLOSUM 62 (Henikoffら、1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:10915-10919);

ギャップペナルティー (Gap Penalty): 12

ギャップ長ペナルティ (Gap Length Penalty): 4

類似性の開始 (Threshold of Similarity): 0

このGAPプログラムは、上記パラメータを用いて有用である。上記パラメータは、GAPアルゴリズムを用いるポリペプチド比較 (末端ギャップに対してはペナルティがないこととともに) のためのデフォルトパラメータである。

【0104】

核酸分子配列比較のための好ましいパラメータは、以下を含む:

アルゴリズム (Algorithm): Needlemanら、1970, J

. Mol. Biol. 48: 443 - 453 ;

比較行列 (Comparison matrix) : マッチ (matches) = + 1 0 , ミスマッチ (mismatch) = 0

ギャップペナルティ (Gap Penalty) : 5 0

ギャップ長ペナルティ (Gap Length Penalty) : 3

このGAPプログラムはまた、上記パラメータを用いて有用である。上記パラメータは、核酸分子比較のためのデフォルトパラメータである。

【 0 1 0 5 】

Program Manual , Wisconsin Package , Version 9 , September , 1997に記載されるものを含む、他の例示的なアルゴリズム、ギャップ開始ペナルティ (gap opening penalty)、ギャップ伸長ペナルティ (gap extension penalty)、比較行列および類似性の開始などが当業者によって使用され得る。なされるべき特定の選択は、当業者に明らかであり、そしてなされるべき特定の比較 (例えば、DNA対DNA、タンパク質対タンパク質、タンパク質対DNA) ; ならびにさらに、その比較が所定の対の配列間 (この場合には、GAPまたはBest Fitが一般的に好ましい) であるか、1つの配列と大きなデータベースの配列との間 (この場合には、FASTAまたはBLASTAが好ましい) であるかに依存する。

【 0 1 0 6 】

(合成)

本明細書中に記載される核酸およびポリペプチド分子は、組換えおよび他の手段によって産生され得ることは、当業者によって理解される。

【 0 1 0 7 】

(核酸分子)

IL - 17様ポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする核酸分子は、種々の様式 (化学合成、cDNAもしくはゲノムのライブラリーのスクリーニング、発現ライブラリースクリーニング、および/またはcDNAのPCR増幅が挙げられるが、これらに限定されない) で容易に得られ得る。

【0108】

本明細書中において使用される組換えDNA法は、一般に、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989、および/またはAusubelら編、Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishers Inc. およびWiley and Sons, NY 1994)に記載されている。本発明は、本明細書中に記載され得るような核酸分子、およびこのような分子を得るための方法を提供する。

【0109】

IL-17様ポリペプチドまたはそのフラグメントをコードする遺伝子またはcDNAは、ゲノムライブラリーまたはcDNAライブラリーのスクリーニングをハイブリダイゼーションすることによってか、あるいはPCR増幅によって得られ得る。IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする遺伝子が1つの種から同定された場合には、この遺伝子の全てまたは一部は、他の種(オーソログ)由来の対応する遺伝子または関連する遺伝子を同定するためのプローブとして使用され得る。このプローブまたはプライマーを使用して、IL-17様ポリペプチドを発現すると考えられる種々の組織供給源由来のcDNAをスクリーニングし得る。さらに、配列番号1に示されるような配列を有する核酸分子の部分または全てを使用して、ゲノムライブラリーをスクリーニングし、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする遺伝子を同定および単離し得る。代表的に、中程度または高いストリンジェンシーの条件が、スクリーニングのために使用されて、このスクリーニングから得られた誤った陽性の数を最小にする。

【0110】

IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子もまた、発現されたタンパク質の特性に基づいて陽性クローンの検出を使用する発現クローニングによって、同定され得る。代表的に、核酸ライブラリーは、抗体または他の結合パートナー(例えば、レセプターまたはリガンド)を、宿主細胞表面におい

て発現および提示されるクローンタンパク質に結合させることによって、スクリーニングされる。この抗体または結合パートナーは、所望のクローンを発現するこれらの細胞を同定するために、検出可能な標識で改変される。

【0111】

以下に記載される説明に従って実施される組換え発現技術に従って、これらのポリヌクレオチドを産生し得、そしてコードされたポリペプチドを発現し得る。例えば、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸配列を適切なベクターに挿入することによって、当業者は、多量の所望のヌクレオチド配列を容易に生成し得る。次いで、これらの配列を使用して、検出プローブまたは増幅プライマーを生成し得る。あるいは、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを、発現ベクターに挿入し得る。発現ベクターを適切な宿主に導入することによって、コードされたIL-17様ポリペプチドが、多量に生成され得る。

【0112】

適切な核酸配列を得るための別の方法は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)である。この方法において、cDNAは、酵素逆転写酵素を使用して、ポリ(A)+RNAまたは全RNAから調製される。次いで、2つのプライマー(代表的には、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードするcDNA(オリゴヌクレオチド)の2つの別個の領域に対して相補的である)が、Taqポリメラーゼのようなポリメラーゼを用いてこのcDNAに付加され、そしてこのポリメラーゼが、これら2つのプライマー間のcDNA領域を増幅する。

【0113】

IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子(フラグメントまたは改変体を含む)を調製する別の手段は、Engelsら、1989, *Angew. Chem. Intl.* 編. 28: 716-734によって記載されるもののような、当業者に周知の方法を使用する、化学合成である。これらの方法としては、とりわけ、核酸合成のためのリン酸トリエステル、ホスホルアミダイト、およびH-ホスホネート方法が挙げられる。このような化学合成のために好ましい方法は、標準的なホスホルアミダイト化学を使用する、ポリマーにより支

持される合成である。代表的に、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードするDNAは、数百ヌクレオチド長である。約100ヌクレオチドより長い核酸は、これらの方法を使用して、いくつかのフラグメントとして合成され得る。次いで、これらのフラグメントと一緒に連結されて、IL-17様ポリペプチドの全長ヌクレオチド配列を形成し得る。通常、このポリペプチドのアミノ末端をコードするDNAフラグメントは、ATGを有し、これは、メチオニン残基をコードする。このメチオニンは、宿主細胞において産生されたポリペプチドがその細胞から分泌されるよう設計されるか否かに依存して、IL-17様ポリペプチドの成熟形態で存在してもよいし、そうでなくてもよい。当業者に公知の他の方法が、同様に使用され得る。

【0114】

いくつかの場合において、IL-17様ポリペプチド改変体をコードする核酸分子を調製することが所望であり得る。改変体をコードする核酸分子は、プライマーが所望の点変異を有する、部位特異的変異誘発、PCR増幅、または他の適切な方法を使用して生成し得る（変異誘発技術の記載に関しては、Sambrookら、前出、およびAusubelら、前出を参照のこと）。Engelsら、前出によって記載される方法を使用する化学合成もまた、このような改変体を調製するために使用され得る。当業者に公知の他の方法が、同様に使用され得る。

【0115】

特定の実施形態において、核酸改変体は、所定の宿主細胞におけるIL-17様ポリペプチドの最適な発現のために変更されたコドンを含む。特定のコドン変更は、発現のために選択されるIL-17様ポリペプチドおよび宿主細胞に依存する。このような「コドン最適化」は、種々の方法によって（例えば、所定の宿主細胞において高度に発現される遺伝子における使用に好ましいコドンを選択することによって）実施され得る。高度に発現された細菌遺伝子のコドン優先性のための「Eco_high.cod」のようなコドン度数表を組み込むコンピュータアルゴリズムが使用され得、そしてUniversity of Wisconsin Package Version 9.0 (Genetics C

omputer Group, Madison, WI)によって提供される。他の有用なコドン度数表としては、「Celegans_high.cod」、「Celegans_low.cod」、「Drosophila_high.cod」、「Human_high.cod」、「Maize_high.cod」、および「Yeast_high.cod。」が挙げられる。

【0116】

他の実施形態において、核酸分子は、本明細書中に記載されるような保存的アミノ酸置換を有するIL-17様改変体、1以上のN-連結またはO-連結グリコシル化部位の添加および/または欠失を含むIL-17様改変体、1以上のシステイン残基欠失および/または置換を有するIL-17様改変体、あるいは本明細書中に記載されるようなIL-17様ポリペプチドフラグメントをコードする。さらに、核酸分子は、IL-17様改変体、フラグメントおよび本明細書中に記載される融合ポリペプチドのいずれかの組み合わせをコードし得る。

【0117】

(ベクターおよび宿主細胞)

IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子を、標準的な連結技術を使用して適切な発現ベクターに挿入する。ベクターは、代表的に、使用される特定の宿主細胞において機能的であるように選択される(すなわち、ベクターは、遺伝子の増幅および/または遺伝子の発現が生じ得るように、宿主細胞機構と適合性がある)。IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子は、原核生物宿主細胞、酵母宿主細胞、昆虫(バキュロウイルス系)宿主細胞および/または真核生物宿主細胞において増幅/発現され得る。宿主細胞の選択は、IL-17様ポリペプチドが翻訳後修飾(例えば、グリコシル化および/またはホスホリル化)されるか否かに一部依存する。そうである場合、酵母宿主細胞、昆虫宿主細胞、または哺乳動物宿主細胞が好ましい。発現ベクターの総説について、Meth. Enz., 第185巻(D. V. Goeddel, 編., Academic Press Inc., San Diego, 1990)を参照のこと。

【0118】

代表的に、任意の宿主細胞に使用される発現ベクターは、プラスミド維持のためならびに外来性ヌクレオチド配列のクローニングおよび発現のための配列を含む。このような配列（集合的に、「隣接配列」と呼ばれる）は、特定の実施形態において、代表的に、以下のヌクレオチド配列の1つ以上を含む：プロモーター、1つ以上のエンハンサー配列、複製起点、転写終結配列、ドナーおよびアクセプタースプライス部位を含む完全なイントロン配列、ポリペプチド分泌のためのリーダー配列をコードする配列、リボソーム結合部位、ポリアデニル化配列、発現されるポリペプチドをコードする核酸を挿入するためのポリリンカー領域、ならびに選択マーカーエレメント。これらの配列のそれぞれが、以下に議論される。

【0119】

必要に応じて、ベクターは、「タグ」コード配列（すなわち、IL-17様ポリペプチドコード配列の5'末端または3'末端に配置されるオリゴヌクレオチド分子）を含み得；オリゴヌクレオチド配列は、polyHis（例えば、hexaHis）、別の「タグ」（例えば、FLAG、HA（赤血球凝集素インフルエンザウイルス））または市販の抗体が存在するmycをコードする。このタグは、代表的には、ポリペプチドの発現の際にポリペプチドに融合され、そして宿主細胞からの、IL-17様ポリペプチドのアフィニティー精製のための手段として役立つ。アフィニティー精製は、例えば、アフィニティーマトリクスとしてタグに対する抗体を使用するカラムクロマトグラフィーによって達成され得る。必要に応じて、タグは、続いて、切断のために特定のペプチダーゼを使用するような種々の手段によって、精製されたIL-17様ポリペプチドから除去され得る。

【0120】

隣接配列は、同種（すなわち、宿主細胞と同じ種および/または系統由来）であり得るか、異種（すなわち、宿主細胞種または宿主細胞系統以外の種由来）であり得るか、ハイブリッド（すなわち、1つより多くの供給源由来の隣接配列の組み合わせ）であり得るか、または合成であり得るか、あるいは隣接配列は、IL-17様ポリペプチド発現を調節するために正常に機能するネイティブな配列

であり得る。このように、隣接配列の供給源は、任意の原核生物または真核生物、任意の脊椎生物または無脊椎生物、あるいは任意の植物であり得、但し、隣接配列は、宿主細胞の機構において機能的であり、そして宿主細胞の機構によって活性化され得る。

【0121】

本発明のベクターに有用な隣接配列は、当該分野において周知である任意のいくつかの方法によって得られ得る。代表的には、内因性IL-17様遺伝子隣接配列以外の、本明細書中で有用な隣接配列は、マッピングおよび/または制限エンドヌクレアーゼ消化によって以前に同定されており、従って、適切な制限エンドヌクレアーゼを使用して、適切な組織供給源から単離され得る。いくつかの場合において、隣接配列の全長ヌクレオチド配列は公知であり得る。ここで、隣接配列は、核酸合成またはクローニングのために本明細書中で記載される方法を使用して合成され得る。

【0122】

隣接配列の全てまたは一部のみが公知である場合、PCRを使用して、そして/あるいは適切なオリゴヌクレオチドならびに/または同じもしくは別の種由来の隣接配列フラグメントを用いてゲノムライブラリーをスクリーニングすることによって、隣接配列は得られ得る。隣接配列が公知でない場合、隣接配列を含むDNAのフラグメントは、例えば、コード配列または別の遺伝子(単数または複数)を含み得る大きなDNA断片から単離され得る。単離は、適切なDNAフラグメントを生成するための制限エンドヌクレアーゼ消化、続くアガロースゲル精製を使用する単離、Qiagen(登録商標)カラムクロマトグラフィー(Chatsworth, CA)、または当業者に公知の他の方法によって達成され得る。この目的を達成するための適切な酵素の選択は、当業者に容易に明かである。

【0123】

複製起点は、代表的に、市販から購入された原核生物発現ベクターの一部であり、この起点は、宿主細胞においてベクターの増幅に役立つ。特定のコピー数へのベクターの増幅は、いくつかの場合において、IL-17様ポリペプチドの最

適な発現に重要であり得る。選択されたベクターが複製起点部位を含まない場合、公知の配列に基づいて化学的に合成され得、そしてベクターに連結され得る。例えば、プラスミド pBR322 (製品番号 303-3s、New England Biolabs, Beverly, MA) からの複製起点は、大部分のグラム陰性細菌に適切であり、そして種々の起点 (例えば、SV40、ポリオーマ、アデノウイルス、水疱性口内炎ウイルス (VSV)、または HPV もしくは BPV のようなパピローマウイルス) は、哺乳動物細胞におけるクローニングベクターのために有用である。一般的に、複製起点の成分は、哺乳動物発現ベクターに必要とされない (例えば、SV40 起点は、ただそれが初期プロモーターを含むので、しばしば、使用される)。

【0124】

転写終結配列は、代表的にポリペプチドコード領域の末端の 3' 側に配置され、そして転写を終結させるのに役立つ。通常、原核生物細胞における転写終結配列は、G-C リッチフラグメント、続いてポリ-T 配列である。この配列はライブラリーから容易にクローン化され得るか、またはベクターの一部として市販で購入されるが、これはまた、本明細書に記載されるような核酸合成のための方法を使用して容易に合成され得る。

【0125】

選択マーカー遺伝子エレメントは、選択培養培地において増殖される宿主細胞の生存および増殖に必要なタンパク質をコードする。代表的な選択マーカー遺伝子は、(a) 原核生物宿主細胞に対して、抗生物質または他の毒素 (例えば、アンピシリン、テトラサイクリン、またはカナマイシン) に対する耐性を与えるか；(b) 細胞の栄養要求性の欠損を補うか；あるいは (c) 複合培地から入手可能でない重要な栄養素を供給するタンパク質をコードする。好ましい選択マーカーは、カナマイシン耐性遺伝子、アンピシリン耐性遺伝子、およびテトラサイクリン耐性遺伝子である。ネオマイシン耐性遺伝子もまた、原核生物宿主細胞および真核生物宿主細胞における選択のために使用され得る。

【0126】

他の選択遺伝子は、発現される遺伝子を増幅するために使用され得る。増幅は

、増殖に重要なタンパク質の産生により大きく要求される遺伝子が、組換え細胞の染色体の連続的な生成の内にタンデムに反復されるプロセスである。哺乳動物細胞に対する適切な選択マーカーの例としては、ジヒドロ葉酸レダクターゼ(DHFR)およびチミジンキナーゼが挙げられる。哺乳動物細胞形質転換体は、選択圧下に置かれ、ここで、形質転換体のみが、ベクターに存在する選択遺伝子のおかげで生存するように独特に適合される。選択圧は、培地中の選択薬剤の濃度が連続的に変化し、それによって選択遺伝子とIL-17様ポリペプチドをコードするDNAとの両方の増幅を導く条件下で、形質転換された細胞を培養することによって課される。結果として、増加した量のIL-17様ポリペプチドが、増幅されたDNAから合成される。

【0127】

リボソーム結合部位は、通常、mRNAの翻訳開始に必要であり、そしてシャイン・ダルガルノ配列(原核性物)またはコザック配列(真核生物)によって特徴付けられる。このエレメントは、代表的に、発現されるIL-17様ポリペプチドのプロモーターの3'側およびコード配列の5'側に配置される。シャイン・ダルガルノ配列は、可変であるが、代表的には、ポリプリン(すなわち、高いA-G含有量を有する)である。多くのシャイン・ダルガルノ配列は、同定されており、それぞれが、本明細書中に記載の方法を使用し、かつ原核生物ベクター中で使用して、容易に合成され得る。

【0128】

リーダー配列、またはシグナル配列は、宿主細胞からIL-17様ポリペプチドを指向させるために使用され得る。代表的には、シグナル配列をコードするヌクレオチド配列は、IL-17様核酸分子のコード領域に位置するか、または直接IL-17様ポリペプチドコード領域の5'末端に位置する。多くのシグナル配列が同定されており、そして選択された宿主細胞において機能的である任意のシグナル配列が、IL-17様核酸分子と組み合わせて使用され得る。従って、シグナル配列は、IL-17様遺伝子またはcDNAに対して同種(天然に存在する)または異種であり得る。さらに、シグナル配列は、本明細書中に記載される方法を使用して化学的に合成され得る。ほとんどの場合、シグナルペプチドの

存在による宿主細胞からのIL-17様ポリペプチドの分泌は、分泌されたIL-17様ポリペプチドからのシグナルペプチドの除去を生じる。シグナル配列は、ベクターの成分であり得るか、またはベクターに挿入されたIL-17様核酸分子の一部であり得る。

【0129】

IL-17様ポリペプチドコード領域に結合されたネイティブなIL-17様ポリペプチドシグナル配列をコードするヌクレオチド配列またはIL-17様ポリペプチドコード領域に結合された異種シグナル配列をコードするヌクレオチド配列のいずれかの使用が本発明の範囲内に含まれる。選択された異種シグナル配列は、宿主細胞によって認識され、かつプロセスされる（すなわち、シグナルペプチダーゼによって切断される）ものであるべきである。ネイティブなIL-17様ポリペプチドシグナル配列を認識せず、かつプロセスしない原核生物宿主細胞について、シグナル配列は、例えば、アルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、または熱安定エンテロトキシンIIリーダーの群から選択される原核生物シグナル配列によって置換される。酵母分泌について、ネイティブなIL-17様ポリペプチドシグナル配列は、酵母インベルターゼ、因子、または酸ホスファターゼリーダーによって置換され得る。哺乳動物細胞発現において、ネイティブなシグナル配列が十分であるが、他の哺乳動物シグナル配列が適切であり得る。

【0130】

グリコシル化が真核生物宿主細胞発現系において望ましいような、いくつかの場合において、グリコシル化または収量を改善するために種々のプレ配列（pre sequence）が操作され得る。例えば、特定のシグナルペプチドのペプチダーゼ切断部位を変更し得るかまたはプレ配列を加え得、これはまた、グリコシル化に影響し得る。最終タンパク質産物は、1位に（成熟タンパク質の最初のアミノ酸に対して）、発現に付随して1つ以上のさらなるアミノ酸を有し得、これは、完全に除去されないかもしれない。例えば、最終タンパク質産物は、N末端に結合される、ペプチダーゼ切断部位において見出される1つまたは2つのアミノ酸残基を有し得る。あるいは、いくつかの酵素切断部位の使用は、酵素が成熟ポリペプチド内のこのような領域を切断する場合、所望のIL-17様ポリペ

プチドの少し短縮した形態を生じ得る。

【0131】

多くの場合において、核酸分子の転写は、ベクター内の1つ以上のイントロンの存在によって増加する；これは、ポリペプチドが真核生物宿主細胞（特に、哺乳動物宿主細胞）において産生される場合、特に当てはまる。使用されるイントロンは、特に使用される遺伝子が全長ゲノム配列またはそのフラグメントである場合、IL-17様遺伝子内に天然に存在し得る。イントロンが遺伝子内に天然に存在しない（大部分のcDNAについて）場合、イントロンは、別の供給源から得られ得る。隣接配列およびIL-17様遺伝子に関してイントロンの位置は、イントロンが効果的に転写されなければならないので、一般的に重要である。従って、IL-17様cDNA分子が転写される場合、イントロンの好ましい位置は、転写開始部位の3'側およびポリ-A転写終結配列の5'側である。好ましくは、このイントロンまたはイントロンは、コード配列を妨害しないように、cDNAの一方の側または他方の側（すなわち、5'側または3'側）に配置される。任意の供給源（ウイルス、原核生物および真核生物（植物または動物）のいずれかを含む）由来の任意のイントロンを使用して本発明を実行し得るが、但し、このイントロンは、挿入される宿主細胞に適合性がある。合成イントロンもまた本明細書に含まれる。必要に応じて、1つより多くのイントロンがベクター内で使用され得る。

【0132】

本発明の発現ベクターおよびクローニングベクターは、代表的には、宿主生物によって認識され、かつIL-17様ポリペプチドをコードする分子に作動可能に連結されたプロモーターを含む。プロモーターは、構造遺伝子の転写を制御する構造遺伝子（一般的に、約100~1000bp内）の開始コドンに対して上流（5'側）に配置される非転写配列である。プロモーターは、通常、2つのクラス（誘導プロモーターおよび構成プロモーター）のうちの1つにグループ化される。誘導プロモーターは、培養条件におけるいくらかの変化（例えば、栄養の存在または非存在、あるいは温度の変化）に応答してそれらの制御下で、DNAからの増加したレベルの転写を開始する。他方、構成プロモーターは、連続的な

遺伝子産物の産生を開始する；すなわち、遺伝子発現に対して遺伝子をほとんど制御しないかまたは制御しない。多数のプロモーター（種々の潜在的な宿主細胞によって認識される）が周知である。適切なプロモーターは、供給源のDNAからプロモーターを制限酵素消化によって取り出し、そして所望のプロモーター配列をベクターに挿入することによって、IL-17様ポリペプチドをコードするDNAに作動可能に連結される。ネイティブなIL-17様プロモーター配列は、IL-17様核酸分子の増幅および/または発現に指向させるために使用され得る。しかし、ネイティブなプロモーターと比較してより大きい転写および発現タンパク質のより高い産生が可能である場合、および使用のために選択された宿主細胞系と適合性がある場合、異種プロモーターが好ましい。

【0133】

原核生物宿主との使用に適切なプロモーターとしては、 β -ラクタマーゼおよびラクトースプロモーター系；アルカリホスファターゼ；トリプトファン（trp）プロモーター系；およびハイブリッドプロモーター（例えば、tacプロモーター）が挙げられる。他の公知の細菌プロモーターもまた、適切である。これらの配列は、公開されており、その結果、当業者は、任意の有用な制限部位を供給するのに必要とされるリンカーまたはアダプターを使用して、所望のDNA配列にそれらの配列を連結し得る。

【0134】

酵母宿主との使用に適切なプロモーターはまた、当該分野において周知である。酵母エンハンサーは、酵母プロモーターと共に有利に使用される。哺乳動物宿主細胞との使用に適切なプロモーターは周知であり、そして、このプロモーターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス（例えば、Adenovirus 2）、ウシパピローマウイルス、鳥類肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス（CMV）、レトロウイルス、B型肝炎ウイルスおよび最も好ましくはシミアンウイルス40（SV40）のようなウイルスのゲノムから得られるプロモーター。他の適切な哺乳動物プロモーターとしては、異種哺乳動物プロモーター（例えば、熱ショックプロモーターおよびアクチンプロモーター）が挙げられる。

【0135】

IL-17様遺伝子転写を制御することを目的とし得るさらなるプロモーターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：SV40初期プロモーター領域 (Bernois tおよびChambon, 1981, Nature 290:304-310)；CMVプロモーター；ラウス肉腫ウイルスの3'側の長い末端反復に含まれるプロモーター (Yamamotoら, 1980, Cell 22:787-797)；ヘルペスチミジンキナーゼプロモーター (Wagnerら, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 78:144-1445, 1981)；メタロチオネイン遺伝子の調節配列 (Brinsterら, 1982, Nature 296:39-42)； γ -ラクタマーゼプロモーターのような原核生物発現ベクター (Villa-Kamaroffら, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 75:3727-3731)；またはtacプロモーター (DeBoerら, 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 80:21-25)。

組織特異性を示し、そしてトランスジェニック動物において利用されている以下の動物転写制御領域もまた目的とする：膵臓腺房細胞において活性なエラストラーゼI遺伝子制御領域 (Swiftら, 1984, Cell 38:639-646；Ornitzら, 1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50:399-409 (1986)；MacDonald, 1987, Hepatology 7:425-515)；膵臓細胞において活性なインシュリン遺伝子制御領域 (Hanahan, 1985, Nature 315:115-122)；リンパ系細胞において活性な免疫グロブリン遺伝子制御領域 (Grosschedlら, 1984, Cell 38:647-658；Adamesら, 1985, Nature 318:533-538；Alexanderら, 1987, Mol. Cell. Biol., 7:1436-1444)；精巣、乳房、リンパ球、および肥満細胞において活性なマウス乳腺癌ウイルス制御領域 (Lederら, 1986, Cell 45:485-495)；肝臓において活性なアルブミン遺伝子制御領域 (Pinkertら, 1987, Genes and Devel. 1:268-276)；

肝臓において活性化 - フェトプロテイン遺伝子制御領域 (Krumlaufら, 1985, Mol. Cell. Biol., 5:1639-1648; Hammerら, 1987, Science 235:53-58); 肝臓において活性化 1 - 抗トリプシン遺伝子制御領域 (Kelseyら, 1987, Genes and Devel. 1:161-171); 骨髄性細胞において活性化 - グロビン遺伝子制御領域 (Mogramら, 1985, Nature 315:338-340; Kolliasら, 1986, Cell 46:89-94); 脳の稀突起神経膠細胞において活性化ミエリン塩基性タンパク質遺伝子制御領域 (Readheadら, 1987, Cell 48:703-712); 骨格筋において活性化ミオシン軽鎖 - 2 遺伝子制御領域 (Sani, 1985, Nature 314:283-286); ならびに視床下部において活性化ゴナドトロピン放出ホルモン遺伝子制御領域 (Masonら, 1986, Science 234:1372-1378)。

【0136】

エンハンサー配列は、より高等な真核生物によって本発明のIL-17様ポリペプチドをコードするDNAの転写を増加するように、ベクターに挿入され得る。エンハンサーは、転写を増加させるためにプロモーターに作用する、通常約10~300bpの長さのシス作用DNAエレメントである。エンハンサーは、相対的な方向および位置が独立である。これらは、転写単位に対して5'側および3'側に見出された。哺乳動物遺伝子から入手可能ないくつかのエンハンサー配列が公知である(例えば、グロビン、エラスターゼ、アルブミン、 - フェトプロテインおよびインシュリン)。しかし、代表的には、ウイルス由来のエンハンサーが、使用される。SV40エンハンサー、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、ポリオーマエンハンサー、およびアデノウイルスエンハンサーは、真核生物プロモーターの活性化に対する例示的な増強エレメントである。エンハンサーは、IL-17様核酸分子に対して5'位または3'位でベクターにスプライシングされ得るが、代表的には、プロモーターから5'位側に配置される。

【0137】

本発明の発現ベクターは、市販のベクターのような開始ベクターから構築され得る。このようなベクターは、全ての所望な隣接配列を含んでも良いし、含まなくても良い。所望の隣接配列の1つ以上がすでにベクター内にない場合、これらは、個々に得られ得、そしてベクターに連結され得る。隣接配列のそれぞれを得るために使用される方法は、当業者に周知である。

【0138】

本発明を実行するために好ましいベクターは、細菌宿主細胞、昆虫宿主細胞、および哺乳動物宿主細胞と適合性があるベクターである。このようなベクターとしては、特に、pCRII、pCR3、およびpcDNA3.1 (Invitrogen Company, Carlsbad, CA)、pBSII (Stratagene Company, La Jolla, CA)、pET15 (Novagen, Madison, WI)、pGEX (Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)、pEGFP-N2 (Clontech, Palo Alto, CA)、pETL (BlueBacII, Invitrogen)、pDSR- (PCT公開番号WO 90/14363)ならびにpFastBacDual (Gibco/BRL, Grand Island, NY)が挙げられる。

【0139】

さらなる適切なベクターとしては、コスミド、プラスミド、または改変ウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。しかし、これらのベクター系は、選択された宿主細胞と適合性がなくてはならないことが理解される。このようなベクターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: Bluescript (登録商標) プラスミド誘導体のようなプラスミド (高コピー数ColE1-ベースのファージミド、Stratagene Cloning Systems Inc, La Jolla CA)、Taq増幅PCR産物をクローニングするために設計されたPCRクローニングプラスミド (例えば、TOPO⁺ TA Cloning (登録商標) Kit、PCR2.1 (登録商標) プラスミド誘導体、Invitrogen, Carlsbad, CA)、ならびにバキュロウイルス発現系のような哺乳動物ベクター、酵母ベクターまたはウイルス

ベクター (p B a c P A K プラスミド誘導体、C l o n t e c h、P a l o A l t o、C A)。この組換え分子は、形質転換、トランスフェクション、感染、エレクトロポレーションまたは他の公知の技術を介して宿主細胞に導入され得る。

【0140】

ベクターが構築され、そして I L - 17 様ポリペプチドをコードする核酸分子がベクターの適切な部位に挿入された後に、完全なベクターが増幅および/またはポリペプチド発現に適切な宿主細胞に挿入され得る。I L - 17 様ポリペプチドに対する発現ベクターの選択された宿主細胞への形質転換は、トランスフェクション、感染、塩化カルシウム、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、リポフェクチンもしくは D E A E - デキストラン法、または他の公知の技術のような方法を含む周知の方法によって達成され得る。選択される方法は、一部、使用される宿主細胞型の機能による。これらの方法および他の適切な方法は、当業者に周知であり、例えば、S a m b r o o k ら、前出に記載される。

【0141】

宿主細胞は、原核生物宿主細胞 (例えば、E . c o l i) または真核生物宿主細胞 (例えば、酵母細胞、昆虫細胞、または脊椎動物細胞) であり得る。宿主細胞は、適切な条件下で培養される場合、I L - 17 様ポリペプチドを合成し、このポリペプチドは、続いて、培養培地から (宿主細胞がそのポリペプチドを培地に分泌する場合) 収集され得るか、直接そのポリペプチドを産生する宿主細胞から収集される (そのポリペプチドが分泌されない場合)。適切な宿主細胞の選択は、所望の発現レベル、活性 (例えば、グリコシル化またはリン酸化) に望ましいかまたは必要なポリペプチド修飾、および生物学的に活性な分子に折り置まれる容易さなどの種々の因子に依存する。

【0142】

多くの適切な宿主細胞が当該分野において公知であり、そして多くが、A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n (A T C C) , 1 0 8 0 1 U n i v e r s i t y B o u l e v a r d , M a n a s s a s , V A 2 0 1 1 0 - 2 2 0 9 から入手可能である。例としては、以下が挙げられ

るが、これらに限定されない：チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）（ATCC番号CCL61）、CHO DHFR-細胞（Urlaubら，1980，Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97:4216-4220）、ヒト胚性腎臓（HEK）293または293T細胞（ATCC番号CRL1573）、あるいは3T3細胞（ATCC番号CCL92）のような哺乳動物細胞。適切な哺乳動物宿主細胞の選択ならびに形質転換、培養、増幅、スクリーニング、生成物の産生、および精製のための方法は当該分野において公知である。他の適切な哺乳動物細胞株は、サルCOS-1（ATCC番号CRL1650）およびCOS-7細胞株（ATCC番号CRL1651）、およびCV-1細胞株（ATCC番号CCL70）である。さらなる例示的な哺乳動物宿主細胞としては、霊長類細胞株およびゲッ歯類細胞株（形質転換細胞株を含む）が挙げられる。正常な二倍体細胞、初代組織のインビトロ培養物由来の細胞菌株、ならびに初代外植片もまた適切である。候補細胞は、選択遺伝子を遺伝子型的に欠損し得るか、または優先的に作用する選択遺伝子を含み得る。他の適切な哺乳動物細胞株としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：マウス神経芽細胞腫N2A細胞、HeLa、マウスL-929細胞、Swiss、Balb-cまたはNIHマウス由来の3T3株、BHKまたはHaKハムスター細胞株（ATCCから入手可能）。これらの細胞株のそれぞれは、タンパク質発現の当業者によって公知でありかつ入手可能である。

【0143】

同様に、細菌細胞が、本発明に適切な宿主細胞として有用である。例えば、E. coli（例えば、HB101（ATCC番号33694）、DH5、DH10、およびMC1061（ATCC番号53338））の種々の菌株は、生物工学の分野において宿主細胞として周知である。B. subtilis、Pseudomonas spp.、他のBacillus spp.、Streptomyces spp.などの種々の菌株がまた本方法において使用され得る。

【0144】

当業者に公知の酵母細胞の多くの菌株はまた、本発明のポリペプチドの発現のため宿主細胞として入手可能である。好ましい酵母細胞としては、例えば、Sa

ccharomyces cerevisiaeおよびPichia pastorisが挙げられる。

【0145】

さらに、望ましい場合、昆虫細胞系が、本発明の方法において利用され得る。このような系は、例えば、Kittsら, 1993, Biotechniques, 14: 810-817; Lucklow, 1993, Curr. Opin. Biotechnol. 4: 564-572; およびLucklowら, 1993, J. Virol., 67: 4566-4579に記載される。好ましい昆虫細胞は、Sf-9およびHi5 (Invitrogen, Carlsbad, CA) である。

【0146】

グリコシル化IL-17様ポリペプチドを発現するためにトランスジェニック動物もまた使用し得る。例えば、トランスジェニック乳産動物(例えば、雌ウシまたはヤギ)を使用し、本発明のグリコシル化ポリペプチドを動物の乳中に得ることができる。IL-17様ポリペプチドを産生するために植物もまた使用し得るが、しかし、一般的に、植物において生じるグリコシル化は、哺乳動物細胞において産生されるものとは異なり、ヒト治療用途に適切ではないグリコシル化産物を生じ得る。

【0147】

(ポリペプチド産生)

IL-17様ポリペプチド発現ベクターを含む宿主細胞は、当業者に周知の標準的な培地を使用して培養され得る。この培地は、通常、細胞の増殖および生存に必要な全ての栄養分を含む。E. coli細胞を培養するための適切な培地としては、例えば、Luria Broth (LB) および/またはTerrific Broth (TB) が挙げられる。真核生物細胞を培養するための適切な培地としては、Roswell Park Memorial Institute medium 1640 (RPMI 1640)、Minimal Essential Medium (MEM) および/またはDulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) が挙げられ、これ

らの全ては、培養される特定の細胞株に必要な血清および/または増殖因子を補充され得る。昆虫培養についての適切な培地は、必要に応じて、イーストレート (yeastolate)、ラクトアルブミン加水分解産物、および/または胎仔ウシ血清を補充したグレース培地である。

【0148】

代表的に、トランスフェクトされた細胞の選択的な増殖に有用な抗生物質または他の化合物が、培地に補充物質として加えられる。使用される化合物は、宿主細胞が形質転換されるプラスミドに存在する選択マーカースメントによって検出可能である。例えば、選択マーカースメントがカナマイシン耐性である場合、培養培地に加えられる化合物は、カナマイシンである。選択的増殖のための他の化合物としては、アンピシリン、テトラサイクリン、およびネオマイシンが挙げられる。

【0149】

宿主細胞によって産生されるIL-17様ポリペプチドの量は、当該分野において公知の標準的な方法を使用して評価され得る。このような方法としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ウエスタンブロット分析、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動、非変性ゲル電気泳動、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分離、免疫沈降、および/またはDNA結合ゲル移動アッセイのような活性アッセイ。

【0150】

IL-17様ポリペプチドが宿主細胞から分泌されるように設計される場合、ポリペプチドの大部分は、細胞培養培地中に見出され得る。しかし、IL-17様ポリペプチドが宿主細胞から分泌されない場合、細胞質および/または核 (真核宿主細胞について) に、あるいは、細胞質ゾル (細菌宿主細胞について) に存在する。

【0151】

宿主細胞の細胞質および/または核 (真核生物宿主細胞について) に位置するかまたは細胞質ゾル (細菌宿主細胞について) に位置するIL-17様ポリペプチドについて、宿主細胞は、代表的に、機械的にかまたは界面活性剤を用いて分

裂されて、細胞内含有量を緩衝液中に放出する。次いで、IL-17様ポリペプチドはこの溶液から単離され得る。

【0152】

IL-17様ポリペプチドが細胞内で産生される場合、細胞内物質（グラム陰性細菌についての封入体を含む）は、当業者に公知の任意の標準的な技術を使用して宿主細胞から抽出され得る。例えば、宿主細胞は、フレンチプレス、均質化、および/または超音波処理、続く遠心分離によって、ペリプラズム/細胞質の含有量を放出するように溶解され得る。

【0153】

IL-17様ポリペプチドが細胞質ゾル内に封入体を形成した場合、この封入体は、しばしば、内部および/または外部細胞膜に結合され得、従って、主に、遠心分離後にペレット材料において見出される。次いで、このペレット材料は、pH極限值で処理され得るか、あるいはジチオトレイトールのような還元剤の存在下アルカリ性のpHで、またはトリスカルボキシエチルホスフィンの存在下酸性のpHで、界面活性剤、グアニジン、グアニジン誘導体、尿素、または尿素誘導体のようなカオトロピック剤で処理して、封入体を放出させ、分断させ、そして溶解させ得る。次いで、この溶解されたIL-17様ポリペプチドは、ゲル電気泳動、免疫沈降などを使用して分析され得る。IL-17様ポリペプチドを単離することが望ましい場合、単離は、本明細書中およびMarstonら、Meth. Enz., 182:264-275(1990)に記載される方法のような標準的な方法を使用して達成され得る。

【0154】

いくつかの場合、IL-17様ポリペプチドは、単離の際、生物学的に活性でなくても良い。「再折り畳みする」、つまり、ポリペプチドをその三次構造に変換し、ジスルフィド連結を生成するための種々の方法を使用して、生物学的活性を回復し得る。このような方法は、溶解されたポリペプチドをあるpH（通常7より上）および特定の濃度のカオトロピック剤（chaotrope）の存在に曝露する工程を包含する。カオトロピック剤の選択は、封入体溶解に使用される選択肢に非常に類似するが、通常、カオトロピック剤は低い濃度で使用され、溶

解に使用されるカオトロピック剤と必ずしも同一ではない。多くの場合、再折り畳み/酸化溶液はまた、還元剤、または特定の比の還元剤およびその酸化形態を含んで、特定の酸化還元電位を生成し、タンパク質のシステイン架橋の形成を生じるジスルフィドシャフリングを可能にする。通常使用される酸化還元対のいくつかとしては、システイン/シスタミン、グルタチオン(GSH)/ジチオビスGSH、塩化銅(II)、ジチオトレイトール(DTT)/ジチアンDTT、および2,2-メルカプトエタノール(bME)/ジチオ-b(ME)が挙げられる。共溶媒が使用され得るか、または再折り畳みの効率を増加するのに必要であり得、この目的のために使用されるより一般的な試薬としては、グリセロール、種々の分子量のポリエチレングリコール、アルギニンなどが挙げられる。

【0155】

封入体がIL-17様ポリペプチドの発現において有意な程度まで形成されない場合、ポリペプチドは、主に、細胞ホモジネートの遠心分離後に上清中に見出される。ポリペプチドは、本明細書中に記載されるような方法を使用して、上清からさらに単離され得る。

【0156】

溶液からのIL-17様ポリペプチドの精製は、種々の技術を使用して達成され得る。ポリペプチドが、ヘキサヒスチジン(IL-17様ポリペプチド/hexaHis)のようなタグまたは他の小さなペプチド(例えば、FLAG(Eastman Kodak Co., New Haven, CT)またはmyc(Invitrogen, Carlsbad, CA))をそのカルボキシ末端またはアミノ末端のいずれかにおいて含むように合成された場合、カラムマトリクスがタグに対して高い親和性を有するアフィニティーカラムに溶液を通すことによって、本質的に一工程で精製され得る。

【0157】

例えば、ポリヒスチジンは、ニッケルに対して大きな親和性および特異性を有して結合する。従って、ニッケルのアフィニティーカラム(例えば、Qiagen(登録商標)ニッケルカラム)は、IL-17様ポリペプチド/polyHisの精製のために使用され得る。例えば、Ausubelら編、Current

Protocols in Molecular Biology、セクション10.11.8、John WileyおよびSons、New York (1993)を参照のこと。

【0158】

さらに、IL-17様ポリペプチドは、IL-17様ポリペプチドを特異的に認識し得、そして結合し得るモノクローナル抗体の使用によって精製され得る。

【0159】

精製のための適切な手段としては、限定しないが、アフィニティークロマトグラフィー、免疫親和性クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、モレキュラーシーブクロマトグラフィー、高圧液体クロマトグラフィ(HPLC)、電気泳動(ネイティブゲル電気泳動を含む)、続くゲル溶出、および分取用等電集束法(「Isoprime」machine/technique, Hoefer Scientific, San Francisco, CA)が挙げられる。いくつかの場合において、2つ以上の精製技術を、増加した純度を達成するために組み合わせられ得る。

【0160】

IL-17様ポリペプチド(それらのフラグメント、改変体、および/または誘導体を含む)はまた、Merrifieldら、J. Am. Chem. Soc. 85:2149(1963); Houghtenら、Proc Natl Acad. Sci. USA 82:5132(1985); およびStewartおよびYoung, Solid Phase Peptide Synthesis (Pierce Chemical Co., Rockford, IL (1984))に記載されるような当該分野で公知の技術を使用する、化学合成法(例えば、固相ペプチド合成)によって調製され得る。このようなポリペプチドは、アミノ末端にメチオニンを有するかまたは有さないで合成され得る。化学的に合成されたIL-17様ポリペプチドは、これらの参考文献に記載される方法を使用して酸化され得て、ジスルフィド架橋を形成し得る。化学的に合成されたIL-17様ポリペプチドは、組換え的に産生されるかまたは天然の供給源から精製される対応するIL-17様ポリペプチドに匹敵する生物学的活性を有すると

期待され、従って、組換えまたは天然のIL-17様ポリペプチドと相互交換可能に使用され得る。

【0161】

IL-17様ポリペプチドを得る別の手段は、IL-17様ポリペプチドが天然に見出される供給源の組織および/または流体のような生物学的サンプルからの精製による。このような精製は、本明細書中に記載されるようなタンパク質精製のための方法を使用して行われ得る。精製の間、IL-17様ポリペプチドの存在が、例えば、組換え的に産生されたIL-17様ポリペプチドまたはそのペプチドフラグメントに対して調製される抗体を使用して、モニターされ得る。

【0162】

核酸およびポリペプチドを産生するための多くのさらなる方法は、当該分野において公知であり、この方法は、IL-17様ポリペプチドに対して特異性を有するポリペプチドを産生するために使用され得る。例えば、Robertsら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94:12297-12303 (1997)を参照のこと。これは、mRNAとそのコードされるペプチドとの間の融合タンパク質の産生を記載する。Roberts, R., Curr. Opin. Chem. Biol. 3:268-273 (1999)もまた参照のこと。さらに、米国特許第5,824,469号は、特定の生物学的機能を実行し得るオリゴヌクレオチドを得るための方法を記載する。この手順は、オリゴヌクレオチドの異種プールを生成する工程を包含し、それぞれが、5'ランダム化配列、中心予備選択配列、および3'ランダム化配列を有する。得られる異種プールは、所望の生物学的機能を示さない細胞の集団に導入される。次いで、細胞の亜集団を、予期される生物学的機能を示すものについてスクリーニングする。その亜集団から、所望の生物学的機能を実行し得るオリゴヌクレオチドが単離される。

【0163】

米国特許第5,763,192号；同第5,814,476号；同第5,723,323号；および同第5,817,483号は、ペプチドまたはポリペプチドを産生するためのプロセスを記載する。これは、確率論的遺伝子またはそのフ

ラグメントを産生し、次いで、この確率論的遺伝子によってコードされた1以上のタンパク質を産生する宿主細胞にこれらの遺伝子を導入することによって達成される。次いで、この宿主は、所望の活性を有するペプチドまたはポリペプチドを産生する、これらのクローンを同定するためにスクリーニングされる。

【0164】

ペプチドまたはポリペプチドの産生するための別の方法は、Athersys, Inc. によって出願されたPCT/US98/20094 (WO99/15650) (「Random Activation of Gene Expression for Gene Discovery」(RAGE-GD)として知られている)に記載されており、このプロセスは、インサイチュ組換え方法によって、内因性遺伝子の発現または遺伝子の過剰発現の活性化を含む。例えば、内因性遺伝子の発現は、非相同性組換えまたは異常な組換えによって、遺伝子の発現を活性化し得る標的細胞中に、調節配列を組み込むことによって、活性化または増加される。この標的DNAは、まず、放射線に供せられ、そして遺伝子プロモーターに挿入される。このプロモーターは、遺伝子の前方の分岐点に最終的に配置され、遺伝子の転写を開始する。これは、所望のペプチドまたはポリペプチドの発現より生じる。

【0165】

これらの方法はまた、包括的なIL-17様ポリペプチド発現ライブラリーを作製するために使用され得、これは、続いて、種々のアッセイ(例えば、生化学的アッセイ、細胞アッセイおよび全生物アッセイ(例えば、植物、マウスなど))において、ハイスループット表現型スクリーニングのために使用され得ることが理解される。

【0166】

(化学的誘導体)

IL-17様ポリペプチドの化学的に改変された誘導体は、この開示が、本明細書中に記載された場合、当業者によって調製され得る。IL-17様ポリペプチド誘導体は、このポリペプチドに天然で結合した分子の型または位置のいずれかで、異なる様式で改変される。誘導体は、1以上の天然で結合した化学的な基

の除去によって形成される分子を含み得る。配列番号2またはIL-17様ポリペプチド変異体のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、1以上のポリマーの共有結合によって改変され得る。例えば、選択されたポリマーは、代表的に水溶性であり、その結果、結合するタンパク質は、水環境（例えば、生理学的な環境）下で沈殿しない。ポリマーの混合物が、適切なポリマーの範囲内に含まれる。好ましくは、目的産物の調製物の治療学的使用のために、このポリマーは、薬学的に受容可能である。

【0167】

このポリマーの各々は、任意の分子量のポリマーであり得、そして分枝または非分枝であり得る。このポリマーの各々は、代表的に、約2 kDaと約100 kDaとの間の平均分子量を有する（この用語「約（およそ）」は、水溶性ポリマーの調製の際に、いくつかの分子が、上記の分子量より多い、いくらか少ない重量を有することを示す）。各ポリマーの平均分子量は、好ましくは、約5 kDaと約50 kDaの間、より好ましくは、約12 kDaと約40 kDaとの間、そして最も好ましくは、約20 kDaと約35 kDaとの間である。

【0168】

適切な水溶性ポリマーまたはそれらの混合物としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：N-連結またはO-連結炭水化物、糖、炭水化物、糖、リン酸、ポリエチレングリコール（PEG）（これは、モノ-（ $C_1 - C_{10}$ ））、アルコキシ-、またはアリーロキシ-ポリエチレングリコールを含む、タンパク質を誘導するために使用されたPEGの形態を含む）、モノメトキシ-ポリエチレングリコール、デキストラン（例えば、低分子量（例えば、約6 kDのデキストラン））、セルロース、または他の炭水化物ベースのポリマー、ポリ-（N-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、およびポリビニルアルコール。配列番号2のアミノ酸配列もしくはIL-17様ポリペプチド変異体を含むポリペプチドの共有結合したマルチマーを調製するために使用され得る、二官能性架橋分子もまた、本発明に含まれる。

【0169】

一般に、化学的誘導は、活性化したポリマー分子とタンパク質を反応させるために使用される任意の適切な条件下で、実施され得る。ポリペプチドの化学的誘導体を調製するための方法は、一般に、以下の工程を包含する：(a) 配列番号2、またはIL-17様ポリペプチド変異体のアミノ酸配列を含むこのポリペプチドが、1以上のポリマー分子に結合する条件下で、活性化したポリマー分子（例えば、このポリマー分子の反応性エステルまたはアルデヒド誘導体）とポリペプチドを反応させる工程、ならびに(b) 反応生成物を得る工程。最適の反応条件は、既知のパラメータおよび所望の結果に基づいて決定される。例えば、ポリマー分子：タンパク質の比が大きくなるほど、結合したポリマー分子の割合も大きくなる。1つの実施形態において、このIL-17様ポリペプチド誘導体は、アミノ末端の単一ポリマー分子部分を有し得る。例えば、米国特許第5,234,784号を参照のこと。

【0170】

IL-17様ポリペプチドのペグ化(pegylation)は、当該分野で公知の任意のペギル化反応を使用して特異的に実施され得る。このような反応は、例えば、以下の参考文献に記載されている：Francisら、Focus on Growth Factors 3:4-10(1992)；欧州特許第0154316号および同第0401384号；ならびに米国特許第4,179,337号。例えば、ペギル化は、本明細書中に記載されるように、反応性ポリエチレングリコール分子（または、類似の反応性水溶性ポリマー）とのアシル化反応またはアルキル化反応を介して実施され得る。アシル化反応のために、選択されたポリマーは、単一の反応性エステル基を有するべきである。還元的アルキル化について、選択されたポリマーは、単一の反応性アルデヒド基を有するべきである。例えば、反応性アルデヒドは、ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドであり、これは、水安定性であるか、またはモノC₁-C₁₀アルコキシもしくはそのアリーロキシ誘導体である（米国特許第5,252,714号を参照のこと）。

【0171】

別の実施形態において、IL-17様ポリペプチドは、ビオチンに化学的に連結され得、次いで、結合したこのビオチン/IL-17様ポリペプチド分子は、アビジンに結合され得、その結果、4価のアビジン/ビオチン/IL-17様ポリペプチド分子が得られる。IL-17様ポリペプチドはまた、ジニトロフェノール(DNP)またはトリニトロフェノール(TNP)に共有結合され得、そして得られた結合体は、抗-DNPまたは抗-TNP-IgMと共に沈殿し、10価の十量体の結合体を形成する。

【0172】

一般に、本発明のIL-17様ポリペプチド誘導体の投与によって、緩和または調節され得る状態は、IL-17様ポリペプチドについて本明細書中に記載されたものを含む。しかし、本明細書中に開示されるIL-17様ポリペプチド誘導体は、非誘導体化分子と比較した場合、さらなる活性、増強もしくは減少した生物学的活性、または他の特性(例えば、増加もしくは減少した半減期)を有し得る。

【0173】

(マイクロアレイ)

DNAマイクロアレイ技術は、本発明に従って利用され得ることが理解される。DNAマイクロアレイは、固体支持体(例えば、ガラス)上に配置された核酸の小型高密度アレイである。このアレイ内の各細胞またはエレメントは、その同族のmRNAとハイブリダイゼーションするための標識として作用する、単一のDNA種の多数のコピーを含む。DNAマイクロアレイ技術を使用する発現プロフィールにおいて、mRNAは、第一に細胞または組織サンプルから抽出され、次いで、蛍光標識されたcDNAに酵素的に変換される。この材料は、マイクロアレイにハイブリダイズされ、そして未結合のcDNAは、洗浄により除去される。次いで、このアレイ上に示された個々の遺伝子の発現は、各々の標的核酸分子に特異的に結合された、標識されたcDNAの量を定量することによって視覚化される。この方法において、数千の遺伝子の発現が、生物学的材料の単一サンプルから、ハイスループットの並行様式で定量され得る。

【0174】

このハイスループット発現プロフィールは、本発明のTNF α /OGP様分子に関連して広範の適用を有し、これには、以下が挙げられるが、これに限定されない：治療のための標的としてのTNF α /OGP様疾患関連遺伝子の同定および確認；関連するTNF α /OGP様分子およびそのインヒビターの分子毒性；臨床試験のための集団の階層化および代替マーカーの産生；およびハイスループットスクリーニング（HTS）において、選択化合物の同定を援助することによって、関連するTNF α /OGP様ポリペプチド小分子薬物発見を増強すること。

【0175】

（遺伝子操作した非ヒト動物）

マウス、ラット、または他のげっ歯類、ウサギ、ヤギもしくはヒツジ、または他の家畜のような非ヒト動物が、さらに本発明の範囲内に含まれ、ここで、天然のIL-17様ポリペプチドをコードする遺伝子は分裂（すなわち「ノックアウト」）され、この遺伝子の発現レベルは、有意に減少するか、または完全に消滅される。このような動物は、米国特許第5,557,032号に記載されるような技術および方法を使用して調製され得る。

【0176】

本発明は、マウス、ラット、または他のげっ歯類、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、または他の家畜のような非ヒト動物をさらに含み、この動物のIL-17様遺伝子の天然の形態または非相同性IL-17様遺伝子のいずれかが、この動物によって過剰発現され、これによって、「トランスジェニック」動物を作製する。このようなトランスジェニック動物は、米国特許第5,489,743号およびPCT公開番号WO94/28122号に記載されるような周知の方法を使用して調製され得る。

【0177】

本発明は、非ヒト動物をさらに含み、ここで、本発明の1以上のIL-17様ポリペプチドのプロモーターは、（例えば、相同的な組換え方法を使用することによって）活性化されるか、または活性化されず、1以上の天然のIL-17様ポリペプチドの発現のレベルを改変する。

【0178】

これらの非ヒト動物は、薬物候補物スクリーニングのために使用され得る。このようなスクリーニングにおいて、この動物での薬物候補物の影響が測定され得る。例えば、薬物候補物は、IL-17様遺伝子の発現を減少または増加させ得る。特定の実施形態において、産生されるIL-17様ポリペプチドの量は、この動物を薬物候補物に曝露した後に測定され得る。さらに、特定の実施形態において、この動物での薬物候補物の実際の影響を検出し得る。例えば、特定の遺伝子の過剰発現により、疾患状態または病理学的状態を生じるか、または関連する。このような場合において、遺伝子の発現を減少させるための薬物候補物の能力または病理学的状態を防止または阻害するための能力を試験し得る。別の例において、ポリペプチドのフラグメントのような、特定の代謝産物の産生により、疾患状態または病理学的状態を生じるか、または関連する。このような場合において、このような代謝産物の産生を減少させるための薬物候補物の能力または病理学的状態を防止または阻害するためのその能力を試験し得る。

【0179】

(選択的結合因子)

用語「選択的結合因子」は、1以上のIL-17様ポリペプチドに対して特異性を有する分子を言及する。適切な選択的結合因子としては、抗体およびその誘導体、ポリペプチド、ならびに小分子が挙げられるが、これらに限定されない。適切な選択的結合因子は、当該分野で公知の方法を使用して調製され得る。本発明の例示的なIL-17様ポリペプチド選択的結合因子は、IL-17様ポリペプチドの特定の部分を結合し得、これにより、ポリペプチドのIL-17様ポリペプチドレセプターへの結合を阻害する。

【0180】

IL-17様ポリペプチドと結合する抗体および抗体フラグメントのような選択的結合因子は、本発明の範囲内である。この抗体は、単一特異的なポリクローナルを含むポリクローナル；モノクローナル(MAb)、組換え、キメラ、ヒト化(例えば、CDR移植化)、ヒト、単鎖、および/または二特異的、ならびにそれらのフラグメント、改変体、または誘導体であり得る。抗体フラグメントと

しては、IL-17様ポリペプチド上のエピトープに結合する抗体のこれらの一部を含む。このようなフラグメントの例としては、全長抗体の酵素学的切断によって産生されたFabおよびF(ab')₂フラグメントが挙げられる。他の結合フラグメントとしては、組換えDNA技術(例えば、抗体可変領域をコードする核酸配列を含む、組換えプラスミドの発現)によって産生されたフラグメントが挙げられる。

【0181】

IL-17様ポリペプチドに対するポリクローナル抗体は、一般に、IL-17様ポリペプチドおよびアジュバンドの複数回の皮下注射または腹腔内注射によって動物(例えば、ウサギまたはマウス)において産生される。IL-17様ポリペプチドまたは変異体、改変体もしくは誘導体をキャリアタンパク質に結合させることは、有用であり得、このタンパク質は、キーホールリンペットヘモシアニン、血清、アルブミン、ウシサイログロブリン、またはダイズトリブシンインヒビターのように、免疫化される種において免疫原性である。また、ミョウバンのような凝集剤は、免疫応答を増強させるために使用される。免疫化後、この動物は採血され、そして血清を、抗IL-17様ポリペプチド抗体力価についてアッセイする。

【0182】

IL-17様ポリペプチドに対するモノクローナル抗体は、培地中の連続的細胞株によって抗体分子を産生するために提供される、任意の方法を使用して産生される。モノクローナル抗体を調製するために適切な方法の例は、Kohlerら、Nature 256:495-497(1975)のハイブリドーマ法、およびヒトB細胞ハイブリドーマ法(Kozbor、J. Immunol. 133:3001(1984); Brodeurら、Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications、51-63頁(Marcel Dekker, Inc., New York、1987))が挙げられる。IL-17様ポリペプチドと反応する、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞株がまた、本発明によって提供される。

【0183】

本発明のモノクローナル抗体は、治療剤として使用するために、改変され得る。1実施形態は、「キメラ」抗体であり、この重鎖および/または軽鎖の一部が、特定の種から誘導されるか、または特定の抗体のクラスもしくはサブクラスの属する抗体中の対応する配列と同一であるか、または相同性である一方で、この鎖の残りは、別の種から誘導されるか、または別の抗体のクラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるか、または相同性である。抗体のフラグメントが所望の生物学的活性を示す限り、このような抗体のフラグメントもまた含まれる。米国特許第4,816,567号; Morrisonら、Proc. Natl. Acad. Sci., 81:6851-6855(1985)を参照のこと。

【0184】

別の実施形態において、本発明のモノクローナル抗体は、「ヒト化」抗体である。非ヒト抗体をヒト化するための方法は、当該分野で周知である。一般に、ヒト化抗体は、非ヒトである供給源から導入された1以上のアミノ酸残基を有する。ヒト化は、例えば、当該分野で公知の方法を使用して、鋸状相補的決定領域(CDR)の少なくとも一部をヒトの抗体の対応する領域と置換することによって、実施され得る。(米国特許第5,585,089号および同第5,693,762号を参照のこと)。一般に、ヒト化した抗体は、非ヒトである供給源から導入された1以上のアミノ酸残基を有する。ヒト化は、例えば、当該分野(Jonesら、Nature 321:522-525(1986); Riechmanら、Nature 332:323-327(1998); Verhoeyenら、Science 239:1534-36(1988))で記載される方法を使用して、鋸状相補的決定領域(CDR)の少なくとも一部をヒトの抗体の対応する領域と置換することによって、実施される。

【0185】

IL-17様ポリペプチドと結合するヒト抗体がまた、本発明によって包含される。内因性の免疫グロブリンの産物の非存在下で、ヒト抗体のレパートリーを産生し得る、トランスジェニック動物(例えば、マウス)を使用して、このよう

な抗体は、IL-17様抗原(すなわち、少なくとも6個の連続アミノ酸を有する)を用いて免疫化することによって産生され、必要に応じて、キャリアに結合される。例えば、JakobovitsらProc. Natl. Acad. Sci. 90:2551-55(1993); Jakobovits, Nature 362:255-58(1993); BruggermannらYear in Immunol. 7:33(1993)を参照のこと。1つの方法において、このようなトランスジェニック動物は、その重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードする内因性遺伝子座を無能にし、そしてヒトの重鎖および軽鎖タンパク質をコードする遺伝子座をそのゲノムに挿入することによって産生される。次いで、部分的に改変された動物(この動物は、完全未満の相補体の改変を有するものである)は、所望の免疫系の改変の全てを有する動物を得るために交雑育種される。免疫原が投与される場合、これらのトランスジェニック動物が、ヒト可変領域と、ヒト(例えば、マウスではない)アミノ酸配列(可変領域(これらの抗原に対して免疫特異性であるヒトを含む)を含む)を有する抗体を産生する。PCT出願番号PCT/US96/05928およびPCT/US93/06926を参照のこと。さらなる方法は、米国特許第5,545,807号、PCT出願番号PCT/US91/245およびPCT/GB89/01207、ならびに欧州特許第546073B1および同第546073A1に記載される。ヒト抗体はまた、本明細書中に記載されるような宿主細胞中の組換えDNAの発現またはハイブリドーマ細胞中での発現によって産生され得る。

【0186】

代替の実施形態において、ヒト抗体はまた、ファージディスプレイライブラリから産生され得る(HoogenboomらJ. Mol. Biol. 227:381(1991); MarksらJ. Mol. Biol. 222:581(1991))。これらにより、糸状のバクテリオファージの表面上の抗体レパートリーのディスプレイを介した模倣免疫選択、および選択した抗原への結合によるファージの続く選択を処理する。1つのこのような技術は、PCT出願番号PCT/US98/17364に記載されており、これには、このようなアプローチを使用して、MPL-レセプターおよびmsk-レセプターについて、高い親和性

および機能的なアゴニスト抗体の単離が記載される。

【0187】

キメラ抗体、CDR移植化抗体、およびヒト化抗体は、代表的に組換え方法によって産生される。抗体をコードする核酸は、宿主細胞中に導入され、そして本明細書中に記載される物質および手順を使用して発現される。好ましい実施形態において、この抗体は、哺乳動物宿主細胞（例えば、CHO細胞）中で産生される。モノクローナル（例えば、ヒト）抗体は、本明細書中に記載されるように、宿主細胞中での組換えDNAの発現またはハイブリドーマ細胞中での発現によって産生され得る。

【0188】

本発明の抗-IL-17様抗体は、IL-17様ポリペプチドの検出および定量のために、任意の公知のアッセイ方法（例えば、競合結合アッセイ、直接および間接的サンドイッチアッセイ、および免疫沈降アッセイ）において使用され得る（Sola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques 147-158頁（CRC Press, Inc., 1987））。この抗体は、使用されるアッセイ方法に対して、適切である親和性でIL-17様ポリペプチドと結合する。

【0189】

診断適用のために、特定の実施形態において、抗-IL-17様抗体は、検出可能な部分で標識され得る。この検出可能な部分は、直接的または間接的のいずれかで、検出可能なシグナルを産生し得る任意の部分であり得る。例えば、検出可能な部分は、放射性同位体（例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{125}I ）；蛍光化合物または化学発光化合物（例えば、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、もしくはルシフェリン）；または酵素（例えば、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、もしくは西洋ワサビペルオキシダーゼ）であり得る（Bayerら, 1990, Meth. Enz. 184: 138-163）。

【0190】

競合結合アッセイは、標識した標準（例えば、IL-17様ポリペプチド、ま

たはその免疫学的に活性な部分)の、限定された量の抗-IL-17様抗体との結合に関して、試験サンプル検体(IL-17様ポリペプチド)と競合する能力に依存する。試験サンプル中のIL-17様ポリペプチドの量は、抗体と結合した標準の量と反比例する。結合した標準の量を決定するのを容易にするために、この抗体は、競合前または後に、代表的に不溶化され、その結果、この抗体と結合した標準および検体は、結合しないままの標準および検体から好都合に分離され得る。

【0191】

サンドイッチアッセイは、2つの抗体の使用に代表的に関連し、各々は、検出および/または定量されるべきタンパク質の異なる免疫原性部分またはエピトープに結合し得る。サンドイッチアッセイにおいて、この試験サンプル検体は、固体支持体上に固定化される第1抗体によって代表的に結合され、その後、第2抗体が、この検体に結合し、不溶性の3つの部分からなる複合体を形成する。例えば、米国特許第4,376,110号を参照のこと。第2抗体自体は、検出可能な部分で標識されるか(直接的なサンドイッチアッセイ)、または検出可能な部分で標識される抗-免疫グロブリン抗体を使用して測定され得る(間接的なサンドイッチアッセイ)。例えば、サンドイッチアッセイの1つの型は、酵素結合免疫ソルベント検定法(ELISA)(この場合、検出可能な部分は、酵素である)である。

【0192】

抗-IL-17様抗体を含む、選択的結合因子はまた、インビボ画像化のために有用である。検出可能な部分で標識した抗体は、動物に、好ましくは、血流に投与され得、宿主中で標識した抗体の存在および位置がアッセイされる。この抗体は、核磁気共鳴、放射線医学、または当該分野で公知の他の検出手段のいずれかによって、動物中で検出可能である任意の部分で標識され得る。

【0193】

本発明はまた、生物学的サンプル中のIL-17様の選択可能な結合因子(例えば、抗体)およびIL-17様ポリペプチドのレベルを検出するために有用な他の試薬を含むキットに関する。このような試薬は、二次的活性、検出可能な標

識、ブロッキング血清、ポジティブコントロールサンプルおよびネガティブコントロールサンプル、ならびに検出試薬を含み得る。

【0194】

抗体を含む、本発明の選択的結合因子は、治療剤として使用され得る。これらの治療剤は、一般に、アゴニストまたはアンタゴニストであり、これらは、少なくとも1つのIL-17様ポリペプチドの生物学的活性を、それぞれ増強または減少させるかのいずれかである。1つの実施形態において、本発明のアンタゴニスト抗体は、IL-17様ポリペプチドに特異的に結合し得、そしてインビボまたはインビトロでIL-17様ポリペプチドの機能活性を阻害または排除し得る、抗体またはその結合フラグメントである。好ましい実施形態において、選択的結合因子（例えば、アンタゴニスト抗体）は、少なくとも約50%、および好ましくは、少なくとも約80%まで、IL-17様ポリペプチドの機能活性を阻害する。別の実施形態において、この選択的結合因子は、IL-17様結合パートナー（リガンドまたはレセプター）と相互作用し得る抗-IL-17様ポリペプチドレセプター抗体であり、これにより、インビトロまたはインビボにおいてIL-17様活性を阻害または排除する。アゴニストおよびアンタゴニスト抗-IL-17様ポリペプチド抗体を含む、選択的結合因子は、当該分野で周知であるスクリーニングアッセイによって同定される。

【0195】

IL-17様ポリペプチドを使用して、当該分野で公知の方法を用いてIL-17様ポリペプチド選択的結合因子を調製し得る。例えば、抗原が、高度に選択された様式で、その対応する抗体と共に、そして他の抗原によって惹起され得る他の抗体の多数を用いずに、反応のための特異的な結合反応に使用され得る。

【0196】

本発明のIL-17様ポリペプチドは、発現クローニング戦略に使用するIL-17様レセプターをクローニングするために使用され得る。放射性標識された（125-ヨウ素）IL-17様ポリペプチドまたはアフィニティ/活性タグ化IL-17様ポリペプチド（例えば、Fc融合またはアルカリホスファターゼ融合）は、IL-17様レセプターを発現する細胞型、細胞株または組織を同定す

るための結合アッセイにおいて使用され得る。次いで、このような細胞または組織から単離されたRNAは、cDNAに変換され得、哺乳動物発現ベクターにクローニングされ得、そして哺乳動物細胞（例えば、COSまたは293細胞）にトランスフェクトされて発現ライブラリーを作製し得る。次いで、放射標識されたかまたはタグ化されたIL-17様ポリペプチドは、アフィニティリガンドとして使用され、このライブラリーから、細胞表面のIL-17様リガンドを発現する細胞のサブセットを同定および単離し得る。次いで、DNAは、これらの細胞から単離され得、そして哺乳動物細胞にトランスフェクトされて二次的発現ライブラリー（このライブラリーにおけるIL-17様レセプターを発現する細胞の画分はもともとのライブラリーにおけるものよりも数倍高い）が作製される。この濃縮プロセスは、IL-17様レセプターを含む単一の組換えクローンが単離されるまで、反復され得る。IL-17様レセプターの単離は、IL-17様ポリペプチドシグナル伝達経路の新規のアゴニストおよびアンタゴニストを同定および開発するために有用である。このようなアゴニストおよびアンタゴニストは、可溶性IL-17様レセプター、抗IL-17様抗体および/もしくは抗IL-17様レセプター抗体、小分子またはアンチセンスオリゴヌクレオチドを含み、そしてこれらは本明細書中に記載される1つ以上の疾患/障害を処置するために使用され得る。

【0197】

（さらなるアゴニスト分子およびアンタゴニスト分子）

本明細書中に規定されるように、アゴニスト分子またはアンタゴニスト分子は、IL-17様ポリペプチドの少なくとも1つの生物学的活性をそれぞれ増強するかまたは減少するかのいずれかである。アンタゴニストは、IL-17様レセプター自身および/またはIL-17様結合パートナー（例えば、リガンドまたはレセプター）と相互作用し得、これにより、インビトロまたはインビボでIL-17様ポリペプチド活性を阻害または除去する。アゴニストは、IL-17様分子に特異的に結合し得、かつレセプターを活性化するそのネイティブなりガンドのように機能し得る分子である。アゴニストはまた、IL-17様結合パートナー（例えば、リガンド）と相互作用して、IL-17様ポリペプチドに対する

その結合を増強し得、それにより、IL-17様分子の生物学的活性を増強し得る。本明細書中に記載されるアゴニストおよびアンタゴニストが選択可能な結合因子に限定されないことは、明白である。選択可能な結合因子に加えて、他の適切なアゴニスト分子およびアンタゴニスト分子としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：可溶性IL-17様ポリペプチド、小分子、およびアンチセンスオリゴヌクレオチド。これらのいずれもが、本明細書中に記載されるものを含む1つ以上の疾患または障害を処置するために使用され得る。

【0198】

IL-17様ポリペプチドは、「発現クローニング」戦略に使用するIL-17様リガンドをクローニングするために使用され得る。放射性標識された(125-ヨウ素)IL-17様ポリペプチドまたは「アフィニティ/活性タグ化」IL-17様ポリペプチド(例えば、Fc融合またはアルカリホスファターゼ融合)は、IL-17様リガンドを発現する細胞型、細胞株または組織を同定するための結合アッセイにおいて使用され得る。次いで、このような細胞または組織から単離されたRNAは、cDNAに変換され得、哺乳動物発現ベクターにクローニングされ得、そして哺乳動物細胞(例えば、COSまたは293)にトランスフェクトされて発現ライブラリーを作製し得る。次いで、放射標識されたかまたはタグ化されたIL-17様ポリペプチドを、アフィニティ試薬に使用してIL-17様リガンドを発現するこのライブラリーにおいて細胞のサブセットを同定および単離し得る。次いで、DNAは、これらの細胞から単離され得、そして哺乳動物細胞にトランスフェクトされて二次的発現ライブラリーを作製され、このライブラリーにおけるIL-17様リガンドを発現する細胞の画分はもともとのライブラリーにおけるものよりも数倍高い。この濃縮プロセスは、IL-17様リガンドを含む単一の組換えクローンが単離されるまで、反復され得る。IL-17様リガンドの単離は、IL-17様シグナル伝達経路の新規アゴニストおよびアンタゴニストを同定および開発するために有用である。このようなアゴニストおよびアンタゴニストは、IL-17様リガンド、抗IL-17様リガンド抗体、小分子またはアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。

【0199】

(IL-17様ポリペプチド活性の他の調節因子についてのアッセイ)

いくつかの状況において、IL-17様ポリペプチドの活性の調節因子(すなわち、アゴニストまたはアンタゴニスト)である分子を同定することが所望され得る。IL-17様ポリペプチドを調節する天然の分子または合成分子は、本明細書中に記載されるもののような1つ以上のスクリーニングアッセイを使用して同定され得る。このような分子は、エキソビボ様式もしくはインビボ様式での注射によってか、あるいは経口投与、移植デバイスなどによってのいずれかで投与され得る。

【0200】

「試験分子」は、IL-17様ポリペプチドの活性を調節(すなわち、増加または減少)する能力についての評価下である分子をいう。最も一般的には、試験分子は、IL-17様ポリペプチドと直接相互作用する。しかし、試験分子はまた、IL-17様ポリペプチド活性を、例えば、IL-17様遺伝子発現を影響することによってかまたはIL-17様結合パートナー(例えば、レセプターまたはリガンド)に結合することによって、間接的に調節し得ることが意図される。1つの実施形態において、試験分子は、少なくとも約 10^{-6} M、好ましくは約 10^{-8} M、より好ましくは約 10^{-9} M、そしてさらにより好ましくは約 10^{-10} Mの親和性定数でIL-17様ポリペプチドに結合する。

【0201】

IL-17様ポリペプチドと相互作用する化合物を同定するための方法は、本発明によって包含される。特定の実施形態において、試験分子のIL-17様ポリペプチドとの相互作用を可能にする条件下で、IL-17様ポリペプチドは、試験分子とインキュベートされ、そして相互作用の量は測定され得る。試験分子は、実質的に精製された形態または粗製混合物においてスクリーニングされ得る。試験分子は、核酸分子、タンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質、または低分子有機体化合物もしくは無機体化合物であり得る。

【0202】

特定の実施形態において、IL-17様ポリペプチドアゴニストまたはアンタゴニストは、IL-17様ポリペプチドと相互作用してその活性を調節するタン

パク質、ペプチド、炭水化物、脂質、または低分子量分子であり得る。IL-17様ポリペプチド発現を調節する分子は、IL-17様ポリペプチドをコードする核酸に相補的な核酸、またはIL-17様ポリペプチドの発現を指向するかもしくは制御する核酸配列に相補的な核酸、そして発現のアンチセンス調節因子として作用する核酸を含む。

【0203】

一旦、試験化合物のセットがIL-17様ポリペプチドと相互作用するとして同定されると、この分子はさらに、IL-17様ポリペプチド活性を増加または減少するその能力について評価され得る。試験分子のIL-17様ポリペプチドとの相互作用の測定は、いくつかの型（細胞ベースの結合アッセイ、膜結合アッセイ、溶液相アッセイおよび免疫アッセイを含む）において実施され得る。一般には、試験分子は、IL-17様ポリペプチドと特定の時間にわたってインキュベートされ、そして、IL-17様ポリペプチド活性は、生物学的活性を測定するための本明細書中に記載される1つ以上のアッセイによって決定される。

【0204】

試験分子のIL-17様ポリペプチドとの相互作用はまた、免疫アッセイにおいて、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を使用して直接的にアッセイされ得る。あるいは、本明細書中に記載されるエピトープタグを含有するIL-17様ポリペプチドの改変形態は、溶液中および免疫アッセイにおいて使用され得る。

【0205】

特定の実施形態において、IL-17様ポリペプチドアゴニストまたはアンタゴニストは、タンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質、または低分子量の分子であり得、これは、IL-17様ポリペプチドと相互作用して、その活性を調節する。IL-17様ポリペプチドの潜在的なタンパク質アゴニストは、ポリペプチドの活性領域と相互作用し、そして少なくともIL-17様分子の1つの活性を阻害または除去する抗体を含む。IL-17様ポリペプチドの発現を調節する分子は、IL-17様ポリペプチドをコードする核酸と相補的であるか、またはIL-17様ポリペプチドの発現を指向または制御する核酸配列に対して相補的で

ある核酸分子、および発現のアンチセンス制御因子として作用する核酸分子を含む。

【0206】

IL-17様ポリペプチドが、結合パートナー（例えば、選択的結合因子、レセプターまたはリガンド）との相互作用を介して、生物学的活性を示す場合において、種々のインビトロアッセイが、対応する結合パートナー（例えば、選択的結合因子、レセプター、またはリガンド）へのIL-17様ポリペプチドの結合を測定するために使用され得る。これらのアッセイは、結合パートナーに対するIL-17様ポリペプチドの結合の速度および/または程度を増加または減少させるためのこれらの能力について、試験分子をスクリーニングするために使用され得る。1アッセイにおいて、IL-17様ポリペプチドは、マイクロタイタープレートのウェル中に固定化される。次いで、放射性同位体で標識したIL-17様ポリペプチド結合パートナー（例えば、ヨウ素化したIL-17様ポリペプチド結合パートナー）および試験分子は、このウェルに、一時に一方を（いずれかの順序で）または同時に添加され得る。インキュベーション後に、このウェルを洗浄し、そしてシンチレーション計数器を使用して、放射活性を計数し、結合パートナーがIL-17様ポリペプチドに結合する範囲を決定する。代表的に、分子は、濃度範囲にわたって試験され、そして試験アッセイの1以上の要素を欠く一連のコントロールウェルは、結果の評価の精度のために使用され得る。この方法の代わりは、ポリペプチドの「位置」を逆にする工程（すなわち、マイクロタイタープレートウェルに対してIL-17様ポリペプチド結合パートナーを固定化し、試験分子および放射標識したIL-17様ポリペプチドをインキュベートし、そしてIL-17様ポリペプチド結合の範囲を決定する工程）を包含する。例えば、Current Protocols in Molecular Biology、第18章（Ausubelら編、John Wiley & Sons NY（1995））を参照のこと。

【0207】

放射性標識に対する代替として、IL-17様ポリペプチドまたはその結合パートナーは、ビオチンと結合体化され得、そしてビオチン化されたタンパク質の

存在が、次いで、酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）またはアルカリホスファターゼ（AP））に結合したストレプトアビジン（これらは、比色定量的に検出されるか、またはストレプトアビジンの蛍光タグ化によって検出され得る）を使用して検出され得る。IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様ポリペプチド結合パートナーに対する抗体であって、かつビオチンに結合している抗体がまた使用され得、APまたはHRPに連結した酵素連結ストレプトアビジンとの複合体のインキュベーションに続いて検出し得る。

【0208】

IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様ポリペプチド結合パートナーは、アガロースビーズ、アクリルビーズ、または他の型のこのような不活性な固体相基材への付着によって固定化され得る。基材-タンパク質複合体は、相補タンパク質および試験化合物を含む溶液内に配置され得る。インキュベーション後、これらのビーズは、遠心分離によって沈澱され得、そしてIL-17様ポリペプチドとその結合パートナーとの間の結合の量が、本明細書中に記載の方法を使用して評価され得る。あるいは、基材-タンパク質複合体は、カラム内に固定化され得、そして試験分子および相補タンパク質はカラムを通過する。IL-17様ポリペプチドとその結合パートナーとの間の複合体の形成が、次いで、本明細書中に記載の技術（例えば、放射性標識または抗体結合）のいずれかを使用して評価され得る。

【0209】

IL-17様ポリペプチド結合タンパク質とIL-17様ポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成を増加または減少させる試験分子を同定するために有用な別のインビトロアッセイは、表面プラズモン共鳴検出器システム（例えば、BIAcoreアッセイシステム（Pharmacia, Piscataway, NJ））である。BIAcoreシステムは、製造業者のプロトコルを使用して実施される。このアッセイは、本質的に、IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様ポリペプチド結合パートナーのいずれかの、デキストランでコートされたセンサーチップ（これは、検出器に存在する）への共有結合を含む。次いで、この試験化合物および他の相補タンパク質が、同時にかまたは連続的に

のいずれかで、センサーチップを含むチャンバーに注入され得る。結合する相補タンパク質の量は、センサーチップのデキストランコート側面に物理的に関係する分子の質量の変化に基づいて評価され得、この分子の質量の変化は、検出器システムによって測定される。

【0210】

いくつかの場合において、2つ以上の試験化合物と一緒に、IL-17様ポリペプチドとIL-17様ポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成を増加または減少させるそれらの能力について評価することが所望され得る。これらの場合において、本明細書中に記載のアッセイは、第一の試験化合物と同時に、またはそれに続いてのいずれかで、このようなさらなる試験化合物を添加することによって容易に改変され得る。このアッセイにおける工程の残りは、本明細書中に記載される。

【0211】

インビトロアッセイ（例えば、本明細書中に記載されるもの）は、IL-17様ポリペプチドとIL-17様ポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成に対する効果について、多数の化合物をスクリーニングするために、有利に使用され得る。これらのアッセイは、ファージディスプレイ、合成ペプチド、および化学合成ライブラリーにおいて生成された化合物をスクリーニングするために、自動化され得る。

【0212】

IL-17様ポリペプチドとIL-17様ポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成を増加または減少される化合物はまた、IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様ポリペプチド結合パートナーFのいずれかを発現する細胞および細胞系列を使用して、細胞培養物においてスクリーニングされ得る。細胞および細胞系列は、任意の哺乳動物から得られ得るが、好ましくは、ヒト、または他の霊長類、イヌ類またはげっ歯類の供給源由来である。IL-17様ポリペプチドの、IL-17様ポリペプチド結合パートナーを発現する細胞への、その表面での結合は、試験化合物の存在または非存在下で評価され、そして結合の程度が、例えば、IL-17様ポリペプチド結合パートナーに対するビオチン化抗

体を使用するフローサイトメトリーによって決定され得る。細胞培養アッセイは、本明細書中に記載されるタンパク質結合アッセイにおいて、陽性であるとスコア付けされる化合物をさらに特徴付けするために有利に使用され得る。

【0213】

細胞培養物はまた、薬物候補の影響をスクリーニングするために使用され得る。例えば、薬物候補は、IL-17様遺伝子の発現を減少または増加させ得る。特定の実施形態において、生成されるIL-17様ポリペプチドまたはIL-17様ポリペプチドフラグメントの量は、細胞培養物の薬物候補への曝露の後に測定され得る。特定の実施形態において、細胞培養物への薬物候補の実質的な影響が検出され得る。例えば、特定の遺伝子の過剰発現は、細胞培養物への特定の影響を有し得る。このような場合に、遺伝子の発現を増加または減少させる薬物候補の能力、または細胞培養物に対する特定の影響を予防または阻害するその能力が試験され得る。他の例において、特定の代謝産物（例えば、ポリペプチドのフラグメントなど）の生成が、疾患または病的状態を生じ得るか、またはそれらと関連し得る。このような場合、細胞培養物におけるこのような代謝産物の生成を減少する薬物候補の能力が試験され得る。

【0214】

酵母ツーハイブリッドシステム（Chienら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、88：9578～9583、1991）を、IL-17様ポリペプチドと結合し、相互作用する、新規ポリペプチドを同定のために使用し得る。例としては、酵母ツーハイブリッドバイト（bait）構築物を、ベクター（例えば、Clontech製のpAS2-1）内に生成し得、このベクターは、IL-17様ポリヌクレオチドに融合した酵母GAL4-DNA結合ドメインをコードしている。このバイト構築物は、ヒトcDNAライブラリーをスクリーニングするために使用し得、ここでcDNAライブラリー配列は、GAL4活性化ドメインに融合されている。相互作用が陽性であることが、-Galのようなレポータ遺伝子の活性化を生じる。このスクリーニングから現れた陽性クローンは、相互作用するタンパク質を同定するために特徴付けられる。

（内部移行タンパク質）

TATタンパク質配列(HIV由来)が、細胞膜の脂質二重膜成分を標的化することによって、タンパク質を細胞内に内部移行させるために使用され得る。例えば、Falwellら、1994、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91:664-68を参照のこと。例えば、HIV TATタンパク質の11アミノ酸の配列(YGRKKRRQRRR; 配列番号11)(「タンパク質形質導入ドメイン」、またはTAT PDTを称される)は、細胞の細胞質膜および核膜を横切る、巨大な生物活性のあるタンパク質(例えば、ガラクトシダーゼおよびp27Kip)の送達を媒介するとして記載されている。Schwarzeら、1999、Science 285:1569-1572; およびNagaharaら、1998、Nature Medicine 4:1449-1452を参照のこと。Schwarzeら(Science 285:1569-1572、1999)は、培養した細胞が、TAT PDTとガラクトシダーゼの融合物に曝露した場合に、 β -gal活性を持ったことを示した。

【0215】

従って、TATタンパク質配列は、所望のポリペプチドを細胞に内部移入させるために使用され得ることが理解される。本発明の状況において、TATタンパク質配列を使用して、IL-17様アンタゴニスト(すなわち、抗-IL-17様選択結合因子または小分子)のような別の分子と融合し得、そしてIL-17様分子の活性を阻害するために、細胞内に投与され得る。所望される場合、IL-17様タンパク質自体またはIL-17様のペプチドブチドフラグメント、または改変形態が、上述のような手順を使用した細胞への投与のための、そのようなタンパク質トランスデューサに融合され得る。

【0216】

(治療的用途)

本発明のIL-17様アンタゴニストについての使用および処置の非限定的なリストとしては、以下が挙げられる: 炎症疾患、自己免疫疾患、アレルギー、喘息、および患者における器官または組織の拒否反応の処置または予防。本発明のIL-17アンタゴニストはまた、T細胞の増殖および/または活性化を阻害す

るために、インビボB細胞増殖または免疫グロビン分泌を阻害するために、そして骨の老化の誘導におけるIL-17の効果を遮断するために、有用である。

【0217】

本発明が意図される場合、IL-17様ポリペプチド、これのアゴニストまたはアンタゴニストが、他の治療の添加剤として投与され得、そしてまた、処置される徴候に対して適切な他の薬学的因子とともに投与され得る。IL-17様ポリペプチドおよび任意のさらなる1つ以上の治療剤もしくは薬学的因子は、別々に、続けて、または同時に投与され得る。

【0218】

特定の実施形態において、本発明はまた、IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様分子のアゴニストで処置し得る疾患の処置のための、任意の1つ以上のインターロイキン-1(IL-1)インヒビターと組合せて用いる、IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様分子のアゴニストの使用(事前処置、事後処置、または同時処置)に関する。インターロイキン-1インヒビターのクラスは、インターロイキン-1レセプターアンタゴニスト(IL-1に対する細胞レセプターの活性化を特異的に阻害することが可能な任意の化合物)(例えば、上述のIL-1ra;抗IL-1レセプターモノクローナル抗体(例えば、EP623674、この開示は本明細書中で参考として援用される;可溶性IL-1レセプターのようなIL-1結合タンパク質(例えば、米国特許第5,492,888号、同第5,488,032号、同第5,464,937号、同第5,319,071号、および同第5,180,812))これらの開示は本明細書中で参考として援用される;抗IL-1モノクローナル抗体(例えば、PCT公開WO95/01997、WO94/02627、WO90/06371;米国特許第4,935,343号;および欧州特許第364778号、同第267611号および同第220063号);IL-1レセプター付属タンパク質(例えば、PCT公開WO96/23067)ならびにIL-1のインビボ合成または細胞外放出を遮断する他の化合物およびタンパク質)。

【0219】

インターロイキン-1レセプターアンタゴニスト(IL-1ra)は、インタ

ーロイキン - 1の天然のインヒビターとして作用するヒトタンパク質である。インターロイキンレセプターアンタゴニスト、ならびに、その作成方法および使用方法は、米国特許第5,075,222号；PCT公開WO91/08285；WO91/17184；AU9173636；WO92/16221；WO93/21946；WO94/06457；WO94/21275；FR2706772；WO94/21235；DE4219626；WO94/20517；WO96/22793；およびWO97/28828に記載され、これらの開示は本明細書中で参考として援用される。このようなタンパク質には、グリコシル化IL-1レセプターアンタゴニストおよび非グリコシル化IL-1レセプターアンタゴニストが含まれる。

【0220】

具体的には、IL-1raの3つの例示的形態(IL-1ra、IL-1raおよびIL-1rax)は、米国特許第5,075,222号に開示されている。IL-1インヒビター、特にIL-1raを生成する方法はまた、この5,075,222号の特許に開示されている。

【0221】

インターロイキン - 1インヒビターのさらなるクラスは、IL-1に対する細胞レセプターの活性化を特異的に阻害することが可能な化合物を含む。このような化合物は、可溶性レセプターおよびモノクローナル抗体のようなIL-1結合タンパク質を含む。このような化合物はまた、このレセプターに対するモノクローナル抗体を含む。

【0222】

インターロイキン - 1インヒビターのさらなるクラスは、IL-1のインビボ合成および/または細胞外放出をブロックする化合物およびタンパク質を含む。このような化合物は、IL-1遺伝子の転写またはIL-1プレタンパク質のプロセッシングに影響を合える薬剤を含む。

【0223】

別の実施形態において、本発明は、本明細書中に列挙した疾患および障害の処置および予防のために、任意の1つ以上のTNFインヒビターと組合せた(事前

処置、事後処置、または同時処置)、IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様分子のアンタゴニストの使用に関する。

【0224】

このようなTNFインヒビターとしては、TNFのインビボ合成または細胞外放出を遮断する化合物およびタンパク質が挙げられる。特定の実施形態において、本発明は、以下の1つ以上のTNFインヒビターのいずれかと組合わせた(前処置、後処置、または同時処置)IL-17様ポリペプチドの使用に関する：TNF結合タンパク質(本明細書中で定義されるような、可溶性TNFレセプターI型および可溶性TNFレセプターII型(「sTNFR」)、抗TNF抗体、顆粒球コロニー刺激因子；サリドマイド；BN 50730；テニダブ(tenidap)；E 5531；チアパファント(tiapafant) PCA 4248；ニメスリド(nimesulide)；パナビル(panavir)；ロリプラム(rolipram)、RP 73401；ペプチドT；MDL 201, 449A；(1R, 3S)-Cis-1-[9-(2,6-ジアミノプリンル)]-3-ヒドロキシ-4-シクロペンテン塩酸塩；(1R, 3R)-trans-1-(9-(2,6-ジアミノ)プリン]-3-アセトキシシクロペンタン；(1R, 3R)-trans-1-[9-アデニル)-3-アジドシクロペンタン塩酸塩および(1R, 3R)-trans-1-(6-ヒドロキシプリン-9-イル)-3-アジドシクロ-ペンタン。TNF結合タンパク質は、当該分野で開示される(EP308378、EP422339、GB2218101、EP393438、WO90/13575、EP398327、EP412486、WO91/03553、EP418014、JP127,800/1991、EP433900、米国特許第5,136,021号、GB2246569、EP464533、WO92/01002、WO92/13095、WO92/16221、EP512528、EP526905、WO93/07863、EP568928、WO93/21946、WO93/19777、EP417563、WO94/06476、およびPCT国際出願番号PCT/US97/12244)。

【0225】

例えば、欧州特許第393438号および同第422339号は、可溶性TNFレセプターI型(「sTNFR-I」または「30kDa TNFインヒビター」としても公知)および可溶性TNFレセプターII型(「sTNFR-II」または「40kDa TNFインヒビター」としても公知)(集合的に「sTNFR」と称する)ならびにその改変形態(例えば、フラグメント、機能的誘導体、および改変体)のアミノ酸配列および核酸配列を教示する。欧州特許第393438号および同第422339号はまた、インヒビターのコードの原因である遺伝子を単離するための方法、適切なベクターおよび細胞型でこの遺伝子をクローニングするための方法、ならびにこの遺伝子を発現させてインヒビターを産生するための方法を開示する。さらに、sTNFR-IおよびsTNFR-IIの多価形態(すなわち、1つより多くの活性部位を含む分子)もまた開示された。1つの実施形態において、多価形態は、少なくとも1つのTNFインヒビターおよび別の部分を、任意の臨床的に受容可能なリンカー(例えば、ポリエチレングリコール)と化学的にカップリングすることにより(PCT公開番号WO92/16221およびWO95/34326)、ペプチドリンカーにより(Nev eら、1996、Cytokine、8(5):365-370)、ビオチンへの化学的カップリングおよび次いでアビジンへの結合(PCT公開番号WO91/03553)により、そして最後に、キメラ抗体分子を組合わせることにより(米国特許第5,116,964号;PCT公開番号WO89/09622およびWO91/16437;ならびに欧州特許第315062号)構築され得る。

【0226】

抗TNF抗体としては、以下が挙げられる:MAK 195F Fab抗体(Hollerら、1993、1st International Symposium on Cytokines in Bone Marrow Transplantation 147)、CDP 571抗TNFモノクローナル抗体(Rankinら、1995、Br. J. Rheumatol.、34:334-342)、BAY X 1351マウス抗腫瘍壊死因子モノクローナル抗体(Kieftら、1995、7th European Congress of Clinical Microbiology and Infe

ctious Diseases 9頁); CentNF cA2抗TNFモノクローナル抗体 (Elliott ら、1994、Lancet、344:1125-1127; Elliott ら、1994、Lancet、344:1105-1110)。

【0227】

別の特定の実施形態において、本発明は、分泌または可溶性のヒト f a s 抗原またはその組換えバージョン (PCT 公開番号 WO96/20206; Mountz ら、J. Immunol.、155:4829-4837; および欧州特許第 510691 号) と組合わせた (前処置、後処置、または同時処置) IL-17 様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。PCT 公開番号 WO96/20206 は、分泌ヒト f a s 抗原 (ネイティブおよび組換え (I g 融合タンパク質を含む))、可溶性組換えヒト f a s 抗原のコードの原因である遺伝子を単離するための方法、適切なベクターおよび細胞型でこの遺伝子をクローン化するための方法、ならびにこの遺伝子を発現させてインヒビターを産生するための方法を開示する。欧州特許第 510691 号は、ヒト f a s 抗原 (可溶性 f a s 抗原を含む) をコードする DNA、この DNA を発現するためのベクター、およびこのベクターでトランスフェクトされた形質転換体を記載する。非経口的に投与される場合、分泌または可溶性の f a s 抗原融合タンパク質の用量は、それぞれ一般的に、約 1 μ g / kg ~ 約 100 μ g / kg である。

【0228】

本明細書中に列挙される疾患および障害の現在の処置は、一般的に、疼痛および炎症の制御のための第 1 の系統の薬物の使用を包含し; これらの薬物は、非ステロイド系抗炎症薬 (NSAID) として分類される。二次的な処置は、コルチコステロイド、遅い作用性の抗リウマチ薬 (SAARD)、または疾患改善 (DM) 薬を含む。以下の化合物に関する情報は、The Merck Manual of Diagnosis and Therapy 第 16 版、Merck, Sarp&Dohme Research Laboratories, Merck&Co., Rathway, N.J. (1992) and Pharmaprojects PJB Publications Ltd. に見出され

得る。

【0229】

特定の実施形態において、本発明は、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のためのIL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニスト、および1以上のNSAIDのいずれかの使用に関する。NSAIDは、その抗炎症性作用が、少なくとも部分的に、プロスタグランジン合成の阻害による(GodmanおよびGilman、The Pharmacological Basis of Therapeutics(第7版、1985))。NSAIDは、以下の少なくとも9つのグループに特徴付けられ得る：(1)サリチル酸誘導体、(2)プロピオン酸誘導体、(3)酢酸誘導体、(4)フェナム酸誘導体、(5)カルボン酸誘導体、(6)酪酸誘導体、(7)オキシカム類、(8)ピラゾール類、および(9)ピラゾロン類。

【0230】

別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のサリチル酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組合わせた(前処置、後処置、または同時処置)IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。このようなサリチル酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アセトアミノサロール(acetaminosalol)、アロキシプリン(aloxiprin)、アスピリン、ベノリレート(benorylate)、プロモサリゲニン、アセチルサリチル酸カルシウム、コリンマグネシウムトリサリチレート、サリチル酸マグネシウム、コリンサリチレート、ジフルシナル(diffusinal)、エテルサレート(etersalate)、フェンドサル(fendosal)、ゲンチシン酸、サリチル酸グリコール、イミダゾールサリチレート、リジンアセチルサリチレート、メサラミン、モルホリンサリチレート、1-ナフチルサリチレート、オルサラジン、パルサルミド(parsalimide)、アセチルサリチル酸フェニル、サリチル酸フェニル、サラセタミド(salacetamide)、サリチルアミド O-酢酸、サルサレート、サリチル酸ナトリウムおよびスルファサラジン。同様の鎮痛特性および抗炎症特性を有する構造的に関

連したサリチル酸誘導体もまた、この群に包含されることが意図される。

【0231】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のプロピオン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。プロピオン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アルミノプロフェン、ベノキサプロフェン、ブクロクス酸、カルプロフェン、デクスインドプロフェン（dexindoprofen）、フェノプロフェン、フルノキサプロフェン、フルプロフェン、フルルビプロフェン、フルクロプロフェン、イブプロフェン、イブプロフェンアルミニウム、イブプロキサム、インドプロフェン、イソプロフェン、ケトプロフェン、ロキソプロフェン（loxoprofen）、ミロプロフェン、ナプロキセン、ナプロキセンナトリウム、オキサプロジン、ピケトプロフェン、ピメプロフェン、ピルプロフェン、プラノプロフェン、プロチジン酸、ピリドキシプロフェン（pyridoxiprofen）、スプロフェン、チアプロフェン酸およびチオキサプロフェン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したプロピオン酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【0232】

なお別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上の酢酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。酢酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アセメタシン、アルクロフェナク、アムフェナク、ブフェキサマック、シンメタシン、クロピラク、デルメタシン（delmetacin）、ジクロフェナクカリウム、ジクロフェナクナトリウム、エトドラク、フェルビナク、フェンクロフェナク、フェンクロラク、フェンクロジン酸、フェンチアザク、フロフェナク、グルカメタシン、イブフェナック、インドメタシン、イソフェゾラク、イソキセパック、ロナゾラク、メチアジン

酸 (metiazinic acid)、オキサメタシン、オキシピナック (oxpinac)、ピメタシン、プログルメタシン、スリンダク、タルメタシン、チアラミド、チオピナク、トルメチン、トルメチンナトリウム、ジドメタシンおよびゾメピラク。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した酢酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【0233】

別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のフェナム酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。フェナム酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：エンフェナム酸、エトフェナマート (etofenamate)、フルフェナム酸、イソニキシン、メクロフェナム酸、メクロフェナム酸ナトリウム、メドフェナム酸 (medofenamamic acid)、メフェナム酸、ニフルム酸、タルニフルマート、テロフェナマート、トルフェナム酸およびウフェナマート (ufenamate)。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したフェナム酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【0234】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のカルボン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。使用され得るカルボン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は以下を含む：クリダナク、ジフルニサル、フルフェニサル、イノリジン (inoridine)、ケトロラクおよびチノリジン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したカルボン酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【0235】

さらに別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上の酪酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた

(前処置、後処置、または同時処置)、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。酪酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：ブマジゾン、ブチブフェン、フェンブフェンおよびキセンブシン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した酪酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【0236】

別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のオキシカム、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた(前処置、後処置、または同時処置)、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。オキシカム、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：ドロキシカム、エノリカム、イソキシカム、ピロキシカム、スドキシカム、テノキシカムおよび4-ヒドロキシル-1,2-ベンゾチアジン1,1-ジオキシド4-(N-フェニル)-カルボキサミド。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したオキシカムもまた、この群に含まれることが意図される。

【0237】

なお別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のピラゾール、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた(前処置、後処置、または同時処置)、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。使用され得るピラゾール、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は以下を含む：ジフェナミゾールおよびエピリゾール。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したピラゾールもまた、この群に含まれることが意図される。

【0238】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のピラゾロン、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた(前処置、後処置、または同時処置)、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。使用され得るピラゾロン、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アパゾン、アザプロ

パゾン、ベンズピペリロン、フェブラゾン、モフェブタゾン、モラゾン、オキシフェンブタゾン、フェニルブタゾン、ピペブゾン、プロピルフェナゾン、ラミフェナゾン、スキシブゾンおよびチアゾリノブタゾン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したピラゾロン (pyrazalone) もまた、この群に含まれることが意図される。

【0239】

別の特定の実施形態において、本発明は、以下のNSAIDの1つ以上のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する： - 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-ヒドロキシ酪酸、アミキセトリン、アニトラザフェン、アントラフェニン、ベンダザック、ベンダザックリジネート (bendazac lysinate)、ベンジダミン、ベプロジン (beprozin)、プロペラモール、ブコローム、ブフェゾラク、シブロカゾン、クロキシマート、ダジダミン、デボキサメト、デトミジン、ジフェンピラミド (difenpiramide)、ジフェンピラミド (difenpyramide)、ジフィサラミン (difisalamine)、ジタゾール、エモルファゾン、ファネチゾールメシレート、フェンフルミゾール、フロクタフェニン、フルミゾール、フルニキシシ、フルプロカゾン、フォピルトリン (fopirtoline)、フォスフォサル、グアイメサール、グアイアゾレン (guaiazolene)、イソニキシシ (isonixirn)、レフェタミンHCl、レフルノミド、ロフェミゾール、ロチファゾール、リジシクロニキシネート (lysincloxixinate)、メセクラゾン、ナブメトン、ニクチンドール、ニメスリド、オルゴテイン、オルパノキシシ、オキサセプロール、オキサパドール、パラニリン (paranyline)、ペリソキサール、クエン酸ペリソキサール、ピフォキシム、ピプロキセン (piproxen)、ピラゾラク、ピルフェニドン、プロカゾン、プロキサゾール、チエラビンB (thielavin B)、チフラミゾール、チメガジン、トレクチン、トルパドール、トリプトアミド (tryptamid) および480156S、AA861、AD1590、AFP802、AFP860、AI77B、AP504、AU

8001、BPPC、BW540C、CHINOIN 127、CN100、EB382、EL508、F1044、FK-506、GV3658、ITF182、KCNT EI6090、KME4、LA2851、MR714、MR897、MY309、ONO3144、PR823、PV102、PV108、R830、RS2131、SCR152、SH440、SIR133、SPAS510、SQ27239、ST281、SY6001、TA60、TAI-901(4-ベンゾイル-1-インダンカルボン酸)、TVX2706、U60257、UR2301およびWY41770のような会社コード番号によって登録されるようなNSAID。NSAIDに対して類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したNSAIDもまた、この群に含まれることが意図される。

【0240】

さらに別の特定の実施形態において、本発明は、リウマチ性疾患、対宿主性移植片病、および多発性硬化症のような急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、1つ以上の副腎皮質ステロイド、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた(前処置、後処置、または同時処置)、IL-17様ポリペプチド、アゴニスト、またはアンタゴニストの使用に関する。副腎皮質ステロイド、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下に由来するヒドロコルチゾンおよび化合物を含む：21-アセトキシプレグネロン、アルクロメラゾン、アルゲストン、アムシノニド、ベクロメタゾン、ベタメタゾン、ベタメタゾンバレレート、ブデソニド、クロロプレドニゾロン、クロベタゾール、クロベタゾールプロピオネート、クロベタゾン、クロベタゾンブチレート、クロコルトロン、クロプレドノール、コルチコステロン、コルチゾン、コルチバゾール、デフラザコン、デソニド、デスオキシメラゾン、デキサメタゾン、ジフロラゾン、ジフルコルトロン、ジフルプレドネート、エノキサロン、フルアザコート、フルクロロニド、フルメタゾン、フルメタゾンピバレート、フルシノロンアセトニド、フルニソリド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、フルオコルチンブチル、フルオコルトロン、フルオコルトロンヘキサノエート、ジフルコルトロンバレ

レート、フルオロメトロン、フルペロロンアセテート、フルプレドニデンアセテート、フルプレドニゾロン、フルランデノリド、ホルモコータル、ハルシノニド、ハロメタゾン、ハロプレドンアセテート、ヒドロコルタメート、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾンアセテート、ヒドロコルチゾンブチレート、ヒドロコルチゾンホスフェート、ヒドロコルチゾン21-ナトリウムスクシネート、ヒドロコルチゾンテブテート、マジプレドン、メドリゾン、メプレドニゾン、メチルプレドニソロン、モメタゾンフロエート、パラメタゾン、プレドニカルベート、プレドニゾロン、プレドニゾロン21-ジエドリアミノアセテート、プレドニゾロンナトリウムホスフェート、プレドニゾロンナトリウムスクシネート、プレドニゾロンナトリウム21-m-スルホベンゾエート、プレドニゾロン21-ステアログリコレート、プレドニゾロンテブテート、プレドニゾロン21-トリメチルアセテート、プレドニゾン、プレドニバル、プレドニリデン、プレドニリデン21-ジエチルアミノアセテート、チキソコルトール、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロンベネトニド、およびトリアムシノロンヘキサアセトニドのようなヒドロコルチゾン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した副腎皮質コルチコイドはまた、この群に含まれることが意図される。

【0241】

別の特定の実施形態において、本発明は、リウマチ性疾患、対宿主性移植片病、および多発性硬化症のような急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、1つ以上の遅効性の抗リウマチ性薬物(SAARD)または疾患改変抗リウマチ性薬物(DMARDs)、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた(前処置、後処置、または同時処置)、IL-17様ポリペプチド、アゴニスト、およびアンタゴニストの使用に関する。SAARDまたはDMARD、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下を含む:アロキュブレイドナトリウム、オーラノフィン、アウロチオグルコース、アウロチオグリカニド、アザチオプリン、ブレキナール(brequinar)ナトリウム、ブシラミン、カルシウム3-アウロチオ-2-プロパノール-1-スルホネート、クロラムブシ

ル、クロロキン、クロブザリット、キュプロキシリン、シクロホスホアミド、シクロスポリン、ダブソン、15-デオキシスペルグアリン、ジアセレイン、グルコサミン、金塩（例えば、シクロキン金塩、金ナトリウムチオマレート、金ナトリウムチオスルフェート）、ヒドロキシクロロキン、ヒドロキシクロロキンスルフェート、ヒドロキシ尿素、ケブゾン、レバミゾール、ロベンザリット、メリチン、6-メルカプトプリン、メトトレキセート、ミゾリビン、ミコフェノレートモフェチル(mofetil)、ミオラル、ナイトロジェン・マスタード、D-ペニシルアミン、ピリジノール、イミダゾール（例えば、SKNF86002およびSB203580）、ラパマイシン、チオール、サイモポエチン、およびビンクリスチン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したSAARDまたはDMARDはまた、この群に含まれることが意図される。

【0242】

さらなる実施形態において、本発明は、急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、1つ以上のCOX2インヒビター、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニスト、またはアンタゴニストの使用に関する。COX2インヒビター、プロドラッグエステル、またはそれらの薬学的に受容可能な塩の例としては、例えば、セレコキシブ(celcoxib)が挙げられる。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したCOX2インヒビターはまた、この群に含まれることが意図される。

【0243】

さらに別の特定の実施形態において、本発明は、急性および慢性炎症を含む、本明細書中に記載される疾患および障害の処置のための、1つ以上の抗菌剤、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニスト、またはアンタゴニストの使用に関する。抗菌剤としては、例えば、ペニシリン、セファロスポリンおよび他のβ-ラクタムの広範なクラス、アミノ配糖体、アゾール、キノロン類、マクロライド、リファマイシン、テトラサイクリン、ス

ルホンアミド、リンコサミド (lincosamide) ならびにポリミキシンが挙げられる。ペニシリンは、以下を含むがこれらに限定されない：ペニシリン G、ペニシリン V、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フロクサシリン、アンピシリン、アンピシリン/スルバクタム、アモキシリン、アモキシリン/クラブラン酸、ヘタシリン、シクラシリン (cyclacillin)、バカンピシリン、カルベニシリン、カルベニシリンインダニル (carbenicillin indanyl)、チカルシリン、チカルシリン/クラブラン酸、アズロシリン、メズロシリン、ピペラシリン (peperacillin)、およびメシリナム。セファロスポリンおよび他の -ラクタムとしては、以下を含むがこれらに限定されない：セファロチン、セファピリン、セファレキシン、セフラジン、セファゾリン、セファドロキシル、セファクロール、セファマンドール、セフォテタン、セフォキシチン、セルロキシム (ceruroxime)、セフォニシド、セフォラジン (ceforadine)、セフィキシム、セフォタキシム、モキサラクタム、セフチゾキシム、セトリアキソン (cetriaxone)、セフォペラゾン (cephoperazone)、セフトジジム、イミペネムおよびアズトレオナム。アミノ配糖体としては、以下を含むがこれらに限定されない：ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、アミカシン、ネチルマイシン、カナマイシンおよびネオマイシン。アゾールとしては、フルコナゾールを含むがこれに限定されない。キノロン類としては、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、エノキサシン、シプロフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシンおよびテマフロキサシンを含むがこれらに限定されない。マクロライドとしては、エリスロマイシン (erythromycin)、スピラマイシンおよびアジスロマイシンを含むがこれらに限定されない。リファマイシンとしては、リファンピンを含むがこれに限定されない。テトラサイクリンとしては、スピサイクリン (spicycline)、クオルテトラサイクリン、クロモサイクリン、デメクロサイクリン、デオキシサイクリン (deoxycycline)、グアメサイクリン (guamecycline)、リメサイクリン、メクロサイクリン、メタサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、ペニメピサイクリン、ピパサイクリン、ロリテ

トラサイクリン、サンサイクリン、セノサイクリン (senocyclin) およびテトラサイクリンを含むがこれらに限定されない。スルホンアミドとしては、スルホニルアミド、スルファメトキサゾール、スルファセタミド、スルファジアジン、スルフィソキサゾールおよびco-トリモキサゾール(トリメトプリム/スルファメトキシキサゾール)を含むがこれらに限定されない。リンコサミドとしては、クリンダマイシンおよびリンコマイシンを含むがこれらに限定されない。ポリミキシン(ポリペプチド)としては、ポリミキシンBおよびコリスチンを含むがこれらに限定されない。

【0244】

(IL-17様ポリペプチド組成物および投与)

治療組成物は、本発明の範囲内である。このようなIL-17様ポリペプチド薬学的組成物は、治療有効量のIL-17様ポリペプチドまたはIL-17様核酸分子を、投与の様式と適合するように選択された薬学的にまたは生理学的に受容可能な処方薬剤との混合物中に、含み得る。薬学的組成物は、治療有効量の1以上のIL-17様ポリペプチド選択的結合因子を、投与の様式と適合するように選択された薬学的にまたは生理学的に受容可能な処方薬剤との混合物中に、含み得る。受容可能な処方物材料は、好ましくは、使用される投薬量および濃度で、レシピエントに対して非毒性である。

【0245】

薬学的組成物は、例えば、pH、浸透圧、粘度、清澄性、色、等張性、において、無菌性、安定性、解離または放出の速度、吸着、または組成物の浸透を改変、維持または保存するための処方物材料を含み得る。適切な処方物材料としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：アミノ酸(例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、またはリジン)、抗菌剤、抗酸化剤(例えば、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウム、または亜硫酸水素ナトリウム(sodium hydrogen-sulfite))、緩衝液(例えば、ホウ酸塩、炭酸水素塩、Tris-HCl、クエン酸塩、リン酸塩、または他の有機酸)、バルキング剤(例えば、マンニトールまたはグリシン)、キレート化剤(エチレンジアミン四酢酸(EDTA))、複合体化剤(例えば、カフェイン、ポリビ

ニルピロリドン、 β -シクロデキストリン、またはヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン)、フィラー、単糖類、二糖類、および他の炭水化物(例えば、グルコース、マンノースまたはデキストリン)、タンパク質(例えば、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン)、着色剤、味付け剤および希釈剤、乳化剤、親水性ポリマー(例えば、ポリビニルピロリドン)、低分子量ポリペプチド、塩形成対イオン(例えば、ナトリウム)、保存剤(例えば、塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサール、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸、または過酸化水素)、溶媒(例えば、グリセリン、プロピレングリコール、またはポリエチレングリコール)、糖アルコール(例えば、マンニトールまたはソルビトール)、懸濁剤、表面活性剤または湿潤剤(例えば、プルオニック(pluronic); PEG; ソルビタンエステル; ポリソルビテート(例えば、polysorbate 20またはpolysorbate 80); トリトン; トロメタミン; レシチン; コレステロールまたはチロキサポール(tyloxapal))、安定性増強剤(例えば、スクロースまたはソルビトール)、張度増強剤(例えば、ハロゲン化アルカリ金属(好ましくは塩化ナトリウムまたは塩化カリウム)、またはマンニトールソルビトール)、送達ビヒクル、希釈剤、賦形剤および/または薬学的なアジュバント。Remington's Pharmaceutical Sciences(第18版, A. R. Gennaro, 編, Mack Publishing Company [1990]を参照のこと。)

最適な薬学的組成物は、当業者によって、例えば、意図される投与経路、送達形式、および所望の投薬量に依存して決定される。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 前出を参照のこと。このような組成物は、IL-17様分子の、物理的な状態、安定性、インビボ放出の速度、およびインビボクリアランスの速度に影響し得る。

【0246】

薬学的組成物における主要なビヒクルまたはキャリアは、本来水性または非水性のいずれかであり得る。例えば、注入のための適切なビヒクルまたはキャリアは、水、生理学的な生理食塩水溶液、または人工脳脊髄液であり、おそらく非経

口投与のための組成物において一般的なタンパク質の材料で補充されている。中性の緩衝化生理食塩水または血清アルブミンと混合された生理食塩水は、さらなる例示的なビヒクルである。他の例示的な薬学的組成物は、約pH7.0 - 8.5のTris緩衝液または約pH4.0 - 5.5の酢酸塩緩衝液を含み、これはさらに、ソルビトールまたは適切な置換物を含み得る。本発明の1つの実施形態において、IL-17様ポリペプチド組成物は、所望の程度の純度を有する選択された組成物を、任意の処方薬剤(Remington's Pharmaceutical Sciences, 前出)と混合することによって、凍結乾燥ケーキまたは水溶液の形態で、保存のために調製され得る。さらに、IL-17様ポリペプチド産物は、スクロースのような適切な賦形剤を使用して凍結乾燥物として処方され得る。

【0247】

このIL-17様ポリペプチドの薬学的組成物は、非経口送達のために選択され得る。あるいは、これらの組成物は、吸入または消化管を介する送達(例えば、経口的に)のために、選択され得る。このような薬学的に受容可能な組成物の調製は、当該分野の技術内にある。

【0248】

処方成分が、投与の部位に受容可能な濃度で存在する。例えば、緩衝液は、生理学的pHまたは多少より低いpH(典型的に、約5~約8のpH範囲内)にこの組成物を維持するために使用される。

【0249】

非経口投与が意図される場合、本発明における使用のための治療組成物は、薬学的に受容可能なビヒクルに所望のIL-17様分子を含む発熱物質を含まない非経口的に受容可能な水溶液の形態であり得る。非経口注入のために特に適切なビヒクルは、滅菌蒸留水であり、ここで、IL-17様分子が、滅菌で、等張溶液として処方され、適切に保存される。なお別の調製は、所望の分子と、薬剤(例えば、注入可能なマイクロスフィア、生体侵食(bio-erodible)薬剤、ポリマー化合物(ポリ乳酸またはポリグリコール酸)、ビーズまたはリポソーム)との処方物に関連し得、これは、次いで蓄積注射を介して送達され得る産

物の制御されたまたは持続された放出を提供する。ヒアルロン酸がまた、使用され得、そしてこれは、循環において、維持された持続時間を促進する効果を有し得る。所望の分子の導入のための他の適切な手段は、移植可能な薬物送達デバイスを含む。

【0250】

(1) 遅放出处方物 (slow-release formulation)、(2) 吸入霧 (inhalant mist)、または(3) 経口活性処方物のような薬学的処方物はまた、想定される。IL-17様分子薬学的処方物は、一般に非経口投与で処方される。このような非経口投与される治療組成物は、典型的に、薬学的に受容可能なビヒクルに所望のIL-17様分子を含む発熱物質を含まない非経口的に受容可能な水溶液の形態であり得る。IL-17様分子薬学的組成物はまた、ポリ乳酸、ポリグリコール酸などのようなポリマー化合物の粒子性の調製物、ならびにリポソームへの分子の導入を含む。ヒアルロン酸はまた、使用され得、そしてこれは、循環において、維持された持続時間を促進する効果を有し得る。

【0251】

1つの実施形態において、薬学的組成物は、吸入剤として処方され得る。例えば、IL-7様ポリペプチドは、吸入剤の乾燥パウダーとして処方され得る。IL-7様ポリペプチドまたはIL-7様核酸分子の吸入溶液はまた、エアロゾル送達のために液化された噴霧剤と共に処方され得る。なお別の実施形態において、溶液は、噴霧され得る。肺投与は、化学的改変タンパク質の肺送達を記載するPCT出願番号PCT/US94/001875にさらに記載される。

【0252】

特定の処方物が、経口投与され得ることがまた意図される。本発明の1つの実施形態において、このよう様式で投与されるIL-17様ポリペプチドが、固体投薬形態(例えば、錠剤またはカプセル)の調合において慣用的に使用されるキャリアを伴うか、または伴わず処方され得る。例えば、カプセルは、バイオアベイラビリティが最大化され、そして前全身分解が最小化される場合、胃腸管内での点で処方物の活性部分を放出するように設計され得る。さらなる薬剤が、I

L - 17 様ポリペプチドの吸収を容易にするために含まれ得る。希釈剤、味付け剤、低融点ワックス、植物油、潤滑剤、懸濁剤、錠剤崩壊剤、およびバインダーがまた、使用され得る。

【0253】

別の薬学的組成物は、錠剤の製造に適切な非毒性賦形剤との混合物中に、有効量のIL - 17 様ポリペプチドを含み得る。錠剤を滅菌水または他の適切なビヒクルに溶解することによって、溶液が、単位用量形態で調製され得る。適切な賦形剤は以下を含むが、これらに限定されない：不活性な希釈剤（炭酸カルシウム、炭酸ナトリウムまたは炭酸水素ナトリウム、ラクトース、あるいはリン酸カルシウム）；または結合剤（例えば、デンプン、ゼラチンまたはアラビアゴム）；あるいは潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸またはタルク）。

【0254】

さらなるIL - 17 様ポリペプチドの処方物は、当業者に明らかであり、持続または制御送達処方物中にIL - 17 様ポリペプチドを含む処方物を含む。種々の他の持続または制御送達手段（例えば、リポソームキャリア、生体侵食マイクロスフィアあるいは多孔性ビーズおよび蓄積注射）を処方するための技術はまた、当業者に公知である。例えば、PCT / US 93 / 00829（これは、薬学的組成物の送達のための多孔性ポリマー性マイクロ粒子の制御放出を記載する）を参照のこと。徐放性調製物のさらなる例としては、成形された物品の形態（例えば、フィルム、またはマイクロカプセル）の半透過性ポリマーマトリックスを含む。徐放性マトリックスとしては、ポリエステル、ヒドロゲル、ポリラクチド（米国特許第3,773,919号および欧州特許第058481号）、L - グルタミン酸とエチル - L - グルタメートとのコポリマー（Sidmanら, *Bio polymers* 22:547-56(1983)）、ポリ(2 - ヒドロキシエチル - メタクリレート)（Langerら, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277(1981)およびLanger, *Chem. Tech.* 12:98-105(1982)）、エチレンビニルアセテート（Langerら, 前出）またはポリ - D(-) - 3 - ヒドロキシ酪酸（欧州特許第

133988号)。徐放性組成物はまた、リポソームを含み得、これは、当該分野で公知のいくつかの方法のいずれかによって調製され得る。例えば、E p p s t e i nら、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 82:3688-3692(1985)；および欧州特許第036676号、同第088046号、および同第143949号を参照のこと。

【0255】

インビボ投与のために使用されるIL-17様の薬学的組成物は、典型的には滅菌でなければならない。このことは、滅菌濾過膜を介する濾過によって達成され得る。組成物が、凍結乾燥される場合、この方法を使用する滅菌は、凍結乾燥および再構成の前に、またはそれに続いてのいずれかで実施され得る。非経口投与のための組成物は、凍結乾燥された形態または溶液で保存され得る。さらに、非経口組成物は、一般に、滅菌アクセスポートを有する容器（例えば、静脈内溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有するバイアル）内に配置される。

【0256】

一旦、薬学的組成物が処方されると、それは、滅菌バイアル中に溶液、懸濁液、ゲル、エマルジョン、固体、または脱水和粉末または凍結乾燥粉末として保存され得る。このような処方物は、すぐに使用できる形態または投与の前に再構成を必要とする形態（凍結乾燥された形態）のいずれかで保存され得る。

【0257】

特定の実施形態において、本発明は、単一用量投与単位を生成するためのキットに関する。このキットは、各々、乾燥タンパク質を有する第一の容器および水性処方物を有する第二の容器の両方を含み得る。また、本発明の範囲内には、単一および多チャンバーの予め充填されたシリンジ（例えば、液体シリンジおよび分散シリンジ（l y o s y r i n g e））を含むキットが含まれる。

【0258】

治療的に使用されるIL-17様の薬学的組成物の有効量は、例えば、治療の内容および目的に依存する。従って、当業者は、処置のための適切な投薬レベルが、送達される分子、IL-17様分子が使用されている指標、投与の経路、お

および患者のサイズ（体重、体表面、または器官の大きさ）および状態（年齢および一般的な健康）に、部分的に依存して変化することを理解する。従って、臨床医は、最適な治療効果を得るために、投薬量を力価決定し（*titer*）、投与経路を改変し得る。代表的な投薬量は、上記の因子に依存して、約 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ 約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ 以上までの範囲であり得る。他の実施形態において、投薬量は、 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ 約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ まで；または $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ 約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ まで； $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ 約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ まで； $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ 約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ までの範囲であり得る。

【0259】

投薬の頻度は、使用される処方物中での IL - 17 様分子の薬物動態学のパラメータに依存する。典型的に、臨床医は、所望の効果を達成する投薬量に達するまで組成物を投与する。組成物は、従って、組成物は、経時的な単一用量として、2以上の用量（これは、同量の所望の分子を含んでも、含まなくてもよい）として、あるいは移植デバイスまたはカテーテルを介する連続的な注入として、投与され得る。適切な投薬量のさらなる改良は、当業者によって慣用的になされ、そしてそれらによって慣用的に実施される課題の範囲内である。適切な投薬量は、適切な用量 - 応答データの使用を介して確認され得る。

【0260】

薬学的組成物の投与の経路は、例えば、以下のような公知の方法と一致する：経口的に；静脈内、腹腔内、脳内（実質内の）、脳室内、筋肉内、眼内、動脈内、門脈内、または病巣内の経路による注入を介して；徐放性系によって；または移植デバイスによって。所望される場合、これらの組成物は、ボラス注射によって直接的に投与され得るか、または注入によって直接的に連続投与され得るか、または移植デバイスによって直接的に投与され得るか、または連続注入を使用するカテーテルを介して直接的に投与され得る。

【0261】

あるいはまたはさらに、この組成物は、所望される分子が吸収されるかまたはカプセル化される膜、海綿質、または他の適切な材料の影響する領域への移植を介して局所的に投与される。移植デバイスが使用される場合、このデバイスは任

意の適切な組織または器官に移植され得、そして所望の分子の送達は、デバイスに通って直接的に、拡散、時間放出性ボラス投与または連続投与を介して、または連続注入を使用するカテーテルを介して移植され得る。 るい

IL - 17様ポリペプチド(フラグメント、変異体、および誘導体を含む)は、単独または、一緒に、または他のポリペプチドおよび薬学的組成物と組み合わせ使用され得ることがさらに理解される。例えば、IL - 17様ポリペプチドはまた、処置される状態に適切であるように、1つ以上のサイトカイン、増殖因子、抗生物質、抗炎症剤および/または化学療法剤と組み合わせ使用され得る。

【0262】

いくつかの場合において、エキソビボ様式において、IL - 17様の薬学的組成物を使用することが所望され得る。このような例において、患者から除去された細胞、組織、または器官は、これらの細胞、組織、または器官が引き続いて患者に移植して戻された後にIL - 17様の薬学的組成物にポリペプチドに曝露される。

【0263】

他の場合において、IL - 17様ポリペプチドは、本明細書中に記載される方法を使用して、遺伝的に操作されて、IL - 17様ポリペプチドを発現および分泌する特定の細胞を移植することによって送達され得る。このような細胞は、動物またはヒト細胞であり得、そして自己、異種、または外因性の細胞であり得る。必要に応じて、細胞は、不死化され得る。免疫学的応答の機会を減少するために、細胞は、周囲の組織の浸潤を回避するために、カプセル化され得る。カプセル化材料は、典型的に、生体適合性の半浸透性ポリマー性包囲物または膜であり、これらは、タンパク質産物の放出を可能にするが、患者の免疫系または周囲の組織からの他の有害な因子による細胞の破壊を防止する。

【0264】

本発明のさらなる実施形態は、治療ポリペプチドのインビトロ産生と、遺伝子治療または細胞治療による治療ポリペプチドの産生および送達との両方のための、細胞および方法(例えば、相同組換えおよび/または他の組換え産生方法)に

関する。

【0265】

IL-17様ポリペプチドが、相同組換えによってインビボまたはインビトロにおいて産生され得るか、またはIL-17様ポリペプチドをコードするDNAをすでに含む細胞に導入された制御エレメントを使用する組換え産生方法と組み合わせることでインビボまたはインビトロにおいて産生され得る。例えば、相同組換えおよび他の組換えの方法を使用して、通常は転写に対してサイレントなIL-17様遺伝子（すなわち、過少発現される遺伝子）を含む細胞を改変し得、これによって、治療有効量のIL-17様ポリペプチドを発現する細胞を産生し得る。

【0266】

相同組換えは、もともとは、遺伝子を標的化して転写活性な遺伝子における変異を誘導するか、または修正するために開発された技術である。Kucherlapati, *Prog. in Nucl. Acid Res. & Mol. Biol.* 36:301 (1989)。基本的な技術が、特定の変異を哺乳動物ゲノムの特定の領域に導入するため(Thomasら, *Cell* 44:419-428 (1986); ThomasおよびCapecchi, *Cell* 51:503-512 (1987); Doetschmanら, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:8583-8587 (1988))、または欠損遺伝子における特定の変異を修正するため(Doetschmanら, 1987, *Nature* 330:576-578)の方法として、開発された。例示的な相同組換え技術は、米国特許第5,272,071号; 欧州特許第9193051号および同第505500号; PCT/US90/07642、ならびにPCT公開番号WO 91/09955)に記載されている。

【0267】

相同組換えによって、ゲノムに挿入されるべきDNA配列は、このDNA配列に標的化DNAを結合することによって、目的の遺伝子の特定の領域に指向され得る。この標的化DNAは、ゲノムDNAの領域に相補的(相同)であるヌクレオチド配列である。ゲノムの特定の領域に対して相補的な標的化DNAの小さな断片は、DNA複製プロセスの間に親鎖と接触される。これは、細胞に挿入され

て、共有される相同領域を介して内因性DNAの他の断片とハイブリダイズし、そして従って、その内因性DNAの他の断片と組み換わる、DNAの一般的特性である。この相補鎖に、変異または異なる配列あるいはさらなるヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドが結合される場合には、このオリゴヌクレオチドもまた、この組換えの結果としてその新たに合成された鎖に組み込まれる。ブルーフリーディング機能の結果として、DNAのこの新たな配列がテンプレートとして働くことが可能である。従って、この移入されたDNAは、ゲノムに組み込まれる。

【0268】

IL-17様ポリペプチドと相互作用し得るかまたはその発現を制御し得るDNAの領域（例えば、隣接配列）に、標的化DNAのこれらの断片を結合する。例えば、プロモーター/エンハンサーエレメント、サプレッサー、または外因性転写調節エレメントが、意図される宿主細胞のゲノムにおいて、所望のIL-17様ポリペプチドをコードするDNAの転写に影響を与えるに十分な近接性および方向で、挿入される。制御エレメントは、この宿主細胞ゲノムに存在するDNAの一部を制御する。従って、所望のIL-17様ポリペプチドの発現は、IL-17様遺伝子自体をコードするDNAのトランスフェクションによってではなく、むしろ、IL-17様遺伝子の転写のための認識可能なシグナルを有する内因性遺伝子配列を提供するDNA調節セグメントと結合した標的DNA（目的の内因性遺伝子と相同の領域を含む）の使用によって、達成され得る。

【0269】

例示的な方法において、細胞における所望の標的遺伝子（すなわち、所望の内因性細胞遺伝子）の発現は、予め選択された部位における細胞ゲノムへの相同組換えを介して、少なくとも調節配列、エキソン、およびスプライドナー部位を含むDNAの導入によって、変更される。これらの構成成分は、これが実際に新たな転写単位の産生を実際に生じるような様式で、染色体（ゲノム）DNAに導入される（ここで、このDNA構築物に存在する調節配列、エキソン、およびスプライドナー部位は、内因性遺伝子に作動可能に連結される）。染色体DNAへのこれらの構成成分の導入の結果として、所望の内因性遺伝子の発現が変化す

る。

【0270】

本明細書中で記載されるように、変化された遺伝子発現は、得られたままの細胞において通常にはサイレントな（発現されていない）遺伝子を活性化すること（または発現させること）、ならびに得られたままの細胞において生理学的に有意なレベルでは発現されない遺伝子の発現を増加させることを包含する。この実施形態はさらに、調節または誘導のパターンを変化させる工程を包含し、その結果、このパターンは、得られたままの細胞において生じる調節または誘導のパターンとは異なり、そしてその得られたままの細胞において発現される遺伝子の発現を減少（排除を含む）させる。

【0271】

細胞の内在性IL-17様遺伝子からのIL-17様ポリペプチドの産生を増加するかまたはこれを引き起こすために相同組換えが使用され得る、1つの方法は、最初に、相同性組換えを使用して、部位特異的組換え系由来の組換え配列（例えば、Cre/loxP、FLP/FRT）（Sauer, Current Opinion In Biotechnology, 5:521-527, 1994; Sauer, Methods In Enzymology, 225:890-900, 1993）を、その細胞の内在性ゲノムIL-17様ポリペプチドコード領域の上流（すなわち、5'側）に配置する工程を包含する。ゲノムIL-17様ポリペプチドコード領域のすぐ上流に配置されたこの部位に対して相同性の組換え部位を含むプラスミドは、適切なリコンビナーゼ酵素と共に、その改変された細胞株に導入される。このリコンビナーゼは、このプラスミドを、このプラスミドの組換え部位を介して、この細胞株のゲノムIL-17様ポリペプチドコード領域のすぐ上流に位置するその組換え部位に組み込む（BaubonisおよびSauer, Nucleic Acids Res. 21:2025-2029, 1993; O'Gormanら, Science 251:1351-1355, 1991）。転写を増加させることが知られている任意の隣接配列（例えば、エンハンサー/プロモーター、イントロン、翻訳エンハンサー）は、このプラスミド中に適切に配置される場合、細胞の内在性IL-17様遺

伝子からの新たなまたは増加したIL-17様ポリペプチド産生を生じる、新たなまたは改変された転写単位を作製するような様式で組み込む。

【0272】

部位特異的組換え配列が細胞の内在性ゲノムIL-17様ポリペプチドコード領域のすぐ上流に配置された細胞株を使用するさらなる方法は、相同組換えを使用して細胞株のゲノムの他の位置に第2の組換え部位を導入することである。次いで、適切なリコンビナーゼ酵素が、この二組換え部位細胞株に導入され、組換え事象(欠失、反転、転移)を生じ(Sauer, Current Opinion In Biotechnology, 前出, 1994; Sauer, Methods In Enzymology, 前出, 1993)、これは、その細胞の内在性IL-17様遺伝子からの新規なまたは増加したIL-17様ポリペプチド産生を生じる、新しいかまたは改変された転写単位を作製する。

【0273】

細胞の内在性IL-17様遺伝子からのIL-17様ポリペプチドの発現を増加するため、または引き起こすためのさらなるアプローチは、細胞の内在性IL-17様遺伝子からの新たなまたは増加したIL-17様ポリペプチドの産生を生じる様式で、遺伝子(単数または複数)(例えば、転写因子)の発現を増加するかまたは引き起こす工程、および/または遺伝子(単数または複数)(例えば、転写リプレッサー)の発現を減少する工程を包含する。この方法は、天然に存在しないポリペプチド(例えば、転写因子ドメインに融合した部位特異的DNA結合ドメインを含むポリペプチド)を、その細胞の内在性IL-17様遺伝子からの新たなまたは増加したIL-17様ポリペプチドの産生が起こるように、細胞に導入する工程を包含する。

【0274】

本発明はさらに、標的遺伝子の発現を変化させる方法において有用なDNA構築物に関する。特定の実施形態において、代表的なDNA構築物は、以下を含む:(a)1つ以上の標的化配列、(b)調節配列、(c)エクソン、および(d)不對スプライスドナー部位。DNA構築物中の標的化配列は、細胞中の標的遺伝子へのエレメント(a)~(d)の組込みを指向し、その結果、これらのエレ

メント (b) ~ (d) が、その内在性標的遺伝子の配列に作動可能に連結される。別の実施形態において、DNA構築物は、以下を含む：(a) 1つ以上の標的化配列、(b) 調節配列、(c) エキソン、(d) スプライドナー部位、(e) イントロン、および(f) スプライスアクセプター部位。ここで、標的化配列は、エレメント (a) ~ (f) の組込みを指向し、その結果、これらのエレメント (b) ~ (f) が、その内在性遺伝子に作動可能に連結される。この標的化配列は、相同組換えが生じる細胞染色体DNAの予め選択された部位に対して相同性である。この構築物において、エキソンは、一般的に、調節配列の3'側であり、そしてスプライドナー部位は、このエキソンの3'側である。

【0275】

特定の遺伝子の配列（例えば、本明細書中で記載されるIL-17様ポリペプチドの核酸配列）が公知である場合、この遺伝子の選択された領域に対して相補的なDNAの断片が、合成され得るか、またはそうでなければ、例えば、目的の領域に結合している特定の認識部位におけるそのネイティブのDNAの適切な制限処理によって得られ得る。この断片は、細胞に挿入された際に、標的化配列として働き、そしてそのゲノム内の相同性領域にハイブリダイズする。このハイブリダイゼーションが、DNA複製の間に生じる場合、このDNAの断片、およびそれに結合した任意のさらなる配列は、岡崎フラグメントとして作用し、そしてDNAの新たに合成された娘鎖に組み込まれる。従って、本発明は、IL-17様分子をコードするヌクレオチドを含み、このヌクレオチドは、標的化配列として使用され得る。

【0276】

IL-17様ポリペプチド細胞治療（例えば、IL-17様ポリペプチドを産生する細胞の移植）もまた企図される。この実施形態は、生物学的に活性な形態のIL-17様ポリペプチドを合成および分泌し得る細胞を移植する工程を包含する。このようなIL-17様ポリペプチド産生細胞は、IL-17様ポリペプチドの天然の産生者である細胞であり得るか、またはそのIL-17様ポリペプチドを産生する能力が、所望のIL-17様ポリペプチドをコードする遺伝子またはIL-17様ポリペプチドの発現を増大する遺伝子で形質転換することによ

って増大された、組換え細胞であり得る。このような改変は、遺伝子を送達しそしてその遺伝子の発現および分泌を促進するために適切なベクターによって達成され得る。IL-17様ポリペプチドを投与されている患者における強力な免疫学的反応を最小化するために、外来種のポリペプチドの投与と共に生じ得る場合、IL-17様ポリペプチドを産生する天然の細胞が、ヒト起源であり、そしてヒトIL-17様ポリペプチドを産生することが好ましい。同様に、IL-17様ポリペプチドを産生する組換え細胞が、ヒトIL-17様ポリペプチドをコードする遺伝子を含む発現ベクターで形質転換されることが好ましい。

【0277】

移植細胞は、周辺組織の浸潤を回避するようにカプセル化され得る。ヒトまたは非ヒト動物細胞は、生体適合性の半透性ポリマー封入物または膜（これは、IL-17様ポリペプチドの放出を可能にするが、患者の免疫系によるかまたは周辺組織からの他の有害な因子による細胞の崩壊を防止する）において患者に移植され得る。あるいは、IL-17様ポリペプチドをエキソビボで産生するように形質転換された患者自身の細胞が、このようなカプセル化なしで、患者に直接移植され得る。

【0278】

生きた細胞をカプセル化するための技術は当該分野で公知であり、そしてカプセル化された細胞の調製およびそれらの患者への移植は、慣用的に達成され得る。例えば、Baetgeら（PCT公開WO95/05452およびPCT/US94/09299）は、生物学的に活性な分子の効果的な送達のために遺伝子操作された細胞を含む膜カプセルを記載する。このカプセルは、生体適合性であり、そして容易に回収可能である。このカプセルは、生物学的に活性な分子をコードするDNA配列を含む組換えDNA分子でトランスフェクトされた細胞をカプセル化し、このDNA配列は、哺乳動物宿主細胞に移植された際にインビボで下方制御に供されないプロモーターに作動可能に連結されている。このデバイスは、レシピエント内の特定の部位への生きた細胞由来の分子の送達を提供する。さらに、米国特許第4,892,538号；同第5,011,472号；および同第5,106,627号を参照のこと。生きた細胞をカプセル化するためのシ

ステムは、PCT公開WO91/10157(Aebischerら)に記載される。PCT公開WO91//10155(Aebischerら);Winnら、Exper.Neurol.113:322-329,(1991);Aebischerら、Exper.Neurol.111:269-275,(1991);およびTrescoら、ASAIO 38:17-23,(1992)もまた参照のこと。

【0279】

IL-17様ポリペプチドのインビボおよびインビトロの遺伝子治療送達もまた想定される。遺伝子治療技術の一例は、構成的または誘導性プロモーターに作動可能に連結され得るIL-17様ポリペプチドをコードするIL-17様遺伝子(ゲノムDNA、cDNAおよび/または合成DNAのいずれか)を使用して、「遺伝子治療DNA構築物」を形成することである。このプロモーターは、内在性IL-17様遺伝子に対してホモ接合性またはヘテロ接合性であり得るが、ただし、これは、構築物が挿入される細胞または組織型において活性である。遺伝子治療DNA構築物の他の成分は、必要に応じて、部位特異的組込みのために設計されるDNA分子(例えば、相同組換えのために有用な内在性配列)、組織特異的プロモーター、エンハンサーまたはサイレンサー、親細胞を超える選択的優性を提供し得るDNA分子、形質転換された細胞を同定するための標識として有用なDNA分子、ネガティブ選択系、細胞特異的結合因子(例えば、細胞標的化について)、細胞特異的内部移行因子、ベクターからの発現を増大する転写因子、およびベクターの産生を可能にする因子を含み得る。

【0280】

遺伝子治療DNA構築物は、次いで、ウイルスベクターまたは非ウイルスベクターを使用して細胞に導入され得る(エキソビボまたはインビボのいずれか)。遺伝子治療DNA構築物を導入するための1つの方法は、本明細書中に記載されるようなウイルスベクターの使用による。特定のベクター(例えば、レトロウイルスベクター)は、DNA構築物を細胞の染色体DNAに送達し、そしてこの遺伝子は、染色体DNAに組み込まれ得る。他のベクターは、エピソームとして機能し、そして遺伝子治療DNA構築物は、細胞質に残る。

【0281】

なお他の実施形態において、調節エレメントが、標的細胞におけるIL-17様遺伝子の制御された発現のために含まれ得る。このようなエレメントは、適切なエフェクターに応答して刺激される。このようにして、治療的ポリペプチドは、所望の場合に発現され得る。1つの従来の制御手段は、低分子結合ドメインおよび生物学的プロセスを開始し得るドメインを含むキメラタンパク質（例えば、DNA結合タンパク質または転写活性タンパク質）を二量化する低分子二量化剤またはラパログ（rapalog）の使用を包含する（PCT公開WO96/41865（PCT/US96/099486）、WO97/31898（PCT/US97/03137）およびWO97/31899（PCT/US95/03157）を参照のこと）。タンパク質の二量化は、IL-17様遺伝子の転写を開始するために使用され得る。

【0282】

代替の調節技術は、目的の遺伝子から発現されたタンパク質を、凝集体またはクラスターとして細胞の内側に貯蔵する方法を使用する。目的の遺伝子は、小胞体における凝集タンパク質の保持を生じる、条件的凝集ドメインを含む融合タンパク質として発現される。貯蔵されたタンパク質は安定であり、そして細胞の内側で不活性である。しかし、このタンパク質は、薬物（例えば、低分子リガンド）を投与することによって放出され得る。この薬物は、この条件的凝集ドメインを除去し、それにより、凝集体またはクラスターを特異的に破壊し、その結果、このタンパク質は細胞から分泌され得る。Science 287:816-17およびScience 287:826-30, (2000)を参照のこと。

【0283】

他の適切な制御手段または遺伝子スイッチとしては、本明細書中で記載される系が挙げられるが、これらに限定されない。Mifepristone（RU486）は、プロゲステロンアンタゴニストとして使用される。改変されたプロゲステロンレセプターリガンド結合ドメインのプロゲステロンアンタゴニストへの結合は、2つの転写因子のダイマーを形成し、これらが、次いで、核を通過してDNAを結合することによって、転写を活性化する。このリガンド結合ドメインは

、天然のリガンドに結合するレセプターの能力を排除するように改変される。改変されたステロイドホルモンレセプター系はさらに、米国特許第5,364,791号、ならびにPCT公開WO96/40911およびWO97/10337に記載される。

【0284】

なお別の制御系は、エクジソンレセプター（細胞質レセプター）に結合しそしてこれを活性化する、エクジソン（ショウジョウバエステロイドホルモン）を使用する。次いで、このレセプターは核に転移し、特定のDNA応答エレメント（エクジソン応答性遺伝子由来のプロモーター）に結合する。エクジソンレセプターは、トランス活性化ドメイン/DNA結合ドメイン/リガンド結合ドメインを含み、転写を開始する。エクジソン系はさらに、米国特許第5,514,578、およびPCT公開WO97/38117、WO96/37609、およびWO93/03162に記載される。

【0285】

別の制御手段は、陽性テトラサイクリン制御可能トランス活性化因子を使用する。この系は、転写を活性化するポリペプチドに連結された変異したtetリプレッサータンパク質DNA結合ドメイン（逆テトラサイクリン制御トランス活性化因子タンパク質を生じた変異したtetR-4アミノ酸の変化、すなわち、これは、テトラサイクリンの存在下でtetオペレーターに結合する）を含む。このような系は、米国特許第5,464,758号、同第5,650,298号、および同第5,654,168号に記載される。

【0286】

さらなる発現制御系および核酸構築物は、米国特許第5,741,679号および同第5,834,186号（Innovir Laboratories Inc.）に記載される。

【0287】

インビボ遺伝子治療は、IL-17様ポリペプチドをコードする遺伝子を、IL-17様核酸分子の局所注射によって、または他の適切なウイルスもしくは非ウイルス送達ベクターによって、細胞に導入することにより達成され得る。He

fti, *Neurobiology* 25:1418-1435, (1994)。
例えば、IL-17様ポリペプチドをコードする核酸分子は、標的細胞への送達のためのアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターに含まれ得る(例えば、Johnson, PCT公開WO95/34670; PCT出願PCT/US95/07178を参照のこと)。組換えAAVゲノムは、典型的に、機能的プロモーターおよびポリアデニル化配列に作動可能に連結されたIL-17様ポリペプチドをコードするDNA配列に隣接する、AAV逆末端反復を含む。

【0288】

代替の適切なウイルスベクターとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、レンチウイルス、肝炎ウイルス、パルボウイルス、パポバウイルス、ポックスウイルス、アルファウイルス、コロナウイルス、ラブドウイルス、パラミクソウイルス、および乳頭腫ウイルスベクターが挙げられるがこれらに限定されない。米国特許第5,672,344号は、組換え神経栄養性HSV-1ベクターを含むインビボウイルス媒介遺伝子移入系を記載する。米国特許第5,399,346号は、治療タンパク質をコードするDNAセグメントを挿入するためにインビトロで処置されたヒト細胞の送達によって、治療タンパク質を患者に提供するためのプロセスの例を提供する。遺伝子治療技術の実施のためのさらなる方法および材料は、米国特許第5,631,236号(アデノウイルスベクターを含む)、同第5,672,510号(レトロウイルスベクターを含む)、同第5,635,399号(サイトカインを発現するレトロウイルスベクターを含む)に記載される。

【0289】

非ウイルス送達法としては、リポソーム媒介送達、裸のDNA送達(直接注射)、レセプター媒介移入(リガンド-DNA複合体)、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈降、および微粒子ボンバードメント(例えば、遺伝子銃)が挙げられるが、これらに限定されない。遺伝子治療材料および方法はまた、誘導性プロモーター、組織特異的エンハンサー-プロモーター、部位特異的組込みのために設計されたDNA配列、親細胞を越える選択的優性を提供し得るDNA配列、形質転換された細胞を同定するための標識、ネガティブな選択系および発

現制御系（安全性の指標）、細胞特異的結合因子（細胞ターゲティングのため）、細胞特異的内部移行因子、およびベクターならびにベクター製造の方法による発現を増大する転写因子を含み得る。遺伝子治療技術の実施のためのこのようなさらなる方法および材料は、米国特許第4,970,154号（エレクトロポレーション技術を含む）、PCT公開WO96/40958（核リガンドを含む）、同第5,679,559号（遺伝子送達のためのリポタンパク質含有系を記載する）、同第5,676,954号（リポソームキャリアを含む）、同第5,593,875号（リン酸カルシウムトランスフェクションのための方法を記載する）、および同第4,945,050号（生物学的に活性な粒子がある速度で細胞に噴霧され、それによりこの粒子がこの細胞の表面に浸透し、そしてこの細胞の内側に組み込まれるプロセスを記載する）に記載される。

【0290】

IL-17様遺伝子治療または細胞治療はさらに、同じか異なる細胞（単数または複数）における1つ以上のさらなるポリペプチド（単数または複数）の送達を含み得ることもまた企図される。例えば、宿主細胞は、IL-7様ポリペプチドおよび以下の少なくとも1つ：IL-1ra、sTNFr I型、sTNFr II型、およびそれらの誘導体：セリン白血球プロテアーゼインヒビター（SLPI）、オステオプロトゲリン（OPG）；および抗TNF抗体、抗IL-1抗体、およびそれらの誘導体の両方を発現し、放出するように改変され得る。

【0291】

このような細胞は、患者に別々に導入され得るか、この細胞は、単一の移植可能デバイス（例えば、上記のカプセル化膜）に含められ得るか、あるいはこの細胞は、ウイルスベクターによって別々に改変され得る。

【0292】

遺伝子治療による細胞における内在性IL-17様ポリペプチドの発現を増加する手段は、IL-17様ポリペプチドプロモーターに1つ以上のエンハンサーエレメントを挿入することであり、ここでエンハンサーエレメントは、IL-17様遺伝子の転写活性を増加させるように働き得る。使用されるエンハンサーエレメントは、遺伝子を活性化することを所望する組織に基づいて選択される - エ

ンハンサーエレメントは、組織が選択されるという点で、プロモーター活性化を与えることが知られている。例えば、IL-17様ポリペプチドをコードする遺伝子がT細胞において「オンに変わる」場合、Ickプロモーターエンハンサーエレメントが使用され得る。従って、付加される転写エレメントの機能的部分は、標準的なクローニング技術を使用して、IL-17様ポリペプチドプロモーターを含むDNAのフラグメントに挿入され得る（そして必要に応じて、ベクターおよび/または5'および/または3'隣接配列に挿入される）。「相同性組換え構築物」として公知のこの構築物は、次いで、エキソビボまたはインビボいずれかで、所望の細胞に導入され得る。

【0293】

遺伝子治療はまた、内在性プロモーターのヌクレオチド配列を改変することによって、IL-17様ポリペプチド発現を減少するために使用され得る。このような改変は、典型的に、相同性組換え方法によって達成される。例えば、不活性化のために選択されたIL-17様遺伝子の全てまたは一部のプロモーターを含むDNA分子は、転写を調節するプロモーターの断片を除去および/または置換するように操作され得る。例えば、プロモーターの転写活性化因子のTATAボックスおよび/または結合部位は、標準的な分子生物学的技術を使用して欠失され得；このような欠失は、プロモーター活性を阻害し得、それにより対応するIL-17様遺伝子の転写を阻止し得る。プロモーターにおけるTATAボックスまたは転写活性化因子結合部位の欠失は、IL-17様ポリペプチドプロモーター（調節されるIL-17様遺伝子と同じかまたは関連の種由来）のすべてまたは関連の部分を含むDNA構築物を生成することによって達成され得、ここで、1つ以上のTATAボックスおよび/または転写活性化因子結合部位のヌクレオチドは、1つ以上のヌクレオチドの置換、欠失、および/または挿入によって変異される。結果として、TATAボックスおよび/または活性化因子結合部位は、活性を減少するか、または完全に不活性にされる。この構築物は、典型的に、改変されたプロモーターセグメントに隣接したネイティブの（内在性）5'および3' DNA配列に対応する少なくとも約500塩基のDNAを含む。この構築物は、直接または本明細書中に記載されるようなウイルスベクターを介してのい

ずれかで、適切な細胞に（エキソビボまたはインビボノいずれかで）導入され得る。典型的に、細胞のゲノムDNAへのこの構築物の組込みは相同性組換えによってであり、ここで、このプロモーター構築物の5'および3' DNA配列は、内在性染色体DNAへのハイブリダイゼーションによって、改変プロモーター領域に一体化するのを助けるように作用し得る。

【0294】

（IL-17様核酸およびポリペプチドのさらなる使用）

本発明の核酸分子（それ自体は生物学的に活性なポリペプチドをコードしない核酸分子を含む）を使用して、IL-17様遺伝子および関連遺伝子の染色体上の位置をマッピングし得る。マッピングは、当該分野で公知の技術（例えば、PCR増幅およびインサイチュハイブリダイゼーション）により行われ得る。

【0295】

IL-17様核酸分子（それ自体は生物学的に活性なポリペプチドをコードしない核酸分子を含む）は、哺乳動物組織または体液サンプル中のIL-17様DNAまたは対応するRNAの存在について、定性的または定量的のいずれかで試験するための、診断アッセイにおけるハイブリダイゼーションプローブとして有用であり得る。

【0296】

生物学的に活性なIL-7様ポリペプチドおよび核酸分子は、本明細書中に引用される疾患および状態含む、多数の疾患および状態の予防または処置に使用され得る。

【0297】

生物学的に活性なIL-7様ポリペプチドおよび核酸分子はまた、1つ以上の他の治療学的組成物と組み合わせて使用され得る。IL-7様ポリペプチドは、処置される状態に適切であるように、1つ以上のサイトカイン、増殖因子、抗生物質、抗炎症剤および/または化学療法剤と組み合わせて（同時にかまたは引き続き）使用され得る。

【0298】

他の方法はまた、1つ以上のIL-17様ポリペプチドの活性を阻害すること

を所望する場合に使用され得る。このような阻害は、発現制御配列（3重螺旋形態）またはIL-17様mRNAに相補的であり、かつハイブリダイズする核酸分子によって影響され得る。例えば、少なくとも選択されたIL-17様遺伝子の一部に相補的な配列を有するアンチセンスDNAまたはRNA分子は、細胞に導入され得る。アンチセンスプローブは、本明細書において開示されたIL-17様ポリペプチドの配列を用いた利用可能な技術によって設計され得る。代表的には、このようなアンチセンス分子の各々は、各選択されたIL-17様遺伝子の開始部位（5'末端）に相補的である。次いでアンチセンス分子が対応するIL-17様mRNAにハイブリダイズする場合、このmRNAの翻訳を、妨げるか、または減少する。アンチセンスインヒビターは、細胞または生物におけるIL-17様ポリペプチドを減少または非存在に関連する情報を提供する。

【0299】

あるいは、遺伝子治療を使用して、1つ以上のIL-17様ポリペプチドのドミナントネガティブインヒビターを作製することができる。この状況において、各々の選択されたIL-17様ポリペプチドの変異体ポリペプチドをコードするDNAは、本明細書において記載されるように、調製され得るそしてウイルスまたは非ウイルス性のいずれかの方法を用いて患者の細胞中に導入され得る。各々のそのような変異体は、代表的に、その生物学的役割における内因性ポリペプチドと競合するように設計される。

【0300】

さらに、IL-17様ポリペプチド（生物学的に活性でも活性でなくても）は、免疫原として使用され得、すなわち、これらのポリペプチドは、抗体が惹起され得る少なくとも1つのエピトープを含む。IL-17様ポリペプチドに結合する選択的結合因子（本明細書中に記載されるように）は、インビボおよびインビトロでの診断目的のために使用され得、これらの目的としては、体液サンプルまたは細胞サンプル中のIL-17様ポリペプチドの存在を検出するための標識された形態での使用が挙げられるが、これに限定されない。これらの抗体は、IL-17様ポリペプチドの少なくとも1つの活性特徴を低減するかまたは遮断するように、IL-17様ポリペプチドに結合し得るか、またはポリペプチドに結合

してIL-17様ポリペプチドの少なくとも1つの活性特徴を増加し得る(IL-17様ポリペプチドの薬物動態を増加させることによるものを含む)。

【0301】

以下の実施例は、例示目的のみのために意図され、本発明の範囲をどちらにしても限定するとは解釈されるべきではない。

【0302】

(実施例1)

PCRを使用して、プライマー2406-26および2406-28をそれぞれ2.5 pmolならびに15 ngのライブラリーcDNAを使用して75個のヒト組織ライブラリーのパネルをスクリーニングした。PCRを、Ready-To-Go PCRビーズ(Amersham Pharmacia Biotech Catalogue No. #27-9553)を使用して実施した。PCRを、25 µlの容量で実施した。PCR条件は、94 で2分間；次いで94 で15秒間；65 で30秒間；72 で1分間の35サイクル；72 で7分間の最終伸長、および4 で保持であった。238 bpのバンドを、単一の強度を変えることで7つの供給源において同定した。7つのライブラリーは：1) 胎児臍臓-オリゴdTライブラリー、2) 卵巣腫瘍-オリゴdTライブラリー、3) リンパ種-ランダムプライムした(primed)ライブラリー、4) 標準化胎児組織-ランダムプライムしたライブラリー、5) 精巢-オリゴdTライブラリー、6) 小脳-オリゴdTライブラリー、7) 脊柱-オリゴdTライブラリーである。

【0303】

【表3】

供給源	シグナル
1) 胎児臍臓-D T	+
2) 卵巣腫瘍-D T	+++
3) リンパ種-R P	++
4) 標準化胎児組織-R P	+
5) 精巣-D T	+
6) 小脳-D T	++++
7) 脊柱-D T	+++

(実施例2)

スクリーニングに使用したライブラリーおよびRACEを、以下の一般的な手順を使用して作製した。

【0304】

全RNAを、標準RNA抽出手順を使用して適切な組織/細胞株から抽出し、そしてポリA+RNAを、当業者に公知の標準手順を使用して、この全RNAから選択した。Superscript Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloningキット(Gibco-BRL, Inc., Rockville, MD)のマニュアルの手順を使用して、ランダムプライムしたcDNAまたはオリゴ(dT)プライムしたcDNAを、このポリA+RNAから合成した。この得られたcDNAを適切な制限酵素で消化して、クローニングベクターへのライゲートを援助するように粘着末端を作製した。この消化されたcDNAを、適切な制限酵素で予め消化しているpSPORT-1クローニングベクターにライゲートした。ライゲーション産物を、当該分野で公知の標準技術を使用してE. coliに形質転換し、そして形質転換体を、アンピシリン、テトラサイクリン、カナマイシンまたはクロラムフェニコールのいずれかを含む細菌培養プレート上で、使用した特異的クローニングベクターに依存して選択した。このcDNAライブラリーは、これらの形質転換体の全てまたはサブセットから構成されていた。

【0305】

PCRを、タッチダウンプロトコールを使用して5' - RACE反応および3' - RACE反応の両方について、7つの陽性ライブラリー上で使用した。5' - RACEプライマーは、遺伝子特異的プライマー2406 - 28およびライブラリーベクター (pSPORT1) プライマー1926 - 83 (5' GGC TCG TAT GTT GTG TGG AAT TGT GAG CG - 3' 配列番号5) を使用した。3' - RACEプライマーは、遺伝子特異的プライマー2406 - 26およびライブラリーベクタープライマー1916 - 80 (5' TGC AAG GCG ATT AAG TTG GGT AAC GCC AG - 3' 配列番号6) を使用した。PCR条件は、以下であった：94℃にて2分間；94℃にて5秒間そして72℃にて2分間を5サイクル；94℃にて5秒間そして70℃にて2分間を5サイクル；94℃にて5秒間そして68℃にて2分間を25サイクル；次いでならびに72℃にて7分間の最終伸長そして4℃で保持。この反応は、50 μlの最終容量中、25 ngの各DNAライブラリー、10 pmolの各プライマー、200 μM dNTP (最終濃度)、および1×濃度のClontech's Advantage cDNA Polymerase Mix (カタログ番号8417 - 1) を使用した。

【0306】

入れ子式 (nested) PCR反応を、5 μlの1 : 50希釈の第1ラウンドPCR 5' - RACE産物および3' - RACE産物、10 pmolの各入れ子式遺伝子特異的プライマー、および入れ子式ベクタープライマーを使用して上のサンプル上で実施した。(5' 入れ子式RACEに対する遺伝子特異的プライマーおよびベクタープライマーは、それぞれ、5' - GCC GAC GGG GAC GTG GAT GAA C - 3' (配列番号7) および5' - CAT GAT TAG GCC AAG CTC TAA TAC GAC TC - 3' (配列番号8) であった。3' 入れ子式RACEに対する遺伝子特異的プライマーおよびベクタープライマーは、それぞれ、5' - CTT CGC CGA GTG CCT GTG CAG - 3' (配列番号9) および5' - TCA CGA CGT TGT AAA ACG ACG GCC AGT G - 3' (配列番号9) であった。) 残存試薬およびPCR反応プロトコールは、一次R

A C E 反応に使用したものと同一であった。

【0307】

10 μ l の入れ子式 R A C E 由来の最終産物を、1% T B E アガロースゲルに 5 V / c m で走らせた。十分に規定した単一バンドを、ゲルから単離し、そして Q i a g e n ゲル抽出キット (カタログ番号 2 8 7 0 4) を使用して精製し、そして配列決定のために提示した。種々の R A C E 産物の配列を、新規の I L - 1 7 関連タンパク質の全コード領域を含むコンティグへ集合させた。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、ヒト I L - 1 7 様分子をコードする核酸配列 (配列番号 1) を示す。ヒト I L - 1 7 様ポリペプチドのアミノ酸配列 (配列番号 2) もまた、示される。

【図2】

図2は、ヒト I L - 1 7 様分子についてアミノ酸配列 (配列番号 3) を示し、ここで、この推定アミノ末端シグナルペプチド配列には、下線が引いてある。

【図3】

図3 (配列番号 4) は、ヒト I L - 1 7 様アミノ酸配列とヒト I L - 1 7 の公知のアミノ酸配列との重複を示す。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Amgen, Inc.

<120> IL-17 Like Molecules and Uses Thereof

<130> 01017/36908

<140>

<141>

<150> US 09/722,990

<151> 2000-11-27

<150> US 60/180,864

<151> 2000-02-08

<160> 10

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1177

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (143)..(823)

<400> 1

aagcgccagc tgtcacccca gtccaagagc tccagcaagg tcacgagcgt gctcggcaaa 60

gctcgggatc cggcgccgc cagcaccaaa tcaggaagg ccagcacgct gtctcggcgg 120

gaggagctgc tgaacagct ga agg ccg tgg agg atg cta ttg cac gca agc 172

Arg Pro Trp Arg Met Leu Leu His Ala Ser

1 5 10

ggg cca aga tcc ccg gga aag cat agg ccg tgc ccc gac cgg act gga 220

Gly Pro Arg Ser Pro Gly Lys His Arg Pro Cys Pro Asp Arg Thr Gly

15 20 25

cgc att ttt ata cat agg ctc ctc ccc gcc ctc ctg ttt ctg acc tgg 268

Arg Ile Phe Ile His Arg Leu Leu Pro Gly Leu Leu Phe Leu Thr Trp

30 35 40

ctg cac aca tgc ctg gcc cac cat gac ccc tcc ctc agg ggg cac ccc 316

Leu His Thr Cys Leu Ala His His Asp Pro Ser Leu Arg Gly His Pro

45 50 55

cac agt cac ggt acc cca cac tgc tac tcg gct gag gaa ctg ccc ctc 364

His Ser His Gly Thr Pro His Cys Tyr Ser Ala Glu Glu Leu Pro Leu

60 65 70

ggc cag gcc ccc cca cac ctg ctg gct cga ggt gcc aag tgg ggg cag 412

Gly Gln Ala Pro Pro His Leu Leu Ala Arg Gly Ala Lys Trp Gly Gln

75 80 85 90

gct ttg cct gta gcc ctg gtg tcc agc ctg gag gca gca agc cac agg 460

Ala Leu Pro Val Ala Leu Val Ser Ser Leu Glu Ala Ala Ser His Arg

95 100 105

ggg agg cac gag agg ccc tca gct acg acc cag tgc ccg gtg ctg cgg 508
 Gly Arg His Glu Arg Pro Ser Ala Thr Gln Cys Pro Val Leu Arg
 110 115 120

ccg gag gag gtg ttg gag gca gac acc cac cag cgc tcc atc tca ccc 556
 Pro Glu Glu Val Leu Glu Ala Asp Thr His Gln Arg Ser Ile Ser Pro
 125 130 135

tgg aga tac cgt gtg gac acg gat gag gac cgc tat cca cag aag ctg 604
 Trp Arg Tyr Arg Val Asp Thr Asp Glu Asp Arg Tyr Pro Gln Lys Leu
 140 145 150

gcc ttc gcc gag tgc ctg tgc aga ggc tgt atc gat gca cgg acg ggc 652
 Ala Phe Ala Glu Cys Leu Cys Arg Gly Cys Ile Asp Ala Arg Thr Gly
 155 160 165 170

cgc gag aca gct gcg ctc aac tcc gtg cgg ctg ctc cag agc ctg ctg 700
 Arg Glu Thr Ala Ala Leu Asn Ser Val Arg Leu Leu Gln Ser Leu Leu
 175 180 185

gtg ctg cgc cgc cgg ccc tgc tcc cgc gac ggc tcc ggg ctc ccc aca 748
 Val Leu Arg Arg Arg Pro Cys Ser Arg Asp Gly Ser Gly Leu Pro Thr
 190 195 200

cct ggg gcc ttt gcc ttc cac acc gag ttc atc cac gtc ccc gtc ggc 796
 Pro Gly Ala Phe Ala Phe His Thr Glu Phe Ile His Val Pro Val Gly
 205 210 215

tgc acc tgc gtg ctg ccc cgt tca gtg tgaccgccga ggccgtgggg 843
 Cys Thr Cys Val Leu Pro Arg Ser Val

 220 225

ccctagact ggacacgtgt gctccccaga gggcaccccc tatttatgtg tatttattgt 903

tatttatarg cctcccccaa cactaccctt ggggtctggg cattccccgt gctctggagga 963

cagcccccca ctgttctcct catctccagc ctcagtagtt gggggtagaa ggagctcagc 1023

acctcttcca gcccttaaag ctgcagaaaa ggtgtcacac ggctgcctgt accttggctc 1083

cctgtctctgc tcccgcttc cottacccta tcaactggcct caggcccccg caggtctgct 1143

cttcccaacc tccttgaag taccctgta aatg 1177

<210> 2
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 Arg Pro Trp Arg Met Leu Leu His Ala Ser Gly Pro Arg Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Lys His Arg Pro Cys Pro Asp Arg Thr Gly Arg Ile Phe Ile His Arg
 20 25 30

Leu Leu Pro Gly Leu Leu Phe Leu Thr Trp Leu His Thr Cys Leu Ala
 35 40 45

His His Asp Pro Ser Leu Arg Gly His Pro His Ser His Gly Thr Pro
 50 55 60

His Cys Tyr Ser Ala Glu Glu Leu Pro Leu Gly Gln Ala Pro Pro His
 65 70 75 80
 Leu Leu Ala Arg Gly Ala Lys Trp Gly Gln Ala Leu Pro Val Ala Leu
 85 90 95
 Val Ser Ser Leu Glu Ala Ala Ser His Arg Gly Arg His Glu Arg Pro
 100 105 110
 Ser Ala Thr Thr Gln Cys Pro Val Leu Arg Pro Glu Glu Val Leu Glu
 115 120 125
 Ala Asp Thr His Gln Arg Ser Ile Ser Pro Trp Arg Tyr Arg Val Asp
 130 135 140
 Thr Asp Glu Asp Arg Tyr Pro Gln Lys Leu Ala Phe Ala Glu Cys Leu
 145 150 155 160
 Cys Arg Gly Cys Ile Asp Ala Arg Thr Gly Arg Glu Thr Ala Ala Leu
 165 170 175
 Asn Ser Val Arg Leu Leu Gln Ser Leu Leu Val Leu Arg Arg Arg Pro
 180 185 190
 Cys Ser Arg Asp Gly Ser Gly Leu Pro Thr Pro Gly Ala Phe Ala Phe
 195 200 205
 His Thr Glu Phe Ile His Val Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Leu Pro,
 210 215 220
 Arg Ser Val
 225

<210> 3
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 3
 Met Leu Leu His Ala Ser Gly Pro Arg Ser Pro Gly Lys His Arg Pro
 1 5 10 15
 Cys Pro Asp Arg Thr Gly Arg Ile Phe Ile His Arg Leu Leu Pro Gly
 20 25 30
 Leu Leu Phe Leu Thr Trp Leu His Thr Cys Leu Ala His His Asp Pro
 35 40 45
 Ser Leu Arg Gly His Pro His Ser His Gly Thr Pro His Ala Glu Glu
 50 55 60
 Leu Pro Leu Gly Gln Ala Pro Pro His Leu Leu Ala Arg Gly Ala Lys
 65 70 75 80
 Trp Gly Gln Ala Leu Pro Val Ala Leu Val Ser Ser Leu Glu Ala Ala
 85 90 95
 Ser His Arg Gly Arg His Glu Arg Pro Ser Ala Thr Thr Gln Cys Pro
 100 105 110
 Val Leu Arg Pro Glu Glu Val Leu Glu Ala Asp Thr His Gln Arg Ser
 115 120 125

Ile Ser Pro Trp Arg Tyr Arg Val Asp Thr Asp Glu Asp Arg Tyr Pro
 130 135 140
 Gln Lys Leu Ala Phe Ala Glu Cys Leu Cys Arg Gly Cys Ile Asp Ala
 145 150 155 160
 Arg Thr Gly Arg Glu Thr Ala Ala Leu Asn Ser Val Arg Leu Leu Gln
 165 170 175
 Ser Leu Leu Val Leu Arg Arg Arg Pro Cys Ser Arg Asp Gly Ser Gly
 180 185 190
 Leu Pro Thr Pro Gly Ala Phe Ala Phe His Thr Glu Phe Ile His Val
 195 200 205
 Pro Val Gly Cys Thr Cys Val Leu Pro Arg Ser Val
 210 215 220

<210> 4
 <211> 178
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 Met Asp Trp Pro His Asn Leu Leu Phe Leu Leu Thr Ile Ser Ile Leu
 1 5 10 15
 Gly Leu Gly Gln Pro Arg Ser Pro Lys Ser Lys Arg Lys Gly Gln Gly
 20 25 30
 Arg Pro Gly Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Gln Val Pro Leu Asp Leu
 35 40 45
 Val Ser Arg Met Lys Pro Tyr Ala Arg Met Glu Glu Tyr Glu Arg Asn
 50 55 60
 Ile Glu Glu Met Val Ala Gln Leu Arg Asn Ser Ser Glu Leu Ala Gln
 65 70 75 80
 Arg Lys Cys Glu Val Asn Leu Gln Leu Trp Met Ser Asn Lys Arg Ser
 85 90 95
 Leu Ser Pro Trp Gly Tyr Ser Ile Asn His Asp Pro Ser Arg Ile Pro
 100 105 110
 Val Asp Leu Pro Glu Ala Arg Cys Leu Cys Leu Gly Cys Val Asn Pro
 115 120 125
 Phe Thr Met Gln Glu Asp Arg Ser Met Val Ser Val Pro Val Phe Ser
 130 135 140
 Gln Val Pro Val Arg Arg Arg Leu Cys Pro Pro Pro Arg Thr Gly Pro
 145 150 155 160
 Cys Arg Gln Arg Ala Val Met Glu Thr Ile Ala Val Gly Cys Thr Cys
 165 170 175
 Ile Phe

<210> 5
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Primer 2406-28

 <400> 5
 ggctcgtatg ttgtgtgaa ttgtgagcg 29

 <210> 6
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Primer 1916-80

 <400> 6
 tgcaaggcga ttaagttggg taacgcc 27

 <210> 7
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: PCR Primer

 <400> 7
 gccgacgggg acgtggatga ac 22

 <210> 8
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: PCR Primer

 <400> 8
 catgattacg ccaagctcta atacgactc 29

 <210> 9
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> Description of Artificial Sequence: PCR Primer

 <400> 9
 cttcgccga gtgccttgtg cag 23

 <210> 10
 <211> 28
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequenc : PCR Primer

<400> 10

tcacgacggtt gtaaaacgac ggccagtg

28

<210> 11

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Peptide

<400> 11

Tyr Gly Arg Lys Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1

5

10

【図1】

Figure 1

ヒトIL-17様ポリペプチドについてcDNA(配列番号1)および
推定アミノ酸配列(配列番号2)の重複

1 AAGCGCCAGCTGTCACCCCACTCCAAGAGCTCCAGCAAGGTCACGAGCGTGTCTCGGCAAA 60
61 GCCTCGGATCCCGGCGCCGACCAATCAGGGAAGGCCAGCACGCTGTCTCGGCGG 120
121 GAGGAGCTGCTGAAACAGCTGAAGGCCGTGGAGGATGCTATTGCACCAAGCGGGCCAAG 180
* R P W R M L L H A S G P R -
181 ATCCCCGGAAAGCATAGGCCGTGCCCGACCGGACTGGACGCATTTTATACATAGGCT 240
S P G K H R P C P D R T G R I F I H R L -
241 CCTCCCCGGCCTCCTGTTTCTGACCTGGCTGCACACATGCCTGGCCACCATGACCCCTC 300
L P G L L F L T W L H T C L A H H D P S -
301 CCTCAGGGGGCACCCCCACAGTCACGGTACCCCACTGCTACTCGGCTGAGGAACTGCC 360
L R G H P H S H G T P H C Y S A E E L P -
361 CCTCGGCCAGGCCCCCCCACCTGCTGGCTCGAGGTGCCAAGTGGGGCAGGCTTTGCC 420
L G Q A P P H L L A R G A K W G Q A L P -
421 TGTAGCCCTGGTGTCCAGCCTGGAGGCAGCAAGCCACAGGGGGAGGCACGAGAGGCCCTC 480
V A L V S S L E A A S H R G R H E R P S -
481 AGCTACGACCCAGTGCCTGGTGTCCAGCCTGGAGGCAGCAAGCCACAGGGGGAGGCACCCACCA 540
A T T Q C P V L R P E E V L E A D T H Q -
541 GCGCTCCATCTCACCCCTGGAGATACCGTGTGGACACGGATGAGGACCGCTATCCACAGAA 600
R S I S P W R Y R V D T D E D R Y P Q K -
601 GCTGGCCTTCGCGGAGTGCCTGTGCAGAGGCTGTATCGATGCACGGAACGGCCGCGAGAC 660
L A F A E C L C R G C I D A R T G R E T -
661 AGCTGGCTCAACTCCGTGCGGCTGCTCCAGAGCCTGCTGGTGTGCTGCGCCGCGGCCCTG 720
A A L N S V R L L Q S L L V L R R R P C -
721 CTCCCCGACGGCTCGGGGCTCCCCACACCTGGGGCCTTTGCCCTCCACACCGAGTTTAT 780
S R D G S G L P T P G A F A F H T E F I -
681 CCACGTCCCCTCGGCTGCACCTGCGTGTGCCCCGTTAGTGTGACCGCCGAGGCCGTG 840
H V P V G C T C V L P R S V *
841 GGGCCCCTAGACTGGACACGTGTCTCCCCAGAGGGCACCCCCTATTATGTGTATTAT 900
901 TGTTATTTATATGCCTCCCCCAACTACCCCTGGGGTCTGGGCATTCCCCGTGTCTGGA 960
961 GGACAGCCCCCACTGTTCTCTCATCTCCAGCCTCAGTAGTTGGGGTAGAAGGAGCTC 1020
1021 AGCACCTCTTCCAGCCCTTAAAGCTGCAGAAAAGGTGTACACGGCTGCCTGTACCTTGG 1280

【図1】

図1のつぎ

Figure 1B

1081 CTCCCTGTCCTGCTCCCGGCTTCCCTTACCCCTATCACTGGCCTCAGGCCCCCGCAGGCTG 1140
1141 CCTCTTCCCAACCTCCTTGAAGTACCCCTGTAAATG 1177

【図2】

Figure 2

ヒトIL-17様ポリペプチド"1"においてアミノ末端の+14
ポリペプチド配列を有する 推定アミノ酸配列
(配列番号 3)

1 MLLHASGPRS PGKHRPCPDR TGRIFIHRLI PGLLFLTWLH TCLAHHDPSL
 51 RGHPHSHGTP HCYSAEELPL GQAPPHELLAR GAKWGOALPV ALVSSLEAAS
 101 HRGRHERPSA TTQCPVLRPE EVLEADTHQR SISPWRYRVD TDEDRYPQKL
 151 AFAECLCRGC IDARTGRETA ALNSVRLLOS LLVLRRRPCS RDGSGGLPTPG
 201 AFAFHTEFIH VPVGCTCVLP RSV*

【図3】

Figure 3

ヒトIL-17様アミノ酸配列(配列番号3)と
已知のヒトIL-17ファミリーメンバーとの重複
(配列番号4)

Zhvt-002560	MLLHASGPRSPGKHRPCPDR	TGRIFIHRLIPGLLFLTWLHTCLAHHDPSL	50
Human IL-17	MDWPHNLLFLLTISI	15
Zhvt-002560	RGHPHSHGTPHCYSAEELPLGQAPPHELLARGAKWGOALPVALVSSLEAAS		100
Human IL-17	F...LGLGQPR...SPKSKRKGQGRPGPLAPGP...HQVPLDLVSRMKPYA		57
Zhvt-002560	HRGRHERPSATTQCPVLRPEEVLEAD.....	THQRSISPWRYRVD	141
Human IL-17	RMKEYERNIEEMVAQLRNSSELAQRKCEVNLQLWMSNKRSLSPWGYSINH		107
Zhvt-002560	DEDRYPQKLAFAECLCRGCIDARTGRETAALNSVRLLOSLLVLRRRPCSR		191
Human IL-17	DPSRIPVDLPEARCLCLGCVNPFITMQEDRSMVSVFVF.SQVFRRLCPP		156
Zhvt-002560	DGSGGLPTPGAFAFHTEFIHVPVGCTCVLPSV*		224
Human IL-17	P....PRTGPCRQRAVMEITAVGCTCIF		180

【手続補正書】

【提出日】平成14年9月18日(2002.9.18)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】発明の詳細な説明

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の詳細な説明】

【0001】

(関連出願)

本願は、2000年2月8日に出願された米国仮特許出願番号第60/180,864号から優先権を主張する2000年11月27日に出願された米国特許出願番号第09/722,920号から優先権を主張する。

【0002】

(発明の分野)

本発明は、新規IL-17様ポリペプチドおよびこれをコードする核酸分子に関する。本発明はまた、IL-17様ポリペプチドを産生するための、ベクター、宿主細胞、薬学的組成物、選択的結合因子および方法に関する。IL-17様ポリペプチドと関連する疾患の診断および処置のための方法についてもまた、提供される。

【0003】

(発明の背景)

核酸の同定、クローニング、発現、および操作における技術進歩は、ヒトゲノムの解読に基づく新規治療剤の発見を大きく加速している。現在、高速核酸配列決定技術は、前例のない速度で配列情報を作製し得、そしてコンピュータ分析と結合されて、ゲノムの一部および全体への重複配列のアセンブリならびにポリペプチドコード領域の同定を可能にする。公知アミノ酸配列のデータベース編集物に対する推定アミノ酸配列の比較は、以前に同定された配列および/または構造の目印に対して相同性の程度を決定することを可能にし得る。核酸分子のポリペ

プチドコード領域のクローニングおよび発現は、構造解析および機能解析のためのポリペプチド産物を提供する。それらの改変体およびそれらの誘導体を作製するための核酸分子およびコードされるポリペプチドの操作は、治療剤としての使用のための生成物に対して有利な特性を与え得る。

【0004】

過去10年間にわたるゲノム研究における有意な技術進歩にも関わらず、ヒトゲノムに基づく新規治療剤の開発に対する可能性は、未だ広く理解されていない。潜在的に有利なポリペプチド治療剤をコードする多くの遺伝子またはこれらがコードするポリペプチド（これらは、治療分子に対して「標的」としてはたらき得る）は、未だ同定されていない。さらに、多数のヒト遺伝子由来のポリペプチド産物の構造解析および機能解析は、着手されていない。

【0005】

IL-17は、活性化されたT細胞の誘導サイトカインである。IL-17は、炎症前サイトカインの発現を誘導することによって炎症において調節の役割を果たすことが見出されている。近年の研究は、このIL-17が、破骨再吸収に作用することによる骨の破壊にもまた関連し得ることを明らかにする。

【0006】

（発明の要旨）

本発明は、新規IL-17様核酸分子およびコードされるポリペプチドに関する。

【0007】

本発明は、単離された核酸分子であって、以下：

- （a）配列番号1に示されるようなヌクレオチド配列；
- （b）配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；
- （c）（a）または（b）の相補体に、中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列であって、ここで、このコードされたポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；および、

(d) (a) ~ (c) のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、
からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を提供
する。

【0008】

本発明はまた、単離された核酸分子であって、以下：

(a) 配列番号2に示されるようなポリペプチドに少なくとも約70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%
同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、この
ポリペプチドが、コンピュータープログラム(例えば、GAP、BLASTP、
BLASTN、BLASTA、BLASTX、BestFit、またはSmith-Watermanアルゴリズム)を用いて決定されたような配列番号2に示
されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(b) 配列番号1に示されるようなヌクレオチド配列の対立遺伝子改変体また
はスプライス改変体をコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このコー
ドされたポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有
する、ヌクレオチド配列；

(c) 少なくとも約25アミノ酸残基のポリペプチドフラグメントをコードす
る、配列番号1、(a)、または(b)のヌクレオチド配列であって、ここで、
このポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する
、ヌクレオチド配列；

(d) 少なくとも約16ヌクレオチドのフラグメントを含む、配列番号1、ま
たは(a) ~ (c)のヌクレオチド配列；

(e) 中程度または高度にストリンジェントな条件下で、(a) ~ (d)のい
ずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列であって、ここで、こ
のコードされたポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活
性を有する、ヌクレオチド配列；および、

(f) (a) ~ (c) のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、
からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を提供
する。

【0009】

本発明は、単離された核酸分子であって、以下；

(a) 少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(b) 少なくとも1つのアミノ酸挿入を有する配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(c) 少なくとも1つのアミノ酸欠失を有する配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(d) C末端短縮および/またはN末端短縮を有する配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(e) アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、C末端短縮、およびN末端短縮からなる群より選択される少なくとも1つの改変を有する配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

(f) 少なくとも約16ヌクレオチドのフラグメントを含む(a)~(e)のヌクレオチド配列；

(g) 中程度または高度にストリンジェントな条件下で、(a)~(f)のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列であって、ここで、このコードされたポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；ならびに、

(h) (a) ~ (e) のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、
からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子をさら
に提供する。

【0010】

本発明はまた、単離されたポリペプチドであって、以下：

(a) 配列番号2のアミノ酸残基5~アミノ酸残基227によって示されるよ
うな成熟IL-17様ポリペプチドを含み、そして必要に応じて、アミノ末端の
メチオニンをさらに含むアミノ酸配列；

(b) 配列番号2のオルソログ(ortholog)に対するアミノ酸配列；

(c) 配列番号2のアミノ酸配列に少なくとも約70%、80%、85%、9
0%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列
であって、ここで、このポリペプチドが、コンピュータープログラム(例えば、
GAP、BLASTP、BLASTN、FASTA、BLASTA、BLAST
X、BestFit、およびSmith-Watermanアルゴリズム)を用
いて決定されたような配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する
、アミノ酸配列；

(d) 少なくとも約25アミノ酸残基を含む配列番号2に示されるアミノ酸配
列のフラグメントであって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示され
るようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列のフラグメント；

(e) 配列番号2、または(a)~(c)の少なくとも1つに示されるいづれ
かのアミノ酸配列の対立遺伝子改変体またはスプライス改変体に関するアミノ酸
配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリ
ペプチドの活性を有する、アミノ酸配列、
からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドを提供
する。

【0011】

さらに、本発明は、単離されたポリペプチドであって、以下：

(a) 少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号2に示されるよ
うなアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示され

るようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(b) 少なくとも1つのアミノ酸挿入を有する配列番号2に示されるようなアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(c) 少なくとも1つのアミノ酸欠失を有する配列番号2に示されるようなアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

(d) C末端短縮および/またはN末端短縮を有する配列番号2に示されるようなアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示されるようなポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；ならびに、

(e) アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、C末端短縮、およびN末端短縮からなる群より選択される少なくとも1つの改変を有する配列番号2に示されるようなアミノ酸配列であって、ここで、このポリペプチドが、配列番号2に示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列、からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドを提供する。

【0012】

上記の(a)～(g)のアミノ酸配列を含む融合ポリペプチドもまた、提供される。

【0013】

本発明はまた、本明細書中に示されるような単離された核酸分子を含む発現ベクター、本明細書中に示されるような組換え核酸分子を含む組換え宿主細胞、およびIL-17様ポリペプチドを産生する方法を提供し、この方法は、この宿主細胞を培養する工程、および必要に応じてそのように産生されたポリペプチドを単離する工程を包含する。これらの発現ベクターとしては、発現のために昆虫細胞を利用するバキュロウイルス発現ベクターが挙げられる。

【0014】

IL-17様ポリペプチドをコードする核酸分子を含むトランスジェニック非ヒト動物もまた、本発明に含まれる。IL-17様核酸分子は、IL-17様ポ

リペプチドの発現およびIL-17様ポリペプチドの増加したレベル（これは、増加した循環レベルを含み得る）を可能にする様式で、動物中に導入される。トランスジェニック非ヒト動物は、好ましくは哺乳動物である。IL-17様ポリペプチドをコードする核酸分子における破壊（これは、IL-17様ポリペプチドの発現をロックアウトするかまたは有意に減少させる）を含むトランスジェニック非ヒト動物もまた、提供される。

【0015】

本発明のIL-17様ポリペプチドの誘導体もまた、提供される。

【0016】

本発明において、IL-17様ポリペプチドのアナログが提供される。このアナログは、配列番号2のIL-17様ポリペプチドの保存的アミノ酸置換および/または非保存的アミノ酸置換から生じる。このようなアナログは、IL-17様ポリペプチドを含み、ここで、例えば、配列番号2の位置47のアミノ酸が、ロイシン、ノルロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニン、アラニン、またはフェニルアラニンであるか、配列番号2の位置110のアミノ酸が、グルタミン酸またはアスパラギン酸であるか、配列番号2の位置141のアミノ酸が、チロシン、トリプトファン、フェニルアラニン、スレオニン、またはセリンであるか、配列番号2の位置151のアミノ酸が、プロリン、アラニンまたはグリシンであるか、配列番号2の位置159のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンであるか、配列番号2の位置161のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンであるか、配列番号2の位置164のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンであるか、配列番号2の位置193のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンであるか、配列番号2の位置219のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンであるか、あるいは配列番号2の位置221のアミノ酸が、システイン、アラニンまたはセリンである。

【0017】

本発明のIL-17様ポリペプチドに特異的に結合し得る選択的結合因子（例えば、抗体およびペプチド）が、さらに提供される。このような抗体、ポリペプチド、ペプチドおよび低分子は、アゴニストのものであってもアンタゴニストの

ものであってもよい。

【0018】

本発明のヌクレオチド、ポリペプチド、または選択的結合因子および1つ以上の薬学的に受容可能な処方剤を含む薬学的組成物もまた、本発明によって含まれる。薬学的組成物は、治療有効量の本発明のヌクレオチドまたはポリペプチドを提供するために使用される。本発明はまた、このポリペプチド、核酸分子、および選択的結合因子を使用する方法に関する。

【0019】

本発明のIL-17様ポリペプチドおよびIL-17様核酸分子は、疾患および障害（本明細書中に列挙されるものを含む）を処置、予防、回復、診断および/または検出するために使用され得る。生物学的サンプル、細胞サンプルまたは組織サンプルにおける発現分析は、IL-17様ポリペプチドが本明細書中に記載される病理学的状態の診断および/または処置において役割を果たし得ることを示唆する。この発現は、診断用薬剤（例えば、IL-17様ポリヌクレオチド）を用いて検出され得る。

【0020】

本発明は、IL-17様ポリペプチドの異常な（すなわち、増加したかまたは減少した）レベルによって引き起こされたかまたはこのレベルから生じた被験体における病理学的状態または病理学的状態に対する感受性を診断する工程を包含する。この診断は、サンプル中のIL-17様ポリペプチドの存在またはその発現量を決定する工程、および正常な被験体または初期の被験体のいずれか由来の生物学的サンプル、組織サンプルまたは細胞サンプル中のこのポリペプチドのレベルを比較する（comprising）工程を包含する。ここで、病理学的状態に対する感受性は、このポリヌクレオチドの存在または発現量に基づく。

【0021】

本発明はまた、IL-17様ポリペプチドに結合する試験分子を同定するために、試験分子をアッセイする方法を提供する。この方法は、IL-17様ポリペプチドを試験分子と接触させて、この試験分子のこのポリペプチドに対する結合の程度を決定する工程を包含する。この方法はさらに、このような試験分子が、

IL-17様ポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストであるか否かを決定する工程を包含する。本発明はさらに、IL-17様ポリペプチドの発現またはIL-17様ポリペプチドの活性に対する分子の影響を試験する方法を提供する。

【0022】

本発明は、低分子化合物にIL-17様ポリペプチドを接触させる工程、およびこれらの低分子の存在下および非存在下でIL-17様生物学的活性を測定する工程を包含するIL-17様生物学的活性のアンタゴニストまたはアゴニストを同定する方法を提供する。これらの低分子は、天然に存在する医療用化合物であり得るか、または無作為配列化学ライブラリー由来であり得る。特定の実施形態において、IL-17様ポリペプチドアゴニストまたはIL-17様ポリペプチドアンタゴニストは、その活性を調節するためにIL-17様ポリペプチドと相互作用するタンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質、または低分子であり得る。

【0023】

IL-17様ポリペプチドの発現を調節する (regulate) 方法およびIL-17様ポリペプチドのレベルを調節する (modulate) (すなわち、増加または減少する) 方法がまた、本発明によって含まれる。1つの方法は、IL-17様ポリペプチドをコードする核酸分子を動物に投与する工程を包含する。別の方法において、IL-17様ポリペプチドの発現を調節する (regulate) かまたは調節する (modulate) エレメントを含む核酸分子が、投与され得る。これらの方法の例としては、本明細書中にさらに記載されるように、遺伝子治療、細胞治療、およびアンチセンス治療が挙げられる。

【0024】

本発明の別の局面において、IL-17様ポリペプチドは、その結合パートナー (「IL-17様ポリペプチドレセプター」) を同定するために使用され得る。酵母の2-ハイブリッドスクリーニング (yeast two-hybrid screens) を広範に用いて、タンパク質リガンドに対するレセプターを同定してクローニングしている。(Chienら, Proc. Natl. Aca

d. Sci. U. S. A. , 88 : 9578 - 9583 , 1991)。IL - 17 様ポリペプチド結合パートナーの単離は、IL - 17 様ポリペプチド活性の新規アゴニストおよびアンタゴニストを同定するかまたは開発するために有用である。このようなアゴニストおよびアンタゴニストとしては、可溶性の抗IL - 17 様レセプター、抗IL - 17 様選択的結合因子および/もしくは抗IL - 17 様レセプター選択的結合因子 (例えば、抗体およびその誘導体)、低分子、IL - 17 様ポリペプチドに結合し得るペプチドもしくはその誘導体、あるいはアンチセンスオリゴヌクレオチドが挙げられ、これらのうちのいずれかは、開示される1つ以上の疾患または障害 (本明細書中に列挙されるものを含む) を潜在的に処置するために使用され得る。

【0025】

本発明は、生物学的サンプル、組織サンプル、または細胞サンプル中のIL - 17 様核酸の存在を決定する方法をさらに包含する。これらの方法は、IL - 17 様核酸を含んでいると疑われる生物学的サンプルを提供する工程；この生物学的サンプルを条件下で本発明の診断用試薬に接触させる工程 (ここで、診断用試薬は、この生物学的サンプル中に含まれるIL - 17 様核酸とハイブリダイズする)；この生物学的サンプル中の核酸と診断用試薬との間のハイブリダイゼーションを検出する工程；および、この生物学的サンプルと診断用試薬との間のハイブリダイゼーションのレベルを、既知の濃度のIL - 17 様核酸と診断用試薬との間のハイブリダイゼーションのレベルと比較する工程、を包含する。これらの方法において検出されたポリヌクレオチドは、IL - 17 様DNAまたは、およびIL - 17 様RNAであり得る。

【0026】

本発明はまた、患者における移植に適切な膜；およびこの膜中にカプセル化された細胞 (ここで、この細胞は、本発明のIL - 17 様ポリペプチドを分泌し、ここで、この膜は、このタンパク質産物に対して透過性であり、かつこの細胞に有害な物質に対して不浸透性である) を含むデバイスも提供する。本発明は、移植に適切な膜および膜中にカプセル化されたこのポリペプチド (このポリペプチドに対して透過性) を含むデバイスもさらに提供する。

【0027】

(発明の詳細な説明)

本明細書中で使用される節の表題は、体系的な目的のみのためであり、そして、そこに記載される内容を限定するようには解釈されるべきではない。本願において列挙される全ての参考文献は、明確に本明細書中に参考として援用される

(定義)

用語「IL-17様遺伝子」または「IL-17様核酸分子」あるいは「IL-17様ポリヌクレオチド」とは、配列番号1に示されるようなヌクレオチド配列、配列番号2に示されるようなポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、ATCC受託番号PTA-1451(2000年3月7日に、American Type Culture Collection 10801 University Blvd. Manassas, VAで寄託された)におけるDNA挿入物のヌクレオチド配列、または本明細書中で定義されるような関連核酸分子を含むか、あるいはこれらからなる核酸分子をいう。

【0028】

用語「IL-17様ポリペプチド」とは、配列番号2または配列番号3の少なくとも1つのアミノ酸配列を含むポリペプチド、および関連ポリペプチドをいう。関連ポリペプチドとしては、IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体、IL-17様ポリペプチドオルソログ、IL-17様ポリペプチドスプライス改変体、IL-17様ポリペプチド改変体、およびIL-17様ポリペプチド誘導体が挙げられる。IL-17様ポリペプチドは、本明細書中で定義されるような成熟ポリペプチドであり得、そしてこれらが調製される方法に依存して、アミノ末端メチオニン残基を有しても有さなくてもよい。

【0029】

用語「IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体」とは、生物体または生物体の集団の染色体の所定の遺伝子座を占める遺伝子の、天然に存在する可能ないくつかの代替的形態のうちの1つをいう。

【0030】

用語「IL-17様ポリペプチド誘導体」は、配列番号2に示されるようなポ

リペプチド、本明細書中で定義されるような、IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体、IL-17様ポリペプチドフラグメント、IL-17様ポリペプチドオルソログ、IL-17様ポリペプチドスプライス改変体、またはIL-17様ポリペプチド改変体をいい、これらは、化学的に改変されている。これらの誘導体は、天然に存在するIL-17様ポリペプチドとは異なる様式において、このポリペプチドに結合する分子の型または位置のいずれかで改変される。誘導体は、IL-17様ポリペプチドに天然に結合する1つ以上の化学基の欠失によって形成された分子をさらに含む。

【0031】

用語「IL-17様ポリペプチドフラグメント」とは、配列番号2に示されるようなポリペプチドの、アミノ末端（リーダー配列を有するかもしくは有さない）での短縮化（truncation）および/またはカルボキシル末端での短縮化を含むポリペプチド、配列番号2に示されるIL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、1つ以上のアミノ酸の付加または置換または内部欠失を有する、IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体、IL-17様ポリペプチドオルソログ、IL-17様ポリペプチドスプライス改変体ならびに/あるいはIL-17様ポリペプチド改変体（ここで、得られたポリペプチドは、少なくとも6個のアミノ酸長またはそれ以上のアミノ酸長である）をいう。IL-17様ポリペプチドフラグメントは、選択的RNAスプライシング、またはインビボプロテアーゼ活性から生じ得る。好ましい実施形態において、短縮化は、約10アミノ酸、または約20アミノ酸、または約50アミノ酸、または約75アミノ酸、または約100アミノ酸、または約100より多くのアミノ酸を含む。このように生成されるポリペプチドフラグメントは、約25個連続したアミノ酸、または約50アミノ酸、または約75アミノ酸、または約100アミノ酸、または約150アミノ酸または約200アミノ酸を含む。このようなIL-17様ポリペプチドフラグメントは、必要に応じて、アミノ末端メチオニン残基を含み得る。このようなフラグメントは、例えば、IL-17様ポリペプチドに対する抗体を作製するために使用され得ることが理解される。

【0032】

用語「IL-17様融合ポリペプチド」は、配列番号2に示されるようなポリペプチド、配列番号2に示されるIL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、1つ以上のアミノ酸の欠失、置換、または内部付加を有する、IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体、IL-17様ポリペプチドオルソログ、IL-17様ポリペプチドスプライス改変体、またはIL-17様ポリペプチド改変体のアミノ末端またはカルボキシ末端での、1つ以上のアミノ酸の融合（例えば、異種ペプチドまたはポリペプチド）をいう。

【0033】

用語「IL-17様ポリペプチドオルソログ」とは、配列番号2に示されるようなIL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列に対応する、別の種由来のポリペプチドをいう。例えば、マウスおよびヒトのIL-17様ポリペプチドは、互いにオルソログであるとみなされる。

【0034】

用語「IL-17様ポリペプチドスプライス改変体」とは、配列番号2に示されるようなIL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列のRNA転写物中のイントロン配列の選択的プロセッシングによって生成される、核酸分子（通常はRNA）をいう。

【0035】

用語「IL-17様ポリペプチド改変体」とは、配列番号2（リーダー配列を有するかまたは有さない）に示されるIL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列と比較して、1つ以上のアミノ酸配列の置換、欠失（例えば、内部欠失および/もしくはIL-17様ポリペプチドフラグメント）、ならびに/または付加（例えば、内部付加および/もしくはIL-17様融合ポリペプチド）を有するアミノ酸配列を含むIL-17様ポリペプチドをいう。改変体は、天然に存在する（例えば、IL-17様ポリペプチド対立遺伝子改変体、IL-17様ポリペプチドオルソログ、およびIL-17様ポリペプチドスプライス改変体）であり得るか、あるいは、人工的に構築され得る。このようなIL-17様ポリペプチド改変体は、配列番号2に示されるようなDNA配列からそれに応じて変化するDNA配列を有する、対応する核酸分子から調製され得る。好ましい実施形態におい

て、この改変体は、1～3、または1～5、または1～10、または1～15、または1～20、または1～25、または1～50、または1～75、または1～100、または100より多くのアミノ酸の置換、挿入、付加、および/あるいは欠失を有し、ここで、この置換は、保存的、または非保存的、あるいはそのいずれかの組み合わせであり得る。

【0036】

用語「抗原」とは、選択的結合因子（例えば、抗体）により結合され得、そしてさらに動物において使用されて、その抗原のエピトープに結合し得る抗体を産生し得る分子または分子の一部をいう。抗原は、1つ以上のエピトープを有し得る。上でいう特異的な結合反応は、抗原が、高い選択的な様式で、その対応する抗体とは反応するが、他の抗原によって惹起され得る多数の他の抗体とは反応しないことを示すことが意味される。

【0037】

用語「生物学的に活性なIL-17様ポリペプチド」、「生物学的に活性なIL-17様ポリペプチドフラグメント」、「生物学的に活性なIL-17様ポリペプチド改変体」、および「生物学的に活性なIL-17様ポリペプチド誘導体」とは、IL-17様ポリペプチドの少なくとも1つの活性特徴（例えば、配列番号2または配列番号4のいずれかに示されるポリペプチドの活性）を有するIL-17様ポリペプチドをいう。一般に、IL-17様ポリペプチド、それらのフラグメント、改変体、および誘導体は、配列番号2または配列番号4のいずれかに示されるようなIL-17様ポリペプチドの少なくとも1つの活性特徴を有する。さらに、IL-17様ポリペプチドは、免疫原として活性であり得る；すなわち、このポリペプチドは、抗体が惹起され得る少なくとも1つのエピトープを含む。

【0038】

用語「有効量」および「治療有効量」は、本明細書中に示されるようなIL-17様ポリペプチドの1つ以上の生物学的活性の観察可能なレベルを支持するために使用されるIL-17様ポリペプチドまたはIL-17様核酸分子の量をいう。

【0039】

用語「発現ベクター」は、宿主細胞における使用に適切であり、そして挿入された異種核酸配列の発現を、指示および/または制御する核酸配列を含むベクターをいう。発現としては、転写、翻訳、およびRNAスプライシング(イントロンが存在する場合)のようなプロセスが挙げられるがこれらに限定されない。

【0040】

用語「宿主細胞」は、核酸配列で形質転換されたか、または形質転換され得、次いで目的の選択された遺伝子を発現し得る細胞をいうために使用される。この用語には、選択された遺伝子が存在する限り、子孫が形態学または遺伝子構造において本来の親と同一であろうとなかろうと、親細胞の子孫を含む。

【0041】

用語「同一性」とは、当該分野で公知のように、配列の比較によって決定される、2つ以上のポリペプチド分子または2つ以上の核酸分子の配列間の関係をいう。当該分野において、「同一性」はまた、場合に応じて、2つ以上のヌクレオチド配列または2つ以上のアミノ酸配列間の一致によって決定されるように、核酸分子またはポリペプチド間の配列関連性の程度を意味する。「同一性」は、2つ以上の配列のうちより小さなものと、特定の数理的モデルまたはコンピュータプログラム(すなわち、「アルゴリズム」)によって位置づけられたギャップアラインメント(存在する場合)との間の同一による一致のパーセントを評価する。

【0042】

用語「類似性」は、「同一性とは対照的であるが、同類の概念であり、同一による一致および保存的置換の一致の両方を含む類似点の程度をいう。2つのポリペプチドが、例えば10/20個同一のアミノ酸を有し、そして残りが全て非保存的置換である場合、パーセント同一性および類似性は、どちらも50%である。同じ例において、保存的置換が存在するさらに5つの位置が存在する場合、パーセント同一性は50%のままであるが、パーセント類似性は75%(15/20)である。従って、保存的置換が存在する場合、2つのポリペプチド間の類似性の程度は、これらの2つのポリペプチド間のパーセント同一性よりも高い。

【0043】

用語「単離された核酸分子」とは、(1) 総DNAが供給源細胞から単離される場合に、これが天然で一緒に見出されるタンパク質、脂質、炭水化物、または他の物質のうち少なくとも約50パーセントから分離された本発明の核酸分子、(2) 「単離された核酸分子」が天然で連結しているポリヌクレオチドの全てまたは一部に連結していない本発明の核酸分子、(3) 天然では連結しないポリヌクレオチドに作動可能に連結した本発明の核酸分子、あるいは(4) より大きなポリヌクレオチド配列の一部として、天然には存在しない本発明の核酸分子をいう。好ましくは、本発明の単離された核酸分子は、天然に結合される少なくとも1つの混入核酸分子を実質的に含まない。好ましくは、本発明の単離された核酸分子は、その天然の環境において見出される任意の他の混入核酸分子または他の混入物(これらは、ポリペプチド産生における使用、または治療的使用、診断的使用、予防的使用、または研究的使用を妨げる)を実質的に含まない。

【0044】

用語「単離されたポリペプチド」とは、(1) 細胞供給源から単離される場合に、天然で一緒に見出されるポリヌクレオチド、脂質、炭水化物、または他の物質の少なくとも約50%から分離されている本発明のポリペプチド、(2) 「単離されたポリペプチド」が天然で連結するポリペプチドの全てまたは一部に(共有結合的または非共有結合的相互作用によって)連結しない、本発明のポリペプチド、(3) 天然には連結しないポリペプチドに(共有結合的または非共有結合的相互作用によって)作動可能に連結される、本発明のポリペプチド、あるいは(4) 天然には存在しない本発明のポリペプチドをいう。好ましくは、その天然の環境において見出される少なくとも1つの混入ポリペプチドまたは他の混入物を実質的に含まない。好ましくは、この単離されたポリペプチドは、その天然の環境において見出される任意の他の混入ポリペプチドまたは他の混入物(これは、その治療的使用、診断的使用、予防的使用、または研究的使用を妨げる)を実質的に含まない。

【0045】

用語「成熟IL-17様ポリペプチド」は、リーダー配列を欠失したIL-1

7様ポリペプチドをいう。成熟IL-17様ポリペプチドはまた、他の改変（例えば、アミノ末端（リーダー配列を有するかまたは有さない）および/またはカルボキシ末端のタンパク質分解性プロセッシング、より大きな前駆体からのより小さなポリペプチドの切断、N結合型および/またはO結合型グリコシル化など）を含み得る。例示的な成熟IL-17様ポリペプチドは、配列番号3のアミノ酸残基45～アミノ酸残基233によって示される。

【0046】

用語「核酸配列」または「核酸分子」は、DNAまたはRNA配列をいう。この用語は、DNAおよびRNAの公知の塩基アナログのいずれかから形成される分子を含み、例えば、以下であるがこれらに限定されない：4-アセチルシトシン、8-ヒドロキシ-N6-メチルアデノシン、アジリジニル-シトシン、プソイドイソシトシン(pseudoisocytosine)、5-(カルボキシヒドロキシルメチル)ウラシル、5-フルオロウラシル、5-プロモウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、イノシン、N6-イソ-ペンテニルアデニン、1-メチルアデニン、1-メチルプソイドウラシル、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-メチルアデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノ-メチル-2-チオウラシル、D-マンノシルキューオシン(D-mannosylqueosine)、5'-メトキシカルボニル-メチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸、オキシブトキソシン(oxybutoxosine)、プソイドウラシル、キューオシン、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、N-ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸、プソイドウラシル、キューオシン、2-チオシトシン、および2,6-ジアミノプリン。

【0047】

用語「天然に存在する」または「ネイティブの」は、核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞などのような生物学的物質と関連して使用される場合、天然において見出され、そしてヒトによって操作されていない物質をいう。同様に、「天然に存在しない」または「ネイティブではない」は、本明細書中で使用される場合、天然で見出されないか、またはヒトによって構造的に改変もしくは合成されている物質をいう。

【0048】

用語「作動可能に連結された」は、隣接配列の配置をいうために本明細書中で、使用され、ここで、このように記載される隣接配列は、その通常の機能を行うように構成または構築される。従って、コード配列に作動可能に連結した隣接配列は、このコード配列の複製、転写および/または翻訳に影響を及ぼし得る。例えば、コード配列は、プロモーターがコード配列の転写を指示し得る場合に、このプロモーターに作動可能に連結される。隣接配列は、これが正確に機能する限り、コード配列と隣接する必要はない。従って、例えば、介在する非翻訳性であるが転写される配列が、プロモーター配列とコード配列との間に存在し得、そしてこのプロモーター配列は、なおこのコード配列に「作動可能に連結」されているとみなされ得る。

【0049】

用語「天然に存在する」または「ネイティブの」は、核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞などのような生物学的物質と関連して使用される場合、天然において見出され、そしてヒトによって操作されていない物質をいう。同様に、「天然に存在しない」または「ネイティブではない」は、本明細書中で使用される場合、天然で見出されないか、またはヒトによって構造的に改変もしくは合成されている物質をいう。

【0050】

用語「薬学的に受容可能なキャリア」または「生理学的に受容可能なキャリア」は、本明細書中で使用される場合、薬学的組成物としてのIL-17様ポリペプチド、IL-17様核酸分子、またはIL-17様選択的結合因子の送達の達成または増強に適切な1つ以上の処方材料をいう。

【0051】

用語「選択的結合因子」とは、IL-17様ポリペプチドに特異性を有する分子をいう。選択的結合因子としては、抗体（例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体（mAb）、キメラ抗体、CDR-移植（graft）抗体、可溶性形態または結合形態において標識され得る抗体に対する抗イディオタイプ（抗-Id）抗体）、および公知の技術（酵素的切断、ペプチド合成、または組換え技術を含むが、これらに限定されない）によって提供されるそれらのフラグメント、領域、誘導体が挙げられる。本発明の抗IL-17様選択的結合因子は、例えば、IL-17様レセプターにIL-17様分子の一部を結合し得る。

【0052】

本明細書中で使用される場合、用語「特異的」および「特異性」とは、選択的結合因子が、ヒトIL-17様ポリペプチドに結合し、かつヒト非IL-17様ポリペプチドに結合しない能力をいう。しかし、選択的結合因子がまた、配列番号2に示されるようなポリペプチドのオルソログ（すなわち、その種間のバージョン（例えば、マウスポリペプチドおよびラットポリペプチド））に結合し得ることが、理解される。

【0053】

IL-17様ポリペプチド、フラグメント、改変体、および誘導体は、当該分野で公知の方法を用いてIL-17様選択的結合因子を調製するために使用され得る。従って、IL-17様ポリペプチドと結合する抗体および抗体フラグメントは、本発明の範囲内である。抗体フラグメントは、IL-17様ポリペプチド上のエピトープに結合する抗体のこれらの一部を含む。このようなフラグメントの例としては、全長抗体の酵素的切断によって作製されたFabおよびF(ab')₂フラグメントが挙げられる。他の結合フラグメントとしては、組換えDNA技術（例えば、抗体可変領域をコードする核酸配列を含む、組換えプラスミドの発現）によって作製されたフラグメントが挙げられる。

【0054】

用語「形質導入」とは、通常はファージによる1つの細菌から別の細菌への遺伝子の伝達をいうために使用される。「形質導入」はまた、レトロウイルスによ

る真核生物細胞配列の獲得および伝達をいう。

【0055】

用語「トランスフェクション」は、細胞による外来DNAまたは外因性DNAの取り込みをいうために使用され、そして細胞は、外因性DNAが細胞膜内に導入された場合には「トランスフェクト」されている。多数のトランスフェクション技術は、当該分野で周知であり、そして本明細書中に開示される。例えば、Grahamら, *Virology* 52:456(1973); Sambrookら, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratories (New York, 1989); Davisら, *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier, 1986; およびChuら, *Gene* 13:197(1981)を参照のこと。このような技術を使用して、1つ以上の外因性DNA部分を適切な宿主細胞に導入し得る。

【0056】

本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」とは、細胞の遺伝的特徴における変化をいい、そして細胞は、新しいDNAを含有するように改変された場合に形質転換されている。例えば、細胞は、それがそのネイティブな状態から遺伝的に改変される場合に形質転換される。トランスフェクションまたは形質導入に続いて、形質転換DNAは、物理的に細胞の染色体に組み込むことにより細胞のDNAと組換わり得るか、複製されることなしにエピソームエレメントとして一過的に保持され得るか、またはプラスミドとして独立的に複製し得る。DNAが細胞分裂と共に複製される場合に、細胞は、安定に形質転換されたとみなされる。

【0057】

用語「トランスフェクション」は、細胞による外来DNAまたは外因性DNAの取り込みをいうために使用され、そして細胞は、外因性DNAが細胞膜内に導入された場合には「トランスフェクト」されている。多数のトランスフェクション技術は、当該分野で周知であり、そして本明細書中に開示される。例えば、G

rahamã, Virology 52:456 (1973); Sambrookã, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratories (New York, 1989); Davisã, Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier, 1986; および Chuã, Gene 13:197 (1981) を参照のこと。このような技術を使用して、1つ以上の外因性DNA部分を適切な宿主細胞に導入し得る。

【0058】

用語「形質導入」とは、通常はファージによる1つの細菌から別の細菌への遺伝子の伝達をいうために使用される。「形質導入」はまた、レトロウイルスによる真核生物細胞配列の獲得および伝達をいう。

【0059】

用語「ベクター」は、宿主細胞にコード情報を伝達するために使用される任意の分子（例えば、核酸、プラスミド、またはウイルス）をいうために使用される。

【0060】

(核酸分子および/またはポリペプチドの関連性)

関連した核酸分子が、配列番号1の核酸分子の対立遺伝子改変体またはスプライス改変体を含むこと、および上記のヌクレオチド配列のいずれかに相補的である配列を含むことが理解される。関連した核酸分子はまた、配列番号2におけるポリペプチドと比較して1以上のアミノ酸残基の置換、改変、付加および/または欠失を含むかまたは本質的にこれからなるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。

【0061】

フラグメントは、配列番号2のポリペプチドの少なくとも25個のアミノ酸残基、または約50個、または約75個、または約100個、または100個以上の残基のポリペプチドをコードする分子を含む。

【0062】

さらに、関連したIL-17様核酸分子はまた、本明細書中で定義したとおりの中程度または高度にストリンジェントな条件下で、配列番号1の核酸分子またはポリペプチド（このポリペプチドは、配列番号2に示されるアミノ酸配列を含む）をコードする分子、または本明細書中に定義したとおりの核酸フラグメント、または本明細書中に定義したとおりのポリペプチドをコードする核酸フラグメントの完全に相補的な配列とハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む分子を含む。ハイブリダイゼーションプローブを、本明細書中に提供されるIL-17様配列を用いて調製して、cDNA、ゲノムDNAライブラリーまたは合成DNAライブラリーを関連した配列についてスクリーニングし得る。IL-1ra-LポリペプチドのDNA配列および/またはアミノ酸配列のうちの、既知配列に対して顕著な同一性を示す領域は、本明細書中に記載されたとおりの配列アラインメントを用いて容易に決定され、そしてこれらの領域を用いて、スクリーニングのためのプローブを設計し得る。

【0063】

用語「高度にストリンジェントな条件」とは、配列が非常に相補的であるDNA鎖のハイブリダイゼーションを可能にし、かつ顕著に不一致のDNAのハイブリダイゼーションを排除するように設計された条件をいう。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、温度、イオン強度および変性剤（例えば、ホルムアミド）の濃度によって主に決定される。ハイブリダイゼーションおよび洗浄についての「高度にストリンジェントな条件」の例としては、65～68 での0.015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウムまたは42 での0.015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウムおよび50%ホルムアミドである。Sambrook, FritschおよびManiatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory, (Cold Spring Harbor, N.Y. 1989); Andersonら, *Nucleic Acid Hybridisation: a practical approach*, 第4章, IRL Press Limited (Oxford, England) を参照のこと。

【0064】

よりストリンジェントな条件（例えば、より高い温度、より低いイオン強度、より高いホルムアミドまたは他の変性剤）もまた用いられ得るが、ハイブリダイゼーションの速度が影響される。他の薬剤は、非特異的および/またはバックグラウンドのハイブリダイゼーションを減少させる目的のために、ハイブリダイゼーションおよび洗浄の緩衝液中に含まれ得る。例として、0.1%ウシ血清アルブミン、0.1%ポリビニルピロリドン、0.1%ピロリン酸ナトリウム、0.1%ドデシル硫酸ナトリウム（ NaDodSO_4 またはSDS）、フィコール、デンハルト溶液、超音波処理サケ精子DNA（または他の非相補的DNA）および硫酸デキストランであるが、他の適切な薬剤もまた用いられ得る。これらの添加剤の濃度および種類は、ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーに実質的に影響を与えることなく変更され得る。ハイブリダイゼーション実験は通常、pH 6.8 ~ 7.4で実施されるが、代表的なイオン強度の条件では、ハイブリダイゼーションの速度は、pHからほぼ独立する。Andersonら、*Nucleic Acid Hybridisation: A Practical Approach*, 第4章, IRL Press Limited (Oxford, England)を参照のこと。

【0065】

DNA二重鎖の安定性に影響を与える因子としては、塩基組成、長さおよび塩基対の不一致程度が挙げられる。ハイブリダイゼーション条件は、これらの変動を適応し、そして異なる配列関連性のDNAがハイブリッドを形成するのを可能にするために当業者によって調整され得る。完全に一致したDNA二重鎖の融解温度は、以下の方程式によって推定され得る：

$$T_m () = 81.5 + 16.6 (\log [\text{Na}^+]) + 0.41 (G + C \%) - 600 / N - 0.72 (\% \text{ホルムアミド})$$

ここで、Nは、形成される二重鎖の長さであり、 $[\text{Na}^+]$ は、ハイブリダイゼーション溶液または洗浄溶液中でのナトリウムイオンのモル濃度であり、G + C %は、ハイブリッド中での（グアニン + シトシン）塩基の百分率である。不完全に一致したハイブリッドについては、融解温度が、1%の不一致毎に約1 下げ

られる。

【0066】

用語「中程度にストリンジェントな条件」とは、「高度にストリンジェントな条件」下で生じ得るよりも高い程度の塩基対不一致を有するDNA二重鎖が形成され得る条件をいう。代表的な「中程度にストリンジェントな条件」の例として、50～65 での0.015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウムまたは37～50 での0.015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウムおよび20%ホルムアミドである。例示として、0.015Mナトリウムイオン中での50 という「中程度にストリンジェントな」条件は、約21%の不一致を可能にする。

【0067】

「高度に」と「中程度」にストリンジェントな条件との間に絶対的な区別が存在しないことが当業者によって認識される。例えば、0.015Mナトリウムイオン（ホルムアミドなし）では、完全に一致した長さのDNAの融解温度は、約71 である。65 で（同じイオン強度で）の洗浄を用いると、約6%の不一致が可能になる。より関連性の遠い配列を捕捉するために、当業者は、単純に、温度を低くし得るかまたはイオン強度を高くし得る。

【0068】

約20ntまでのオリゴヌクレオチドプローブについての1M NaCl*中での融解温度の良好な評価は、以下によって与えられる：

$$T_m = A - T \text{塩基対あたり} 2 + G - C \text{塩基対あたり} 4$$

* 6×クエン酸ナトリウム塩（SSC）中でのナトリウムイオン濃度は、1Mである。Suggsら, *Developmental Biology Using Purified Genes* 683頁（BrownおよびFox編, 1981）を参照のこと。

【0069】

オリゴヌクレオチドについての高度ストリンジェンシー洗浄条件は通常、6×SSC、0.1% SDS中でのそのオリゴヌクレオチドのT_mよりも0～5 低い温度においてである。

【0070】

別の実施形態では、関連した核酸分子は、配列番号1に示されるとおりのヌクレオチド配列に対して約70パーセント同一であるヌクレオチド配列を含むかもしくはこれからなるか、または配列番号2に示すとおりのポリペプチドに対して約70パーセント同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むかもしくは本質的にこれからなる。好ましい実施形態では、ヌクレオチド配列は、配列番号1に示されるとおりのヌクレオチド配列に対して約75パーセント、もしくは約80パーセント、もしくは約85パーセント、もしくは約90パーセント、もしくは約95、96、97、98、もしくは99パーセント同一であるか、またはヌクレオチド配列は、配列番号2に示されるとおりのポリペプチド配列に対して約75パーセント、もしくは約80パーセント、もしくは約85パーセント、もしくは約90パーセント、もしくは約95、96、97、98、もしくは99パーセント同一であるポリペプチドをコードする。_

【0071】

核酸配列における相違は、配列番号2のアミノ酸配列に関連するアミノ酸配列の保存的および/または非保存的改変をもたらし得る。

【0072】

配列番号2のアミノ酸配列に対する保存的改変(およびコードするヌクレオチドに対応する改変)は、天然に存在するIL-17様ポリペプチドの機能的特徴および化学的特徴と類似の機能的特徴および化学的特徴を有するIL-17様ポリペプチドを生じる。対照的に、IL-17様ポリペプチドの機能的特徴および/または化学的特徴における実質的な改変は、以下を維持することに対するその影響が顕著に異なる、配列番号2のアミノ酸配列における置換を選択することによって達成され得る:(a)例えば、シートもしくはヘリックスコンホメーションのような、置換領域における分子骨格の構造、(b)標的部位での分子の電荷もしくは疎水性、または(c)側鎖のバルク。

【0073】

例えば、「保存的アミノ酸置換」は、その位置でのアミノ酸残基の極性にも電荷にもほとんどまたは全く影響がないような、ネイティブでない残基によるネイ

タイプなアミノ酸残基の置換に関連し得る。さらに、ポリペプチド中の任意のネイティブな残基はまた、「アラニンスキャニング変異誘発」について以前に記載されたように、アラニンによって置換され得る。

【0074】

所望されるアミノ酸置換（保存的であっても非保存的であっても）は、このような置換が所望される場合に当業者によって決定され得る。例えば、アミノ酸置換を使用して、IL-17様ポリペプチドの重要な残基を同定し得るか、または本明細書中で記載されるIL-17様ポリペプチドの親和性を増加もしくは減少させ得る。

【0075】

例示的なアミノ酸置換を表1に示す。

（表1：アミノ酸置換）

【0076】

【表1】

最初の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu	ノルロイシン, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4ジアミノ酸, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu

保存的アミノ酸置換はまた、生物学的系における合成によるよりむしろ、化学的なペプチド合成によって代表的に組み込まれる、天然には存在しないアミノ酸残基を含む。これらとしては、ペプチド模倣物、およびアミノ酸部分の他の逆転形態または反転形態が挙げられる。本明細書中に記載される核酸分子およびポリペプチド分子は、化学的に合成され得、そして組換え手段によって産生され得ることが、当業者によって理解される。

【0077】

天然に存在する残基は、共通の側鎖特性に基づいて、複数のクラスに分けられ得る：

- 1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- 2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

- 3) 酸性 : Asp、Glu ;
 4) 塩基性 : His、Lys、Arg ;
 5) 鎖の配向に影響を与える残基 : Gly、Pro ; および、
 6) 芳香族 : Trp、Tyr、Phe。

【0078】

例えば、非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーの、別のクラス由来のメンバーへの交換を含み得る。このような置換された残基は、非ヒトIL-17様ポリペプチドオルソログと相同なヒトIL-17様ポリペプチドの領域またはこの分子の非相同な領域に導入され得る。

【0079】

このような変化を行う際に、アミノ酸の疎水性親水性指標が考慮され得る。各アミノ酸は、その疎水性および電荷特性に基づいて、疎水性親水性指標を割り当てられている。疎水性親水性指標は、以下である：イソロイシン (+4.5) ; バリン (+4.2) ; ロイシン (+3.8) ; フェニルアラニン (+2.8) ; システイン/シスチン (+2.5) ; メチオニン (+1.9) ; アラニン (+1.8) ; グリシン (-0.4) ; スレオニン (-0.7) ; セリン (-0.8) ; トリプトファン (-0.9) ; チロシン (-1.3) ; プロリン (-1.6) ; ヒスチジン (-3.2) ; グルタミン酸 (-3.5) ; グルタミン (-3.5) ; アスパラギン酸 (-3.5) ; アスパラギン (-3.5) ; リジン (-3.9) ; およびアルギニン (-4.5)。

【0080】

タンパク質における相互作用的な生物学的機能を確認する際の、疎水性親水性アミノ酸指数の重要性は、当該分野において理解されている。Kyteら、J. Mol. Biol., 157: 105-131 (1982)。特定のアミノ酸が類似の疎水性親水性指標またはスコアを有する他のアミノ酸と置換され得、そしてなお類似の生物学的活性を維持し得ることが、公知である。疎水性親水性指標に基づいて変化を起こす際に、疎水性親水性指標が ± 2 以内であるアミノ酸の置換が好ましく、 ± 1 以内であるものが特に好ましく、そして ± 0.5 以内であるものが、なおより特に好ましい。

【0081】

類似のアミノ酸の置換が親水性に基づいて効果的になされ得る（特に、これによって作製された生物学的機能的に等価なタンパク質またはペプチドが、この場合においてと同様に、免疫学的実施形態における使用に関して意図される場合）こともまた、当該分野において理解されている。タンパク質の最も大きな局所的平均親水性は、その隣接するアミノ酸の親水性によって支配される場合に、その免疫原性および抗原性、すなわち、そのタンパク質の生物学的特性に相関する。

【0082】

以下の親水性の値が、以下のアミノ酸残基に割り当てられた：アルギニン（+3.0）；リジン（+3.0）；アスパラギン酸（+3.0 ± 1）；グルタミン酸（+3.0 ± 1）；セリン（+0.3）；アスパラギン（+0.2）；グルタミン（+0.2）；グリシン（0）；スレオニン（-0.4）；プロリン（-0.5 ± 1）；アラニン（-0.5）；ヒスチジン（-0.5）；システイン（-1.0）；メチオニン（-1.3）；バリン（-1.5）；ロイシン（-1.8）；イソロイシン（-1.8）；チロシン（-2.3）；フェニルアラニン（-2.5）；トリプトファン（-3.4）。類似の親水性の値に基づいて変化させる際に、親水性値が ± 2 以内であるアミノ酸の置換が好ましく、± 1 以内であるものが特に好ましく、そして ± 0.5 以内であるものが、なおより特に好ましい。一次アミノ酸配列から、エピトープをまた、親水性に基づいて同定し得る。これらの領域はまた、「エピトープコア領域」と呼ばれる。

【0083】

当業者は、配列番号2に示されるようなポリペプチドの適切な改変体を、周知の技術を使用して、決定し得る。例えば、生物学的活性を破壊することなく変化され得る分子の適切な領域を予測し得る。また、当業者は、生物学的活性または構造のために重要であり得る領域でさえ、生物学的活性を破壊することなく、またはポリペプチド構造に不利な影響を与えることなく、保存的アミノ酸置換に供され得ることを理解する。

【0084】

例えば、同じ種由来かまたは他の種由来の、類似の活性を有する類似のポリペ

プチドが既知である場合には、当業者は、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列を、このような類似のポリペプチドと比較し得る。このような比較を用いて、類似のポリペプチド間で保存される分子の残基および部分を同定し得る。このような類似のポリペプチドに関して保存されていない、IL-17様ポリペプチドの領域における変化が、IL-17様ポリペプチドの生物学的活性および/または構造にさほど不利な影響を与えないようであることが、理解される。当業者にはまた、比較的保存された領域においてさえ、化学的に類似のアミノ酸で、活性を維持しながら、天然に存在する残基を置換し得ることが公知である（保存的アミノ酸残基置換）。従って、生物学的活性または構造のために重要であり得る領域でさえ、生物学的活性を破壊することなく、またはポリペプチド構造に不利な影響を与えることなく、保存的アミノ酸置換に供され得る。

【0085】

活性を破壊することなく変化され得る分子の適切な領域を予測するために、当業者は、活性に重要ではないと考えられる領域を標的化し得る。例えば、同一の種由来であるかまたは他の種由来である類似の活性を有する類似のポリペプチドが既知である場合、当業者は、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列とこのような類似のポリペプチドとを比較し得る。このような比較の後に、当業者は、類似のポリペプチド間で保存される分子の残基および部分を決定し得る。当業者には、保存されていないIL-17様分子の領域における変化は、IL-17様ポリペプチドの生物学的活性および/または構造にさほど不利な影響を与えないようであることが公知である。当業者にはまた、比較的保存された領域においてさえ、化学的に類似のアミノ酸で、活性を維持しながら、天然に存在する残基を置換し得ることが公知である（保存的アミノ酸残基置換）。

【0086】

さらに、当業者は、活性または構造のために重要である、類似のポリペプチドにおける残基を同定する、構造-機能研究を再調査し得る。このような比較の観点において、類似のポリペプチドにおける活性または構造のために重要なアミノ酸残基に対応するIL-17様ポリペプチドにおけるアミノ酸残基の重要性を予測し得る。当業者は、IL-17様ポリペプチドのこのような予測された重要な

アミノ酸残基について化学的に類似のアミノ酸置換を選択し得る。

【0087】

当業者はまた、類似のポリペプチドにおける三次元構造およびその構造に関連するアミノ酸配列を分析し得る。この情報の観点において、当業者は、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸残基のアライメントを、その三次元構造に関して予測し得る。当業者は、そのタンパク質の表面上に存在すると予測されるアミノ酸残基に対して極端な変化を起こさないように、選択し得る。なぜなら、このような残基は、他の分子との重要な相互作用に関与し得るからである。さらに、当業者は、単一のアミノ酸置換を各所望のアミノ酸残基に含む試験改変体を生成し得る。これらの改変体は、次いで、当業者に公知の活性アッセイを使用して、スクリーニングされ得る。このような改変体は、適切な改変体に関する情報を集めるために使用され得る。例えば、特定のアミノ酸残基に対する変化が、破壊された活性、望ましくなく減少した活性、または適切でない活性を生じたことを発見した場合には、このような変化を有する改変体は、回避される。換言すれば、このような慣用的な実験から集めた情報に基づいて、当業者は、さらなる置換が、単独でかまたは他の変異と組み合わせてかのいずれかで回避されるべきであるアミノ酸を、容易に決定し得る。

【0088】

多数の科学刊行物が、アミノ酸配列分析からの二次構造の推定およびエピトープの同定に充てられてきた。Chouら、Biochemistry 13(2):222-245(1974); Chouら、Biochemistry 113(2):211-222(1974); Chouら、Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 47:45-148(1978); Chouら、Ann. Rev. Biochem. 47:251-276およびChouら、1979, Biophys. J., 26:367-384(1979)を参照のこと。さらに、コンピュータプログラムが、タンパク質の抗原性部分およびエピトープコア領域の推定を補助するために、現在利用可能である。例として、Jameson-Wolf解析 (Jamesonら、Comput. Appl. Biosci., 4(1):181-186(1998)およびW

olfら、Comput. Appl. Biosci., 4(1):187-191(1988))に基づくプログラム、プログラムPepPlot(登録商標)(Brutlagら、CABS, 6:237-245(1990)、およびWeinbergerら、Science, 228:740-742(1985))
 およびタンパク質の三次構造を予測するための他の新しいプログラム(Fetrowら、Biotechnology, 11:479-483(1993))が挙げられる。

【0089】

さらに、コンピュータプログラムは、二次構造の推定を補助するために現在利用可能である。二次構造を推定する1つの方法は、相同性モデリングに基づく。例えば、30%を超える配列同一性、または40%を超える類似性を有する2つのポリペプチドまたはタンパク質は、しばしば類似の構造的位相幾何学を有する。タンパク質構造データベース(PDB)の最近の成長は、ポリペプチドの構造またはタンパク質の構造内で折り畳みの潜在的な数を含む二次構造の強化された予測可能性を提供している。Holmら、Nucl. Acid. Res., 27(1):244-247(1999)を参照のこと。このことは、所定のポリペプチドまたはタンパク質における折り畳みの制限された数が存在し、そして一旦構造の臨界数が解析されると、構造的な推測は、正確性において劇的により正確になる(Brennerら、Curr. Op. Struct. Biol., 7(3):369-376(1997))。

【0090】

二次構造を推定するさらなる方法は、「スレッディング(threading)」(Jones, D., Curr. Opin. Struct. Biol. 7(3):377-87(1997); Sipplら、Structure 4(1):15-9(1996))、「プロフィール分析」(Bowieら、Science, 253:164-170(1991); Gribskovら、Meth. Enzym., 183:146-159(1990); Gribskovら、Proc. Nat. Acad. Sci., 84(13):4355-4358(1987))、および「進化学的連鎖」(evolutionary link

age)」（Holmら、前出(1999)、およびBrennerら、前出を参照のこと)を包含する。

【0091】

本発明のIL-17様ポリペプチドアナログは、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列と関連するファミリーのメンバーとを比較することによって決定され得る。例示的なIL-17様ポリペプチド関連ファミリーのメンバーは、ヒトIL-17ポリペプチドである。この比較は、Pileupアライメント(Wisconsin GCG Program Package)または保存的および非保存的領域内の複数のファミリーメンバーとの等価(オーバーラッピング)比較を用いることによって達成され得る。

【0092】

図3に示されるように、ヒトIL-17様ポリペプチド(これは、配列番号2のアミノ酸5~227を示す)の推定アミノ酸配列は、公知のヒトIL-17ファミリーメンバー(配列番号4)と整列される。他のIL-17様ポリペプチドアナログは、当業者に公知のこれらの方法または他の方法を使用して決定され得る。これらのオーバーラッピング配列は、さらなるIL-17様アナログを生じる保存的および非保存的アミノ酸置換についての指針を提供する。これらのアミノ酸置換が、天然に存在するアミノ酸または天然に存在しないアミノ酸から構成され得ることが理解される。例えば、図3に示されうように、関連するファミリーメンバーの配列は、潜在的なIL-17様アナログが、ノルロイシン、Ile、Val、Met、AlaまたはPhe残基で置換された配列番号2の47位(図3の42位)のLeu残基、Asp残基で置換された配列番号2の110位(図2の106位)のGlu残基、および/またはTrp、Phe、Thr、またはSer残基で置換された配列番号2の141位(図3の137位)のTyr残基を有することを示す。さらに、潜在的なIL-17様アナログが、AlaまたはGly残基で置換された配列番号2の151位(図3の147位)のPro残基、SerまたはAla残基で置換された配列番号2の159位(図3の155位)のCys残基、SerまたはAla残基で置換された配列番号2の161位(図3の157位)のCys残基、SerまたはAla残基で置換された配列番

号2の164位(図3の160位)のCys残基、SerまたはAla残基で置換された配列番号2の193位(図3の189位)のCys残基、SerまたはAla残基で置換された配列番号2の219位(図3の216位)のCys残基、および/またはSerまたはAla残基で置換された配列番号2の221位(図3の218位)のCys残基を有し得る。

【0093】

好ましい実施形態において、改変体は、1~3、または1~5、または1~10、または1~15、または1~20、または1~25、または1~50、または1~75、または1~100、または100を超えるアミノ酸の置換、挿入、付加、および/または欠失を有し、ここでこの置換は、本明細書中に記載したように保存的もしくは非保存的またはこれらの任意の組み合わせであり得る。さらに、改変体は、カルボキシ末端またはアミノ末端のいずれかにアミノ酸残基の付加(リーダー配列を伴うかまたは伴わずに)を有し得る。

【0094】

好ましいIL-17様ポリペプチド改変体としては、グリコシル化部位の数および/または型がネイティブなIL-17様ポリペプチドと比較して変化している、グリコシル化改変体が挙げられる。1つの実施形態において、IL-17様ポリペプチド改変体は、より多いかまたはより少ない数のN結合型グリコシル化部位を含む。N結合型グリコシル化部位は、配列: Asn-X-SerまたはAsn-X-Thrによって特徴付けられ、ここで、Xと印されるアミノ酸残基は、プロリン以外の任意のアミノ酸残基であり得る。この配列を作製するためのアミノ酸残基の置換は、N結合型糖鎖の付加のための潜在的に新たな部位を提供する。あるいは、この配列を排除する置換は、存在するN結合型糖鎖を除去する。1つ以上のN結合型グリコシル化部位(代表的に、天然に存在するグリコシル化部位)が排除され、そして1つ以上の新たなN結合部位が作製される、N結合型糖鎖の再配列もまた、提供される。さらなる好ましいIL-17様改変体としては、1つ以上のシステイン残基が、別のアミノ酸配列から欠失しているか、または別のアミノ酸(例えば、セリン)で置換されている、システイン改変体が挙げられる。システイン改変体は、IL-17様ポリペプチドが、例えば不溶性の封

入体の単離の後に、生物学的に活性な立体構造へとリフォールディングされなければならない場合に、有用である。システイン改変体は、一般に、ネイティブタンパク質より少ないシステイン残基を有し、そして代表的には偶数のシステイン残基を有して、対合していないシステインから生じる相互作用を最小にする。

【0095】

さらに、配列番号2またはIL-17様ポリペプチド改変体のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、同種ポリペプチドに融合してホモダイマーを形成し得るか、または異種ポリペプチドに融合してヘテロダイマーを形成し得る。異種のペプチドおよびポリペプチドとしては、以下が挙げられるが、それらに限定されない：IL-17様融合ポリペプチドの検出および/または単離を可能にするエピート；膜貫通レセプタータンパク質またはその部分（例えば、細胞外ドメインまたは膜貫通ドメインおよび細胞内ドメイン）；膜貫通レセプタータンパク質に結合する、リガンドまたはその部分；触媒的に活性である、酵素またはその部分；オリゴマー化を促進するポリペプチドまたはペプチド（例えば、ロイシンジッパードメイン）；安定性を増加させるポリペプチドまたはペプチド（例えば、免疫グロブリン定常領域）；ならびに、IL-17様ポリペプチドとは異なる治療活性を有するポリペプチド。さらに、IL-17様ポリペプチドは、それ自身に融合し得るか、またはフラグメント、改変体もしくはそれらの誘導体に融合し得る。

【0096】

融合は、IL-17様ポリペプチドの、アミノ末端またはカルボキシル末端のいずれかにおいて、なされ得る。融合は、リンカーもしくはアダプター分子を用いずに直接であってもよいし、リンカーもしくはアダプター分子（例えば、約20個のアミノ酸残基まで、または約50個のアミノ酸残基までの1以上のアミノ酸残基）を介してであってもよい。リンカーまたはアダプター分子はまた、DNA制限エンドヌクレアーゼまたはプロテアーゼについての切断部位を有して設計されて、融合した部分の分離を可能にし得る。一旦構築されると、この融合ポリペプチドは、本明細書中に記載の方法に従って誘導体化され得ることが、理解される。

【0097】

本発明のさらなる実施形態において、フラグメント、改変体、および/または誘導体を含むIL-17様ポリペプチド改変体は、ヒトIgGのFc領域に融合される。抗体は、以下の2つの機能的に独立した部分を含む：抗原を結合する「Fab」として公知の変域ドメイン、および補体活性化のようなエフェクター機能に連結し、そして食細胞によって攻撃される、「Fc」として公知の定常ドメイン。Fcは、長い血清半減期を有し、一方でFabは、短寿命である。Caponら、Nature 337:525-31(1989)。治療タンパク質と一緒に構築される場合には、Fcドメインは、より長い半減期を提供し得るか、またはFcレセプター結合、プロテインA結合、補体固定、および恐らく、さらに胎盤移入のような機能を組み込み得る。同書。表IIは、当該分野において公知の特定のFc融合物の使用を要約する(融合されたIL-17様ポリペプチドの産生に適用可能な材料および方法を含む)。

【0098】

【表2】

治療的抗体とのFc融合

Fcの形態	融合部位	治療との関係	参考文献
IgG1	CD30-Lの N-末端	淋巴瘤病; 未分化リンパ腫; T細胞淋巴瘤	米国特許第 5,480,981号
マウス Fcγ2a	IL-10	抗炎症; 移植拒絶	Zheng ら (1995), <i>J. Immunol.</i> , 154: 5590-5600
IgG1	TNF レセプター	敗血症性ショック	Fisher ら (1996), <i>N. Engl. J. Med.</i> , 334: 1697-1702; Van Zee ら (1996), <i>J. Immunol.</i> , 156: 2221-2230
IgG, IgA, IgM, 和IgE (第1ドメインを 排除する)	TNF レセプター	炎症, 自己免疫障害	米国特許第5,808,029号 (1998年9月15日刊行)
IgG1	CD4 レセプター	AIDS	Capon ら (1989), <i>Nature</i> 337: 525-531
IgG1, IgG3	IL-2の N末端	抗癌, 抗ウイルス	Harvill ら (1995), <i>Immunotech.</i> , 1: 95-105
IgG1	OPGの C末端	変形性関節症 骨密度	WO 97/23614 (1997年7月3日公開)
IgG1	レプティンの N末端	抗肥満症	PCT/US 97/23183, (1997年12月11日出版)
ヒト IgG1	CTLA-4	自己免疫障害	Linsley (1991), <i>J. Exp. Med.</i> , 174: 561-569

一例において、ヒト IgG のヒンジ領域、CH2 領域、および CH3 領域のすべてまたは一部は、当業者に公知の方法を使用して、IL-17 様ポリペプチドの N 末端または C 末端のいずれかで、融合され得る。別の例において、ヒンジ領域ならびに CH2 領域および CH3 領域の部分は、融合され得る。得られる IL-17 様ポリペプチド Fc 融合ポリペプチドは、プロテイン A アフィニティーカラムの使用によって、精製され得る。Fc 領域に融合したペプチドおよびタンパク質は、融合していない対応物より実質的に長い半減期をインビボで示すことが見出された。また、Fc 領域への融合は、融合ポリペプチドの二量化/多量体化を可能にする。Fc 領域は、天然に存在する Fc 領域であり得るか、または治療の質、循環時間、減少した凝集などのような、特定の質を改善するよう変更され得る。

【0099】

関連する核酸分子およびポリペプチドの同一性および類似性は、公知の方法によって容易に計算され得る。このような方法としては、Computation

al Molecular Biology, Lesk A.M. 編、Oxford University Press、New York、1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W. 編、Academic Press、New York、1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin A.M. および Griffin H.G. 編、Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. および Devereux, J. 編、M. Stockton Press, New York, 1991; ならびに Carillo ら、SIAM J. Applied Math., 48:1073 (1988) に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0100】

同一性および/または類似性を決定するための好ましい方法は、試験される配列間での最大の適合を与えるように、設計される。同一性および類似性を決定するための方法は、公に利用可能なコンピュータプログラムにおいて記載されている。2つの配列間の同一性および類似性を決定するための、好ましいコンピュータプログラム方法としては、GCGプログラムパッケージ(GAP(Devereux ら、Nucl. Acid. Res. 12:387(1984); Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI)、BLASTP、BLASTN、およびFASTA(Altschul ら、J. Mol. Biol., 215:403-410(1990))を含む)が挙げられるが、これらに限定されない。BLASTXプログラムは、National Center for Biotechnology Information(NCBI)および他の供給源(BLAST Manual, Altschul ら、(NCB/NLM/NIH Bethesda, MD 20894); Altschul ら、1990、前出)

から公に利用可能である。周知のSmith Watermanアルゴリズムもまた、同一性を決定するために使用され得る。

【0101】

2つのアミノ酸配列を整列させるための特定のアライメントスキームは、これら2つの配列の短い領域のみの適合を生じ得、そしてこの小さな整列領域は、2つの全長配列間に有意な関連がない場合でさえも、非常に高い配列同一性を有し得る。従って、好ましい実施形態において、選択されたアライメント方法(GAPプログラム)は、標的ポリペプチドの少なくとも50個連続するアミノ酸にわたるアライメントを生じる。

【0102】

例えば、コンピュータアルゴリズムGAP (Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI) を使用して、配列同一性パーセントが決定されるべき2つのポリペプチドが、それらのそれぞれのアミノ酸の最適な適合(アルゴリズムによって決定される「適合したスパン」)のために、整列される。ギャップオープニングペナルティー(gap opening penalty) (これは、平均対角の3倍として計算される: 「平均対角」とは、使用される比較行列(comparison matrix)の対角の平均である; 「対角」とは、特定の比較行列によって各完全なアミノ酸適合に対して割り当てられたスコアまたは数である)およびギャップエクステンションペナルティー(gap extension penalty) (これは通常、ギャップオープニングペナルティーの0.1倍である)、ならびにPAM 250またはBLOSUM 62のような比較行列が、このアルゴリズムと組み合わせて使用される。標準的な比較行列もまた、このアルゴリズムによって使用される(Dayhoffら、Atlas of Protein Sequence and Structure、第5巻、補遺3(1978)(PAM250比較行列について); Henikoffら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:10915-10919(1992)(BLOSUM 62比較行列について)を参照のこと)。

【0103】

ポリペプチド配列比較のための好ましいパラメータは、以下を含む：

アルゴリズム (Algorithm) : Needlemanら、1970, J. Mol. Biol. 48:443-453 ;

比較行列 (Comparison matrix) : BLOSUM 62 (Henikoffら、1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:10915-10919) ;

ギャップペナルティ (Gap Penalty) : 12

ギャップ長ペナルティ (Gap Length Penalty) : 4

類似性の開始 (Threshold of Similarity) : 0

このGAPプログラムは、上記パラメータを用いて有用である。上記パラメータは、GAPアルゴリズムを用いるポリペプチド比較 (末端ギャップに対してはペナルティがないこととともに) のためのデフォルトパラメータである。

【0104】

核酸分子配列比較のための好ましいパラメータは、以下を含む：

アルゴリズム (Algorithm) : Needlemanら、1970, J. Mol. Biol. 48:443-453 ;

比較行列 (Comparison matrix) : マッチ (matches) = +10, ミスマッチ (mismatch) = 0

ギャップペナルティ (Gap Penalty) : 50

ギャップ長ペナルティ (Gap Length Penalty) : 3

このGAPプログラムはまた、上記パラメータを用いて有用である。上記パラメータは、核酸分子比較のためのデフォルトパラメータである。

【0105】

Program Manual, Wisconsin Package, Version 9, September, 1997に記載されるものを含む、他の例示的なアルゴリズム、ギャップ開始ペナルティ (gap opening penalty)、ギャップ伸長ペナルティ (gap extension penalty)、比較行列および類似性の開始などが当業者によって使用され得る。なされるべき特定の選択は、当業者に明らかであり、そしてなされるべき特定

の比較（例えば、DNA対DNA、タンパク質対タンパク質、タンパク質対DNA）；ならびにさらに、その比較が所定の対の配列間（この場合には、GAPまたはBest Fitが一般的に好ましい）であるか、1つの配列と大きなデータベースの配列との間（この場合には、FASTAまたはBLASTAが好ましい）であるかに依存する。

【0106】

（合成）

本明細書中に記載される核酸およびポリペプチド分子は、組換えおよび他の手段によって産生され得ることは、当業者によって理解される。

【0107】

（核酸分子）

IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列を比較するポリペプチドをコードする核酸分子は、種々の様式（化学合成、cDNAもしくはゲノムライブラリーのスクリーニング、発現ライブラリースクリーニング、および/またはcDNAのPCR増幅が挙げられるが、これらに限定されない）で容易に得られ得る。

【0108】

本明細書中において使用される組換えDNA法は、一般に、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989、および/またはAusubelら編、Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishers Inc. およびWiley and Sons, NY 1994)に記載されている。本発明は、本明細書中に記載され得るような核酸分子、およびこのような分子を得るための方法を提供する。

【0109】

IL-17様ポリペプチドまたはそのフラグメントをコードする遺伝子またはcDNAは、ゲノムライブラリーまたはcDNAライブラリーのハイブリダイゼーションスクリーニングをすることによってか、あるいはPCR増幅によって得

られ得る。IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする遺伝子が1つの種から同定された場合には、この遺伝子の全てまたは一部は、他の種(オーソログ)由来の対応する遺伝子または同種由来の関連する遺伝子を同定するためのプローブとして使用され得る。このプローブまたはプライマーを使用して、IL-17様ポリペプチドを発現すると考えられる種々の組織供給源由来のcDNAをスクリーニングし得る。さらに、配列番号1に示されるような配列を有する核酸分子の一部または全てを使用して、ゲノムライブラリーをスクリーニングし、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする遺伝子を同定および単離し得る。代表的に、中程度または高いストリンジェンシーの条件が、スクリーニングのために使用されて、このスクリーニングから得られた偽陽性の数を最小にする。

【0110】

IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子もまた、発現されたタンパク質の特性に基づいて陽性クローンの検出を使用する発現クローニングによって、同定され得る。代表的に、核酸ライブラリーは、抗体または他の結合パートナー(例えば、レセプターまたはリガンド)を、宿主細胞表面において発現および提示されるクローンタンパク質に結合させることによって、スクリーニングされる。この抗体または結合パートナーは、所望のクローンを発現するこれらの細胞を同定するために、検出可能な標識で修飾される。

【0111】

以下に記載される説明に従って実施される組換え発現技術に従って、これらのポリヌクレオチドを産生し得、そしてコードされたポリペプチドを発現し得る。例えば、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸配列を適切なベクターに挿入することによって、当業者は、多量の所望のヌクレオチド配列を容易に生成し得る。次いで、これらの配列を使用して、検出プローブまたは増幅プライマーを生成し得る。あるいは、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを、発現ベクターに挿入し得る。発現ベクターを適切な宿主に導入することによって、コードされたIL-17様ポリペプチドが、多量に生成され得る。

【0112】

適切な核酸配列を得るための別の方法は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）である。この方法において、cDNAは、酵素逆転写酵素を使用して、ポリ（A）+RNAまたは全RNAから調製される。次いで、2つのプライマー（代表的には、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードするcDNA（オリゴヌクレオチド）の2つの別個の領域に対して相補的である）が、Taqポリメラーゼのようなポリメラーゼと共にこのcDNAに付加され、そしてこのポリメラーゼが、これら2つのプライマー間のcDNA領域を増幅する。

【0113】

IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子（フラグメントまたは改変体を含む）を調製する別の手段は、Engelsら、1989, *Angew. Chem. Intl.* 編. 28: 716-734によって記載されるような、当業者に周知の方法を使用する、化学合成である。これらの方法としては、とりわけ、核酸合成のためのリン酸トリエステル、ホスホルアミダイト、およびH-ホスホネート方法が挙げられる。このような化学合成のために好ましい方法は、標準的なホスホルアミダイト化学を使用する、ポリマーにより支持される合成である。代表的に、IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードするDNAは、数百ヌクレオチド長である。約100ヌクレオチドより長い核酸は、これらの方法を使用して、いくつかのフラグメントとして合成され得る。次いで、これらのフラグメントが一緒に連結されて、IL-17様ポリペプチドの全長ヌクレオチド配列を形成し得る。通常、このポリペプチドのアミノ末端をコードするDNAフラグメントは、ATGを有し、これは、メチオニン残基をコードする。このメチオニンは、宿主細胞において産生されたポリペプチドがその細胞から分泌されるよう設計されるか否かに依存して、IL-17様ポリペプチドの成熟形態で存在してもよいし、そうでなくてもよい。当業者に公知の他の方法が、同様に使用され得る。

【0114】

いくつかの場合において、IL-17様ポリペプチド改変体をコードする核酸分子を調製することが所望であり得る。改変体をコードする核酸分子は、プライ

マーが所望の点変異を有する、部位特異的変異誘発、PCR増幅、または他の適切な方法を使用して生成し得る（変異誘発技術の記載に関しては、Sambrookら、前出、およびAusubelら、前出を参照のこと）。Engelsら、前出によって記載される方法を使用する化学合成もまた、このような改変体を調製するために使用され得る。当業者に公知の他の方法が、同様に使用され得る。

【0115】

特定の実施形態において、核酸改変体は、所定の宿主細胞におけるIL-17様ポリペプチドの最適な発現のために変更されたコドンを含む。特定のコドン変更は、発現のために選択されるIL-17様ポリペプチドおよび宿主細胞に依存する。このような「コドン最適化」は、種々の方法によって（例えば、所定の宿主細胞において高度に発現される遺伝子での使用に好ましいコドンを選択することによって）実施され得る。高度に発現された細菌遺伝子のコドン優先性のための「Ecohigh.cod」のようなコドン度数表を組み込むコンピュータアルゴリズムが使用され得、そしてUniversity of Wisconsin Package Version 9.0 (Genetics Computer Group, Madison, WI)によって提供される。他の有用なコドン度数表としては、「Celegans_high.cod」、「Celegans_low.cod」、「Drosophila_high.cod」、「Human_high.cod」、「Maize_high.cod」、および「Yeast_high.cod」が挙げられる。

【0116】

他の実施形態において、核酸分子は、本明細書中に記載されるような保存的アミノ酸置換を有するIL-17様改変体、1以上のN-連結またはO-連結グリコシル化部位の付加および/または欠失を含むIL-17様改変体、1以上のシステイン残基欠失および/または置換を有するIL-17様改変体、あるいは本明細書中に記載されるようなIL-17様ポリペプチドフラグメントをコードする。さらに、核酸分子は、IL-17様改変体、フラグメントおよび本明細書中に記載される融合ポリペプチドのいずれかの組み合わせをコードし得る。

【0117】

(ベクターおよび宿主細胞)

IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子を、標準的な連結技術を使用して適切な発現ベクターに挿入する。ベクターは、代表的に、使用される特定の宿主細胞において機能的であるように選択される(すなわち、ベクターは、遺伝子の増幅および/または遺伝子の発現が生じ得るように、宿主細胞機構と適合性がある)。IL-17様ポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子は、原核生物宿主細胞、酵母宿主細胞、昆虫(バキュロウイルス系)宿主細胞および/または真核生物宿主細胞において増幅/発現され得る。宿主細胞の選択は、IL-17様ポリペプチドが翻訳後修飾(例えば、グリコシル化および/またはホスホリル化)されるか否かに一部依存する。そうである場合、酵母宿主細胞、昆虫宿主細胞、または哺乳動物宿主細胞が好ましい。発現ベクターの総説について、Meth. Enz., 第185巻(D. V. Goeddel, 編., Academic Press Inc., San Diego, 1990)を参照のこと。

【0118】

代表的に、任意の宿主細胞に使用される発現ベクターは、プラスミド維持のためならびに外来性ヌクレオチド配列のクローニングおよび発現のための配列を含む。このような配列(集合的に、「隣接配列」と呼ばれる)は、特定の実施形態において、代表的に、以下のヌクレオチド配列の1つ以上を含む: プロモーター、1つ以上のエンハンサー配列、複製起点、転写終結配列、ドナーおよびアクセプタースプライス部位を含む完全なイントロン配列、ポリペプチド分泌のためのリーダー配列をコードする配列、リボソーム結合部位、ポリアデニル化配列、発現されるポリペプチドをコードする核酸を挿入するためのポリリンカー領域、ならびに選択マーカーエレメント。これらの配列のそれぞれが、以下に議論される。

【0119】

必要に応じて、ベクターは、「タグ」コード配列(すなわち、IL-17様ポリペプチドコード配列の5'末端または3'末端に配置されるオリゴヌクレオチ

ド分子)を含み得;オリゴヌクレオチド配列は、polyHis(例えば、hexaHis)、別の「タグ」(例えば、FLAG、HA(赤血球凝集素インフルエンザウイルス))または市販の抗体が存在するmycをコードする。このタグは、代表的には、ポリペプチドの発現の際にポリペプチドに融合され、そして宿主細胞からの、IL-17様ポリペプチドのアフィニティー精製のための手段として役立つ。アフィニティー精製は、例えば、アフィニティーマトリクスとしてタグに対する抗体を使用するカラムクロマトグラフィーによって達成され得る。必要に応じて、タグは、続いて、切断のために特定のペプチダーゼを使用するような種々の手段によって、精製されたIL-17様ポリペプチドから除去され得る。

【0120】

隣接配列は、同種(すなわち、宿主細胞と同じ種および/または系統由来)であり得るか、異種(すなわち、宿主細胞種または宿主細胞系統以外の種由来)であり得るか、ハイブリッド(すなわち、1つより多くの供給源由来の隣接配列の組み合わせ)であり得るか、または合成であり得るか、あるいは隣接配列は、IL-17様ポリペプチド発現を調節するために正常に機能するネイティブな配列であり得る。このように、隣接配列の供給源は、任意の原核生物または真核生物、任意の脊椎生物または無脊椎生物、あるいは任意の植物であり得、但し、隣接配列は、宿主細胞の機構において機能的であり、そして宿主細胞の機構によって活性化され得る。

【0121】

本発明のベクターに有用な隣接配列は、当該分野において周知である任意のいくつかの方法によって得られ得る。代表的には、内因性IL-17様遺伝子隣接配列以外の、本明細書中で有用な隣接配列は、マッピングおよび/または制限エンドヌクレアーゼ消化によって以前に同定されており、従って、適切な制限エンドヌクレアーゼを使用して、適切な組織供給源から単離され得る。いくつかの場合において、隣接配列の全長ヌクレオチド配列は公知であり得る。ここで、隣接配列は、核酸合成またはクローニングのために本明細書中で記載される方法を使用して合成され得る。

【0122】

隣接配列の全てまたは一部のみが公知である場合、PCRを使用して、そして/あるいは適切なオリゴヌクレオチドならびに/または同じもしくは別の種由来の隣接配列フラグメントを用いてゲノムライブラリーをスクリーニングすることによって、隣接配列は得られ得る。隣接配列が公知でない場合、隣接配列を含むDNAのフラグメントは、例えば、コード配列または別の遺伝子(単数または複数)を含み得る大きなDNA断片から単離され得る。単離は、適切なDNAフラグメントを生成するための制限エンドヌクレアーゼ消化、続くアガロースゲル精製を使用する単離、Qiagen(登録商標)カラムクロマトグラフィー(Chatsworth, CA)、または当業者に公知の他の方法によって達成され得る。この目的を達成するための適切な酵素の選択は、当業者に容易に明かである。

【0123】

複製起点は、代表的に、市販から購入された原核生物発現ベクターの一部であり、この起点は、宿主細胞においてベクターの増幅に役立つ。特定のコピー数へのベクターの増幅は、いくつかの場合において、IL-17様ポリペプチドの最適な発現に重要であり得る。選択されたベクターが複製起点部位を含まない場合、公知の配列に基づいて化学的に合成され得、そしてベクターに連結され得る。例えば、プラスミドpBR322(製品番号303-3s、New England Biolabs, Beverly, MA)からの複製起点は、大部分のグラム陰性細菌に適切であり、そして種々の起点(例えば、SV40、ポリオーマ、アデノウイルス、水疱性口内炎ウイルス(VSV)、またはHPVもしくはBPVのようなパピローマウイルス)は、哺乳動物細胞におけるクローニングベクターのために有用である。一般的に、複製起点の成分は、哺乳動物発現ベクターに必要とされない(例えば、SV40起点は、それが初期プロモーターを含むので、それのみでしばしば使用される)。

【0124】

転写終結配列は、代表的にポリペプチドコード領域の末端の3'側に配置され、そして転写を終結させるのに役立つ。通常、原核生物細胞における転写終結配

列は、G - Cリッチフラグメント、続いてポリ - T配列である。この配列はライブラリーから容易にクローン化され得るか、またはベクターの一部として市販で購入されるが、これはまた、本明細書に記載されるような核酸合成のための方法を使用して容易に合成され得る。

【0125】

選択マーカー遺伝子エレメントは、選択培養培地において増殖される宿主細胞の生存および増殖に必要なタンパク質をコードする。代表的な選択マーカー遺伝子は、(a) 原核生物宿主細胞に対して、抗生物質または他の毒素（例えば、アンピシリン、テトラサイクリン、またはカナマイシン）に対する耐性を与えるか；(b) 細胞の栄養要求性の欠損を補うか；あるいは(c) 複合培地から入手可能でない重要な栄養素を供給するタンパク質をコードする。好ましい選択マーカーは、カナマイシン耐性遺伝子、アンピシリン耐性遺伝子、およびテトラサイクリン耐性遺伝子である。ネオマイシン耐性遺伝子もまた、原核生物宿主細胞および真核生物宿主細胞における選択のために使用され得る。

【0126】

他の選択遺伝子は、発現される遺伝子を増幅するために使用され得る。増幅は、増殖に重要なタンパク質の産生により大きく要求される遺伝子が、組換え細胞の染色体の連続的な生成の内にタンデムに反復されるプロセスである。哺乳動物細胞に対する適切な選択マーカーの例としては、ジヒドロ葉酸レダクターゼ(DHFR)およびチミジンキナーゼが挙げられる。哺乳動物細胞形質転換体は、選択圧下に置かれ、ここで、形質転換体のみが、ベクターに存在する選択遺伝子のおかげで生存するように独特に適合される。選択圧は、培地中の選択薬剤の濃度が連続的に変化し、それによって選択遺伝子とIL-17様ポリペプチドをコードするDNAとの両方の増幅を導く条件下で、形質転換された細胞を培養することによって課される。結果として、増加した量のIL-17様ポリペプチドが、増幅されたDNAから合成される。

【0127】

リボソーム結合部位は、通常、mRNAの翻訳開始に必要であり、そしてシャイン・ダルガルノ配列(原核生物)またはコザック配列(真核生物)によって特

徴付けられる。このエレメントは、代表的に、発現されるIL-17様ポリペプチドのプロモーターの3'側およびコード配列の5'側に配置される。シャイン・ダルガルノ配列は、可変であるが、代表的には、ポリプリン(すなわち、高いA-G含有量を有する)である。多くのシャイン・ダルガルノ配列は、同定されており、それぞれが、本明細書中に記載の方法を使用し、かつ原核生物ベクター中で使用して、容易に合成され得る。

【0128】

リーダー配列、またはシグナル配列は、宿主細胞からIL-17様ポリペプチドを指向させるために使用され得る。代表的には、シグナル配列をコードするヌクレオチド配列は、IL-17様核酸分子のコード領域に位置するか、または直接IL-17様ポリペプチドコード領域の5'末端に位置する。多くのシグナル配列が同定されており、そして選択された宿主細胞において機能的である任意のシグナル配列が、IL-17様核酸分子と組み合わせて使用され得る。従って、シグナル配列は、IL-17様遺伝子またはcDNAに対して同種(天然に存在する)または異種であり得る。さらに、シグナル配列は、本明細書中に記載される方法を使用して化学的に合成され得る。ほとんどの場合、シグナルペプチドの存在による宿主細胞からのIL-17様ポリペプチドの分泌は、分泌されたIL-17様ポリペプチドからのシグナルペプチドの除去を生じる。シグナル配列は、ベクターの成分であり得るか、またはベクターに挿入されたIL-17様核酸分子の一部であり得る。

【0129】

IL-17様ポリペプチドコード領域に結合されたネイティブなIL-17様ポリペプチドシグナル配列をコードするヌクレオチド配列またはIL-17様ポリペプチドコード領域に結合された異種シグナル配列をコードするヌクレオチド配列のいずれかの使用が本発明の範囲内に含まれる。選択された異種シグナル配列は、宿主細胞によって認識され、かつプロセスされる(すなわち、シグナルペプチダーゼによって切断される)ものであるべきである。ネイティブなIL-17様ポリペプチドシグナル配列を認識せず、かつプロセスしない原核生物宿主細胞について、シグナル配列は、例えば、アルカリホスファターゼ、ペニシリナー

ぜ、または熱安定エンテロトキシンIIリーダーの群から選択される原核生物シグナル配列によって置換される。酵母分泌について、ネイティブなIL-17様ポリペプチドシグナル配列は、酵母インベルターゼ、因子、または酸ホスファターゼリーダーによって置換され得る。哺乳動物細胞発現において、ネイティブなシグナル配列が十分であるが、他の哺乳動物シグナル配列が適切であり得る。

【0130】

グリコシル化が真核生物宿主細胞発現系において望ましいような、いくつかの場合において、グリコシル化または収量を改善するために種々のプレ配列 (pre sequence) が操作され得る。例えば、特定のシグナルペプチドのペプチダーゼ切断部位を変更し得るかまたはプレ配列を加え得、これはまた、グリコシル化に影響し得る。最終タンパク質産物は、1位に(成熟タンパク質の最初のアミノ酸に対して)、発現に付随して1つ以上のさらなるアミノ酸を有し得、これは、完全に除去されないかもしれない。例えば、最終タンパク質産物は、N末端に結合される、ペプチダーゼ切断部位において見出される1つまたは2つのアミノ酸残基を有し得る。あるいは、いくつかの酵素切断部位の使用は、酵素が成熟ポリペプチド内のこのような領域を切断する場合、所望のIL-17様ポリペプチドの少し短縮した形態を生じ得る。

【0131】

多くの場合において、核酸分子の転写は、ベクター内の1つ以上のイントロンの存在によって増加する；これは、ポリペプチドが真核生物宿主細胞(特に、哺乳動物宿主細胞)において産生される場合、特に当てはまる。使用されるイントロンは、特に使用される遺伝子が全長ゲノム配列またはそのフラグメントである場合、IL-17様遺伝子内に天然に存在し得る。イントロンが遺伝子内に天然に存在しない(大部分のcDNAについて)場合、イントロンは、別の供給源から得られ得る。隣接配列およびIL-17様遺伝子に関してイントロンの位置は、イントロンが効果的に転写されなければならないので、一般的に重要である。従って、IL-17様cDNA分子が転写される場合、イントロンの好ましい位置は、転写開始部位の3'側およびポリ-A転写終結配列の5'側である。好ましくは、このイントロンまたはイントロンは、コード配列を妨害しないように

、cDNAの一方の側または他方の側(すなわち、5'側または3'側)に配置される。任意の供給源(任意のウイルス、原核生物および真核生物(植物または動物)を含む)由来の任意のイントロンを使用して本発明を実行し得るが、但し、このイントロンは、挿入される宿主細胞に適合性がある。合成イントロンもまた本明細書に含まれる。必要に応じて、1つより多くのイントロンがベクター内で使用され得る。

【0132】

本発明の発現ベクターおよびクローニングベクターは、それぞれ代表的には、宿主生物によって認識され、かつIL-17様ポリペプチドをコードする分子に作動可能に連結されたプロモーターを含む。プロモーターは、構造遺伝子の転写を制御する構造遺伝子(一般的に、約100~1000bp内)の開始コドンに対して上流(5'側)に配置される非転写配列である。プロモーターは、通常、2つのクラス(誘導プロモーターおよび構成プロモーター)のうちの1つにグループ化される。誘導プロモーターは、培養条件におけるいくつかの変化(例えば、栄養の存在または非存在、あるいは温度の変化)に応答してそれらの制御下で、DNAからの増加したレベルの転写を開始する。他方、構成プロモーターは、連続的な遺伝子産物の産生を開始する;すなわち、遺伝子発現に対して遺伝子をほとんど制御しないかまたは制御しない。多数のプロモーター(種々の潜在的な宿主細胞によって認識される)が周知である。適切なプロモーターは、供給源のDNAからプロモーターを制限酵素消化によって取り出し、そして所望のプロモーター配列をベクターに挿入することによって、IL-17様ポリペプチドをコードするDNAに作動可能に連結される。ネイティブなIL-17様遺伝子プロモーター配列は、IL-17様核酸分子の増幅および/または発現を指向させるために使用され得る。しかし、ネイティブなプロモーターと比較してより大きい転写および発現タンパク質のより高い産生が可能である場合、および使用のために選択された宿主細胞系と適合性がある場合、異種プロモーターが好ましい。

【0133】

原核生物宿主との使用に適切なプロモーターとしては、 λ -ラクタマーゼおよびラクトースプロモーター系;アルカリホスファターゼ;トリプトファン(tr

p) プロモーター系；およびハイブリッドプロモーター（例えば、tacプロモーター）が挙げられる。他の公知の細菌プロモーターもまた、適切である。これらの配列は、公開されており、その結果、当業者は、任意の有用な制限部位を供給するのに必要とされるリンカーまたはアダプターを使用して、所望のDNA配列にそれらの配列を連結し得る。

【0134】

酵母宿主との使用に適切なプロモーターはまた、当該分野において周知である。酵母エンハンサーは、酵母プロモーターと共に有利に使用される。哺乳動物宿主細胞との使用に適切なプロモーターは周知であり、そして、このプロモーターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス（例えば、Adenovirus 2）、ウシパピローマウイルス、鳥類肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス（CMV）、レトロウイルス、B型肝炎ウイルスおよび最も好ましくはシミアンウイルス40（SV40）のようなウイルスのゲノムから得られるプロモーター。他の適切な哺乳動物プロモーターとしては、異種哺乳動物プロモーター（例えば、熱ショックプロモーターおよびアクチンプロモーター）が挙げられる。

【0135】

IL-17様遺伝子転写を制御することを目的とし得るさらなるプロモーターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定しされない：SV40初期プロモーター領域（Bernois tおよびChambon, 1981, Nature 290:304-310）；CMVプロモーター；ラウス肉腫ウイルスの3'側の長い末端反復に含まれるプロモーター（Yamamotoら, 1980, Cell 22:787-797）；ヘルペスチミジンキナーゼプロモーター（Wagnerら, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 78:144-1445, 1981）；メタロチオネイン遺伝子の調節配列（Brinsterら, 1982, Nature 296:39-42）； γ -ラクタマーゼプロモーターのような原核生物発現ベクター（Villa-Kamaroffら, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 75:3727-3731）；またはtacプロモーター（DeBoerら, 198

3, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 80:21-25)。
組織特異性を示し、そしてトランスジェニック動物において利用されている以下の動物転写制御領域もまた目的とする：膵臓腺房細胞において活性なエラストラーゼI遺伝子制御領域 (Swiftら, 1984, Cell 38:639-646; Ornitzら, 1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50:399-409 (1986); MacDonald, 1987, Hepatology 7:425-515); 膵臓細胞において活性なインシュリン遺伝子制御領域 (Hanahan, 1985, Nature 315:115-122); リンパ系細胞において活性な免疫グロブリン遺伝子制御領域 (Grosschedlら, 1984, Cell 38:647-658; Adamesら, 1985, Nature 318:533-538; Alexanderら, 1987, Mol. Cell. Biol., 7:1436-1444); 精巣、乳房、リンパ球、および肥満細胞において活性なマウス乳腺癌ウイルス制御領域 (Lederら, 1986, Cell 45:485-495); 肝臓において活性なアルブミン遺伝子制御領域 (Pinkertら, 1987, Genes and Devel. 1:268-276); 肝臓において活性な α -フェトプロテイン遺伝子制御領域 (Krumlaufら, 1985, Mol. Cell. Biol., 5:1639-1648; Hammerら, 1987, Science 235:53-58); 肝臓において活性な α 1-抗トリプシン遺伝子制御領域 (Kelseyら, 1987, Genes and Devel. 1:161-171); 骨髄性細胞において活性な α -グロビン遺伝子制御領域 (Mogramら, 1985, Nature 315:338-340; Kolliasら, 1986, Cell 46:89-94); 脳の稀突起神経膠細胞において活性なミエリン塩基性タンパク質遺伝子制御領域 (Readheadら, 1987, Cell 48:703-712); 骨格筋において活性なミオシン軽鎖-2遺伝子制御領域 (Sani, 1985, Nature 314:283-286); ならびに視床下部において活性なゴナドトロピン放出ホルモン遺伝子制御領域 (Masonら, 1986, Science 234:1372-1378)。

【0136】

エンハンサー配列は、より高等な真核生物によって本発明のIL-17様ポリペプチドをコードするDNAの転写を増加するように、ベクターに挿入され得る。エンハンサーは、転写を増加させるためにプロモーターに作用する、通常約100~300bpの長さのシス作用DNAエレメントである。エンハンサーは、相対的な方向および位置が独立である。これらは、転写単位に対して5'側および3'側に見出された。哺乳動物遺伝子から入手可能ないくつかのエンハンサー配列が公知である(例えば、グロビン、エラスターゼ、アルブミン、 α -フェトブロテインおよびインシュリン)。しかし、代表的には、ウイルス由来のエンハンサーが、使用される。SV40エンハンサー、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、ポリオーマエンハンサー、およびアデノウイルスエンハンサーは、真核生物プロモーターの活性化に対する例示的な増強エレメントである。エンハンサーは、IL-17様核酸分子に対して5'位または3'位でベクターにスプライシングされ得るが、代表的には、プロモーターから5'位側に配置される。

【0137】

本発明の発現ベクターは、市販のベクターのような開始ベクターから構築され得る。このようなベクターは、全ての所望な隣接配列を含んでも良いし、含まなくても良い。所望の隣接配列の1つ以上がすでにベクター内にない場合、これらは、個々に得られ得、そしてベクターに連結され得る。隣接配列のそれぞれを得るために使用される方法は、当業者に周知である。

【0138】

本発明を実行するために好ましいベクターは、細菌宿主細胞、昆虫宿主細胞、および哺乳動物宿主細胞と適合性があるベクターである。このようなベクターとしては、特に、pCRII、pCR3、およびpcDNA3.1(Invitrogen Company, Carlsbad, CA)、pBSII(Stratagene Company, La Jolla, CA)、pET15(Novagen, Madison, WI)、pGEX(Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)、pEGFP-N2(Clontec

h、Palo Alto、CA)、pETL(BlueBacII、Invitrogen)、pDSR-(PCT公開番号WO 90/14363)ならびにpFastBacDual(Gibco/BRL、Grand Island、NY)が挙げられる。

【0139】

さらなる適切なベクターとしては、コスミド、プラスミド、または改変ウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。しかし、これらのベクター系は、選択された宿主細胞と適合性がなくてはならないことが理解される。このようなベクターとしては、以下が挙げられるが、これらに限定されない: Bluescript(登録商標)プラスミド誘導体のようなプラスミド(高コピー数ColE1-ベースのファージミド、Stratagene Cloning Systems Inc, La Jolla CA)、Taq増幅PCR産物をクローニングするために設計されたPCRクローニングプラスミド(例えば、TOPO⁺ TA Cloning(登録商標)Kit、PCR2.1(登録商標)プラスミド誘導体、Invitrogen、Carlsbad、CA)、ならびにバキュロウイルス発現系のような哺乳動物ベクター、酵母ベクターまたはウイルスベクター(pBacPAKプラスミド誘導体、Clontech、Palo Alto、CA)。この組換え分子は、形質転換、トランスフェクション、感染、エレクトロポレーションまたは他の公知の技術を介して宿主細胞に導入され得る。

【0140】

ベクターが構築され、そしてIL-17様ポリペプチドをコードする核酸分子がベクターの適切な部位に挿入された後に、完全なベクターが増幅および/またはポリペプチド発現に適切な宿主細胞に挿入され得る。IL-17様ポリペプチドに対する発現ベクターの選択された宿主細胞への形質転換は、トランスフェクション、感染、塩化カルシウム、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、リポフェクチンもしくはDEAE-デキストラン法、または他の公知の技術のような方法を含む周知の方法によって達成され得る。選択される方法は、一部、使用される宿主細胞型の機能による。これらの方法および他の適切な方法

は、当業者に周知であり、例えば、Sambrookら、前出に記載される。

【0141】

宿主細胞は、原核生物宿主細胞（例えば、E. coli）または真核生物宿主細胞（例えば、酵母細胞、昆虫細胞、または脊椎動物細胞）であり得る。宿主細胞は、適切な条件下で培養される場合、IL-17様ポリペプチドを合成し、このポリペプチドは、続いて、培養培地から（宿主細胞がそのポリペプチドを培地に分泌する場合）収集され得るか、直接そのポリペプチドを産生する宿主細胞から収集される（そのポリペプチドが分泌されない場合）。適切な宿主細胞の選択は、所望の発現レベル、活性に望ましいかまたは必要なポリペプチド修飾（例えば、グリコシル化またはリン酸化）、および生物学的に活性な分子に折り畳まれる容易さなどの種々の因子に依存する。

【0142】

多くの適切な宿主細胞が当該分野において公知であり、そして多くが、American Type Culture Collection (ATCC), 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209から入手可能である。例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) (ATCC番号CCL61)、CHO DHFR-細胞 (Urlaubら, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97:4216-4220)、ヒト胚性腎臓 (HEK) 293または293T細胞 (ATCC番号CRL1573)、あるいは3T3細胞 (ATCC番号CCL92)のような哺乳動物細胞。適切な哺乳動物宿主細胞の選択ならびに形質転換、培養、増幅、スクリーニング、生成物の産生、および精製のための方法は当該分野において公知である。他の適切な哺乳動物細胞株は、サルCOS-1 (ATCC番号CRL1650) およびCOS-7細胞株 (ATCC番号CRL1651)、およびCV-1細胞株 (ATCC番号CCL70)である。さらなる例示的な哺乳動物宿主細胞としては、霊長類細胞株およびゲッ歯類細胞株（形質転換細胞株を含む）が挙げられる。正常な二倍体細胞、初代組織のインビトロ培養物由来の細胞菌株、ならびに初代外植片もまた適切である。候補細胞は、選択遺伝子を遺伝子型的に欠損し得

るか、または優先的に作用する選択遺伝子を含み得る。他の適切な哺乳動物細胞株としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：マウス神経芽細胞腫 N2A細胞、HeLa、マウスL-929細胞、Swiss、Balb-cまたはNIHマウス由来の3T3株、BHKまたはHaKハムスター細胞株(ATCCから入手可能)。これらの細胞株のそれぞれは、タンパク質発現の当業者によって公知でありかつ入手可能である。

【0143】

同様に、細菌細胞が、本発明に適切な宿主細胞として有用である。例えば、E. coli (例えば、HB101(ATCC番号33694)、DH5、DH10、およびMC1061(ATCC番号53338))の種々の菌株は、生物工学の分野において宿主細胞として周知である。B. subtilis、Pseudomonas spp.、他のBacillus spp.、Streptomyces spp.などの種々の菌株がまた本方法において使用され得る。

【0144】

当業者に公知の酵母細胞の多くの菌株はまた、本発明のポリペプチドの発現のため宿主細胞として入手可能である。好ましい酵母細胞としては、例えば、Saccharomyces cerevisiaeおよびPichia pastorisが挙げられる。

【0145】

さらに、望ましい場合、昆虫細胞系が、本発明の方法において利用され得る。このような系は、例えば、Kittsら、1993、Biotechniques、14:810-817; Lucklow、1993、Curr. Opin. Biotechnol. 4:564-572; およびLucklowら、1993、J. Virol.、67:4566-4579に記載される。好ましい昆虫細胞は、Sf-9およびHi5(Invitrogen、Carlsbad、CA)である。

【0146】

グリコシル化IL-17様ポリペプチドを発現するためにトランスジェニック動物もまた使用し得る。例えば、トランスジェニック乳産動物(例えば、雌ウ

シまたはヤギ)を使用し、本発明のグルコシル化ポリペプチドを動物の乳中に得ることができる。IL-17様ポリペプチドを産生するために植物もまた使用し得るが、しかし、一般的に、植物において生じるグリコシル化は、哺乳動物細胞において産生されるものとは異なり、ヒト治療用途に適切ではないグリコシル化産物を生じ得る。

【0147】

(ポリペプチド産生)

IL-17様ポリペプチド発現ベクターを含む宿主細胞は、当業者に周知の標準的な培地を使用して培養され得る。この培地は、通常、細胞の増殖および生存を可能にするために必要な全ての栄養分を含む。E. coli細胞を培養するための適切な培地としては、例えば、Luria Broth (LB)および/またはTerrific Broth (TB)が挙げられる。真核生物細胞を培養するための適切な培地としては、Roswell Park Memorial Institute medium 1640 (RPMI 1640)、Minimal Essential Medium (MEM)および/またはDulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)が挙げられ、これらの全ては、培養される特定の細胞株に示されるような血清および/または増殖因子を補充され得る。昆虫培養についての適切な培地は、必要に応じて、イーストプレート (yeastolate)、ラクトアルブミン加水分解産物、および/または胎仔ウシ血清を補充したグレース培地である。

【0148】

代表的に、形質転換された細胞の選択的な増殖に有用な抗生物質または他の化合物が、培地に補充物質として加えられる。使用される化合物は、宿主細胞が形質転換されたプラスミドに存在する選択マーカースタメントによって検出可能である。例えば、選択マーカースタメントがカナマイシン耐性である場合、培養培地に加えられる化合物は、カナマイシンである。選択的増殖のための他の化合物としては、アンピシリン、テトラサイクリン、およびネオマイシンが挙げられる。

【0149】

宿主細胞によって産生されるIL-17様ポリペプチドの量は、当該分野において公知の標準的な方法を使用して評価され得る。このような方法としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：ウエスタンブロット分析、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動、非変性ゲル電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分離、免疫沈降、および/またはDNA結合ゲル移動アッセイのような活性アッセイ。

【0150】

IL-17様ポリペプチドが宿主細胞から分泌されるように設計される場合、ポリペプチドの大部分は、細胞培養培地中に見出され得る。しかし、IL-17様ポリペプチドが宿主細胞から分泌されない場合、細胞質および/または核（真核宿主細胞について）に、あるいは、細胞質ゾル（細菌宿主細胞について）に存在する。

【0151】

宿主細胞の細胞質および/または核（真核生物宿主細胞について）に位置するかまたは細胞質ゾル（細菌宿主細胞について）に位置するIL-17様ポリペプチドについて、宿主細胞は、代表的に、機械的にかまたは界面活性剤を用いて分裂されて、細胞内含有量を緩衝液中に放出する。次いで、IL-17様ポリペプチドはこの溶液から単離され得る。

【0152】

IL-17様ポリペプチドが細胞内で産生される場合、細胞内物質（グラム陰性細菌についての封入体を含む）は、当業者に公知の任意の標準的な技術を使用して宿主細胞から抽出され得る。例えば、宿主細胞は、フレンチプレス、均質化、および/または超音波処理、続く遠心分離によって、ペリプラズム/細胞質の内容物を放出するように溶解され得る。

【0153】

IL-17様ポリペプチドが細胞質ゾル内に封入体を形成した場合、この封入体は、しばしば、内部および/または外部細胞膜に結合され得、従って、主に、遠心分離後にペレット材料において見出される。次いで、このペレット材料は、

pH極限值で処理され得るか、あるいはジチオトレイトールのような還元剤の存在下アルカリ性のpHで、またはトリスカルボキシエチルホスフィンの存在下酸性のpHで、界面活性剤、グアニジン、グアニジン誘導体、尿素、または尿素誘導体のようなカオトロピック剤で処理して、封入体を放出させ、分断させ、そして溶解させ得る。次いで、この溶解されたIL-17様ポリペプチドは、ゲル電気泳動、免疫沈降などを使用して分析され得る。IL-17様ポリペプチドを単離することが望ましい場合、単離は、本明細書中およびMarstonら、Meth.Enz., 182:264-275(1990)に記載される方法のような標準的な方法を使用して達成され得る。

【0154】

いくつかの場合、IL-17様ポリペプチドは、単離の際、生物学的に活性でなくても良い。「再折り畳みする」、つまり、ポリペプチドをその三次構造に変換し、ジスルフィド連結を生成するための種々の方法を使用して、生物学的活性を回復し得る。このような方法は、溶解されたポリペプチドをあるpH(通常7より上)および特定の濃度のカオトロピック剤(chaotrope)の存在に曝露する工程を包含する。カオトロピック剤の選択は、封入体溶解に使用される選択肢に非常に類似するが、通常、カオトロピック剤は低い濃度で使用され、溶解に使用されるカオトロピック剤と必ずしも同一ではない。多くの場合、再折り畳み/酸化溶液はまた、還元剤、または特定の比の還元剤およびその酸化形態を含んで、特定の酸化還元電位を生成し、タンパク質のシステイン架橋の形成を生じるジスルフィドシャフリングを可能にする。通常使用される酸化還元対のいくつかとしては、システイン/シスタミン、グルタチオン(GSH)/ジチオビスGSH、塩化銅(II)、ジチオトレイトール(DTT)/ジチアンDTT、および2,2-メルカプトエタノール(bME)/ジチオ-b(ME)が挙げられる。共溶媒が使用され得るか、または再折り畳みの効率を増加するのに必要であり得、この目的のために使用されるより一般的な試薬としては、グリセロール、種々の分子量のポリエチレングリコール、アルギニンなどが挙げられる。

【0155】

封入体がIL-17様ポリペプチドの発現において有意な程度まで形成されな

い場合、ポリペプチドは、主に、細胞ホモジネートの遠心分離後に上清中に見出される。ポリペプチドは、本明細書中に記載されるような方法を使用して、上清からさらに単離され得る。

【0156】

溶液からのIL-17様ポリペプチドの精製は、種々の技術を使用して達成され得る。ポリペプチドが、ヘキサヒスチジン(IL-17様ポリペプチド/hexaHis)のようなタグまたは他の小さなペプチド(例えば、FLAG(Eastman Kodak Co., New Haven, CT)またはmyc(Invitrogen, Carlsbad, CA))をそのカルボキシ末端またはアミノ末端のいずれかにおいて含むように合成された場合、カラムマトリクスがタグに対して高い親和性を有するアフィニティーカラムに溶液を通すことによって、本質的に一工程で精製され得る。

【0157】

例えば、ポリヒスチジンは、ニッケルに対して大きな親和性および特異性を有して結合する。従って、ニッケルのアフィニティーカラム(例えば、Qiagen(登録商標)ニッケルカラム)は、IL-17様ポリペプチド/polyHisの精製のために使用され得る。例えば、Ausubelら編、Current Protocols in Molecular Biology、セクション10.11.8、John WileyおよびSons、New York(1993)を参照のこと。

【0158】

さらに、IL-17様ポリペプチドは、IL-17様ポリペプチドを特異的に認識し得、そして結合し得るモノクローナル抗体の使用によって精製され得る。

【0159】

精製のための適切な手段としては、限定しないが、アフィニティークロマトグラフィー、免疫親和性クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、モレキュラーシーブクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィ(HPLC)、電気泳動(ネイティブゲル電気泳動を含む)、続くゲル溶出、および分取用等電集束法(「Isoprime」machine/technique, Hoe

fer Scientific, San Francisco, CA) が挙げられる。いくつかの場合において、2つ以上の精製技術を、増加した純度を達成するために組み合わせられ得る。

【0160】

IL-17様ポリペプチド(それらのフラグメント、改変体、および/または誘導体を含む)はまた、Merrifieldら、J. Am. Chem. Soc. 85:2149(1963); Houghtenら、Proc Natl Acad. Sci. USA 82:5132(1985); およびStewart およびYoung, Solid Phase Peptide Synthesis (Pierce Chemical Co., Rockford, IL(1984)) に記載されるような当該分野で公知の技術を使用する、化学合成法(例えば、固相ペプチド合成)によって調製され得る。このようなポリペプチドは、アミノ末端にメチオニンを有するかまたは有さないで合成され得る。化学的に合成されたIL-17様ポリペプチドは、これらの参考文献に記載される方法を使用して酸化され得て、ジスルフィド架橋を形成し得る。化学的に合成されたIL-17様ポリペプチドは、組換え的に産生されるかまたは天然の供給源から精製される対応するIL-17様ポリペプチドに匹敵する生物学的活性を有すると期待され、従って、組換えまたは天然のIL-17様ポリペプチドと相互交換可能に使用され得る。

【0161】

IL-17様ポリペプチドを得る別の手段は、IL-17様ポリペプチドが天然に見出される供給源の組織および/または流体のような生物学的サンプルからの精製による。このような精製は、本明細書中に記載されるようなタンパク質精製のための方法を使用して行われ得る。精製の間、IL-17様ポリペプチドの存在が、例えば、組換え的に産生されたIL-17様ポリペプチドまたはそのペプチドフラグメントに対して調製される抗体を使用して、モニターされ得る。

【0162】

核酸およびポリペプチドを産生するための多くのさらなる方法は、当該分野において公知であり、この方法は、IL-17様ポリペプチドに対して特異性を有

するポリペプチドを産生するために使用され得る。例えば、Robertsら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94:12297-12303 (1997)を参照のこと。これは、mRNAとそのコードされるペプチドとの間の融合タンパク質の産生を記載する。Roberts, R., Curr. Opin. Chem. Biol. 3:268-273 (1999)もまた参照のこと。さらに、米国特許第5,824,469号は、特定の生物学的機能を実行し得るオリゴヌクレオチドを得るための方法を記載する。この手順は、オリゴヌクレオチドの異種プールを生成する工程を包含し、それぞれが、5'ランダム化配列、中心予備選択配列、および3'ランダム化配列を有する。得られる異種プールは、所望の生物学的機能を示さない細胞の集団に導入される。次いで、細胞の亜集団を、予期される生物学的機能を示すものについてスクリーニングする。その亜集団から、所望の生物学的機能を実行し得るオリゴヌクレオチドが単離される。

【0163】

米国特許第5,763,192号；同第5,814,476号；同第5,723,323号；および同第5,817,483号は、ペプチドまたはポリペプチドを産生するためのプロセスを記載する。これは、確率論的遺伝子またはそのフラグメントを産生し、次いで、この確率論的遺伝子によってコードされた1以上のタンパク質を産生する宿主細胞にこれらの遺伝子を導入することによって達成される。次いで、この宿主は、所望の活性を有するペプチドまたはポリペプチドを産生する、これらのクローンを同定するためにスクリーニングされる。

【0164】

ペプチドまたはポリペプチドの産生するための別の方法は、Athersys, Inc.によって出願されたPCT/US98/20094 (WO99/15650) (「Random Activation of Gene Expression for Gene Discovery」(RAGE-GD)として知られている)に記載されており、このプロセスは、インサイチュ組換え方法によって、内因性遺伝子の発現または遺伝子の過剰発現の活性化を含む。例えば、内因性遺伝子の発現は、非相同性組換えまたは異常な組換えによって、遺伝

子の発現を活性化し得る標的細胞中に、調節配列を組み込むことによって、活性化または増加される。この標的DNAは、まず、放射線に供せられ、そして遺伝子プロモーターに挿入される。このプロモーターは、遺伝子の前方の分岐点に最終的に配置され、遺伝子の転写を開始する。これは、所望のペプチドまたはポリペプチドの発現より生じる。

【0165】

これらの方法はまた、包括的なIL-17様ポリペプチド発現ライブラリーを作製するために使用され得、これは、続いて、種々のアッセイ（例えば、生化学的アッセイ、細胞アッセイおよび全生物アッセイ（例えば、植物、マウスなど））において、ハイスループット表現型スクリーニングのために使用され得ることが理解される。

【0166】

（化学的誘導体）

IL-17様ポリペプチドの化学的に改変された誘導体は、この開示が、本明細書中に記載された場合、当業者によって調製され得る。IL-17様ポリペプチド誘導体は、このポリペプチドに天然で結合した分子の型または位置のいずれかで、異なる様式で改変される。誘導体は、1以上の天然で結合した化学的な基の除去によって形成される分子を含み得る。配列番号2またはIL-17様ポリペプチド改変体のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、1以上のポリマーの共有結合によって改変され得る。例えば、選択されたポリマーは、代表的に水溶性であり、その結果、結合するタンパク質は、水環境（例えば、生理学的な環境）下で沈殿しない。ポリマーの混合物が、適切なポリマーの範囲内に含まれる。好ましくは、目的産物の調製物の治療学的使用のために、このポリマーは、薬学的に受容可能である。

【0167】

このポリマーの各々は、任意の分子量のポリマーであり得、そして分枝または非分枝であり得る。このポリマーの各々は、代表的に、約2kDaと約100kDaとの間の平均分子量を有する（この用語「約（およそ）」は、水溶性ポリマーの調製の際に、いくつかの分子が、上記の分子量より多い、いくらか少ない重

量を有することを示す)。各ポリマーの平均分子量は、好ましくは、約5 kDaと約50 kDaの間、より好ましくは、約12 kDaと約40 kDaとの間、そして最も好ましくは、約20 kDaと約35 kDaとの間である。

【0168】

適切な水溶性ポリマーまたはそれらの混合物としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：N-連結またはO-連結炭水化物、糖、炭水化物、糖、リン酸、ポリエチレングリコール(PEG)(これは、モノ-(C₁-C₁₀)、アルコキシ-、またはアリールオキシ-ポリエチレングリコールを含む、タンパク質を誘導するために使用されたPEGの形態を含む)、モノメトキシ-ポリエチレングリコール、デキストラン(例えば、低分子量(例えば、約6 kDのデキストラン))、セルロース、または他の炭水化物ベースのポリマー、ポリ-(N-ビニルピロリドン)ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール(例えば、グリセロール)、およびポリビニルアルコール。配列番号2のアミノ酸配列もしくはIL-17様ポリペプチド改変体を含むポリペプチドの共有結合したマルチマーを調製するために使用され得る、二官能性架橋分子もまた、本発明に含まれる。

【0169】

一般に、化学的誘導は、活性化したポリマー分子とタンパク質を反応させるために使用される任意の適切な条件下で、実施され得る。ポリペプチドの化学的誘導体を調製するための方法は、一般に、以下の工程を包含する：(a)配列番号2、またはIL-17様ポリペプチド改変体のアミノ酸配列を含むこのポリペプチドが、1以上のポリマー分子に結合する条件下で、活性化したポリマー分子(例えば、このポリマー分子の反応性エステルまたはアルデヒド誘導体)とポリペプチドを反応させる工程、ならびに(b)反応生成物を得る工程。最適の反応条件は、既知のパラメータおよび所望の結果に基づいて決定される。例えば、ポリマー分子：タンパク質の比が大きくなるほど、結合したポリマー分子の割合も大きくなる。1つの実施形態において、このIL-17様ポリペプチド誘導体は、アミノ末端の単一ポリマー分子部分を有し得る。例えば、米国特許第5,234

, 784号を参照のこと。

【0170】

IL-17様ポリペプチドのペグ化(pegylation)は、当該分野で公知の任意のペギル化反応を使用して特異的に実施され得る。このような反応は、例えば、以下の参考文献に記載されている: Francisら、Focus on Growth Factors 3:4-10(1992); 欧州特許第0154316号および同第0401384号; ならびに米国特許第4,179,337号。例えば、ペギル化は、本明細書中に記載されるように、反応性ポリエチレングリコール分子(または、類似の反応性水溶性ポリマー)とのアシル化反応またはアルキル化反応を介して実施され得る。アシル化反応のために、選択されたポリマーは、単一の反応性エステル基を有するべきである。還元的アルキル化について、選択されたポリマーは、単一の反応性アルデヒド基を有するべきである。例えば、反応性アルデヒドは、ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドであり、これは、水安定性であるか、またはモノC₁-C₁₀アルコキシもしくはそのアリアルコキシ誘導体である(米国特許第5,252,714号を参照のこと)。

【0171】

別の実施形態において、IL-17様ポリペプチドは、ビオチンに化学的に連結され得、次いで、結合したこのビオチン/IL-17様ポリペプチド分子は、アビジンに結合され得、その結果、4価のアビジン/ビオチン/IL-17様ポリペプチド分子が得られる。IL-17様ポリペプチドはまた、ジニトロフェノール(DNP)またはトリニトロフェノール(TNP)に共有結合され得、そして得られた結合体は、抗-DNPまたは抗-TNP-IgMと共に沈殿し、10価の十量体の結合体を形成する。

【0172】

一般に、本発明のIL-17様ポリペプチド誘導体の投与によって、緩和または調節され得る状態は、IL-17様ポリペプチドについて本明細書中に記載されたものを含む。しかし、本明細書中に開示されるIL-17様ポリペプチド誘導体は、非誘導体化分子と比較した場合、さらなる活性、増強もしくは減少した

生物学的活性、または他の特性（例えば、増加もしくは減少した半減期）を有し得る。

【0173】

（マイクロアレイ）

DNAマイクロアレイ技術は、本発明に従って利用され得ることが理解される。DNAマイクロアレイは、固体支持体（例えば、ガラス）上に配置された核酸の小型高密度アレイである。このアレイ内の各細胞またはエレメントは、その同族のmRNAとハイブリダイゼーションするための標識として作用する、単一のDNA種の多数のコピーを含む。DNAマイクロアレイ技術を使用する発現プロフィールにおいて、mRNAは、第一に細胞または組織サンプルから抽出され、次いで、蛍光標識されたcDNAに酵素的に変換される。この材料は、マイクロアレイにハイブリダイズされ、そして未結合のcDNAは、洗浄により除去される。次いで、このアレイ上に示された個々の遺伝子の発現は、各々の標的核酸分子に特異的に結合された、標識されたcDNAの量を定量することによって視覚化される。この方法において、数千の遺伝子の発現が、生物学的材料の単一サンプルから、ハイスループットの並行様式で定量され得る。

【0174】

このハイスループット発現プロフィールは、本発明のTNFr/OGP様分子に関連して広範の適用を有し、これには、以下が挙げられるが、これに限定されない：治療のための標的としてのTNFr/OGP様疾患関連遺伝子の同定および確認；関連するTNFr/OGP様分子およびそのインヒビターの分子毒性；臨床試験のための集団の階層化および代替マーカーの産生；およびハイスループットスクリーニング（HTS）において、選択化合物の同定を援助することによって、関連するTNFr/OGP様ポリペプチド小分子薬物発見を増強すること。

【0175】

（遺伝子操作した非ヒト動物）

マウス、ラット、または他のげっ歯類、ウサギ、ヤギもしくはヒツジ、または他の家畜のような非ヒト動物が、さらに本発明の範囲内に含まれ、ここで、天然

のIL-17様ポリペプチドをコードする遺伝子は分裂(すなわち「ノックアウト」)され、この遺伝子の発現レベルは、有意に減少するか、または完全に消滅される。このような動物は、米国特許第5,557,032号に記載されるような技術および方法を使用して調製され得る。

【0176】

本発明は、マウス、ラット、または他のげっ歯類、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、または他の家畜のような非ヒト動物をさらに含み、この動物のIL-17様遺伝子の天然の形態または非相同性IL-17様遺伝子のいずれかが、この動物によって過剰発現され、これによって、「トランスジェニック」動物を作製する。このようなトランスジェニック動物は、米国特許第5,489,743号およびPCT公開番号WO94/28122号に記載されるような周知の方法を使用して調製され得る。

【0177】

本発明は、非ヒト動物をさらに含み、ここで、本発明の1以上のIL-17様ポリペプチドのプロモーターは、(例えば、相同的な組換え方法を使用することによって)活性化されるか、または活性化されず、1以上の天然のIL-17様ポリペプチドの発現のレベルを改変する。

【0178】

これらの非ヒト動物は、薬物候補物スクリーニングのために使用され得る。このようなスクリーニングにおいて、この動物での薬物候補物の影響が測定され得る。例えば、薬物候補物は、IL-17様遺伝子の発現を減少または増加させ得る。特定の実施形態において、産生されるIL-17様ポリペプチドの量は、この動物を薬物候補物に曝露した後に測定され得る。さらに、特定の実施形態において、この動物での薬物候補物の実際の影響を検出し得る。例えば、特定の遺伝子の過剰発現により、疾患状態または病理学的状態を生じるか、または関連する。このような場合において、遺伝子の発現を減少させるための薬物候補物の能力または病理学的状態を防止または阻害するための能力を試験し得る。別の例において、ポリペプチドのフラグメントのような、特定の代謝産物の産生により、疾患状態または病理学的状態を生じるか、または関連する。このような場合におい

て、このような代謝産物の産生を減少させるための薬物候補物の能力または病理学的状態を防止または阻害するためのその能力を試験し得る。

【0179】

(選択的結合因子)

本明細書中で使用される場合、用語「選択的結合因子」は、1以上のIL-17様ポリペプチドに対して特異性を有する分子を言及する。適切な選択的結合因子としては、抗体およびその誘導体、ポリペプチド、ならびに小分子が挙げられるが、これらに限定されない。適切な選択的結合因子は、当該分野で公知の方法を使用して調製され得る。本発明の例示的なIL-17様ポリペプチド選択的結合因子は、IL-17様ポリペプチドの特定の部分を結合し得、これにより、ポリペプチドのIL-17様ポリペプチドレセプターへの結合を阻害する。

【0180】

IL-17様ポリペプチドと結合する抗体および抗体フラグメントのような選択的結合因子は、本発明の範囲内である。この抗体は、単一特異的なポリクローナルを含むポリクローナル；モノクローナル(MAb)、組換え、キメラ、ヒト化(例えば、CDR移植化)、ヒト、単鎖、および/または二特異的、ならびにそれらのフラグメント、改変体、または誘導体であり得る。抗体フラグメントとしては、IL-17様ポリペプチド上のエピトープに結合する抗体のこれらの一部を含む。このようなフラグメントの例としては、全長抗体の酵素学的切断によって産生されたFabおよびF(ab')フラグメントが挙げられる。他の結合フラグメントとしては、組換えDNA技術(例えば、抗体可変領域をコードする核酸配列を含む、組換えプラスミドの発現)によって産生されたフラグメントが挙げられる。

【0181】

IL-17様ポリペプチドに対するポリクローナル抗体は、一般に、IL-17様ポリペプチドおよびアジュバンドの複数回の皮下注射または腹腔内注射によって動物(例えば、ウサギまたはマウス)において産生される。IL-17様ポリペプチドまたは変異体、改変体もしくは誘導体をキャリアタンパク質に結合させることは、有用であり得、このタンパク質は、キーホールリンペットヘモシア

ニン、血清、アルブミン、ウシサイログロブリン、またはダイズトリブシンインヒビターのように、免疫化される種において免疫原性である。また、ミョウバンのような凝集剤は、免疫応答を増強させるために使用される。免疫化後、この動物は採血され、そして血清を、抗IL-17様ポリペプチド抗体力価についてアッセイする。

【0182】

IL-17様ポリペプチドに対するモノクローナル抗体は、培地中の連続的細胞株によって抗体分子を産生するために提供される、任意の方法を使用して産生される。モノクローナル抗体を調製するために適切な方法の例は、Kohlerら、Nature 256:495-497(1975)のハイブリドーマ法、およびヒトB細胞ハイブリドーマ法(Kozbor、J. Immunol. 133:3001(1984); Brodeurら、Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications、51-63頁(Marcel Dekker, Inc., New York、1987))が挙げられる。IL-17様ポリペプチドと反応する、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞株がまた、本発明によって提供される。

【0183】

本発明のモノクローナル抗体は、治療剤として使用するために、改変され得る。1実施形態は、「キメラ」抗体であり、この重鎖および/または軽鎖の一部が、特定の種から誘導されるか、または特定の抗体のクラスもしくはサブクラスの属する抗体中の対応する配列と同一であるか、または相同性である一方で、この鎖の残りは、別の種から誘導されるか、または別の抗体のクラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるか、または相同性である。抗体のフラグメントが所望の生物学的活性を示す限り、このような抗体のフラグメントもまた含まれる。米国特許第4,816,567号; Morrisonら、Proc. Natl. Acad. Sci., 81:6851-6855(1985)を参照のこと。

【0184】

別の実施形態において、本発明のモノクローナル抗体は、「ヒト化」抗体である。非ヒト抗体をヒト化するための方法は、当該分野で周知である。一般に、ヒト化抗体は、非ヒトである供給源から導入された1以上のアミノ酸残基を有する。ヒト化は、例えば、当該分野で公知の方法を使用して、鋸状相補的決定領域(CDR)の少なくとも一部をヒトの抗体の対応する領域と置換することによって、実施され得る。(米国特許第5,585,089号および同第5,693,762号を参照のこと)。一般に、ヒト化した抗体は、非ヒトである供給源から導入された1以上のアミノ酸残基を有する。ヒト化は、例えば、当該分野(Jonesら、Nature 321:522-525(1986); Riechmanら、Nature 332:323-327(1998); Verhoeyenら、Science 239:1534-1536(1988))で記載される方法を使用して、鋸状相補的決定領域(CDR)の少なくとも一部をヒトの抗体の対応する領域と置換することによって、実施される。

【0185】

IL-17様ポリペプチドと結合するヒト抗体がまた、本発明によって包含される。内因性の免疫グロブリンの産物の非存在下で、ヒト抗体のレパートリーを産生し得る、トランスジェニック動物(例えば、マウス)を使用して、このような抗体は、IL-17様抗原(すなわち、少なくとも6個の連続アミノ酸を有する)を用いて免疫化することによって産生され、必要に応じて、キャリアに結合される。例えば、JakobovitsらProc. Natl. Acad. Sci. 90:2551-55(1993); Jakobovits、Nature 362:255-58(1993); BruggermannらYear in Immunol. 7:33(1993)を参照のこと。1つの方法において、このようなトランスジェニック動物は、その重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードする内因性遺伝子座を無能にし、そしてヒトの重鎖および軽鎖タンパク質をコードする遺伝子座をそのゲノムに挿入することによって産生される。次いで、部分的に改変された動物(この動物は、完全未満の相補体の改変を有するものである)は、所望の免疫系の改変の全てを有する動物を得るために交雑育種される。免疫原が投与される場合、これらのトランスジェニック動物が、ヒト可変領域

と、ヒト（例えば、マウスではない）アミノ酸配列（可変領域（これらの抗原に対して免疫特異性であるヒトを含む）を含む）を有する抗体を産生する。PCT出願番号PCT/US96/05928およびPCT/US93/06926を参照のこと。さらなる方法は、米国特許第5,545,807号、PCT出願番号PCT/US91/245およびPCT/GB89/01207、ならびに欧州特許第546073B1および同第546073A1に記載される。ヒト抗体はまた、本明細書中に記載されるような宿主細胞中の組換えDNAの発現またはハイブリドーマ細胞中での発現によって産生され得る。

【0186】

代替の実施形態において、ヒト抗体はまた、ファージディスプレイライブラリから産生され得る（HoogenboomらJ.Mol.Biol.227:381(1991);MarksらJ.Mol.Biol.222:581(1991)）。これらにより、糸状のバクテリオファージの表面上の抗体レポーターのディスプレイを介した模倣免疫選択、および選択した抗原への結合によるファージの続く選択を処理する。1つのこのような技術は、PCT出願番号PCT/US98/17364に記載されており、これには、このようなアプローチを使用して、MPL-レセプターおよびmsk-レセプターについて、高い親和性および機能的なアゴニスト抗体の単離が記載される。

【0187】

キメラ抗体、CDR移植化抗体、およびヒト化抗体は、代表的に組換え方法によって産生される。抗体をコードする核酸は、宿主細胞中に導入され、そして本明細書中に記載される物質および手順を使用して発現される。好ましい実施形態において、この抗体は、哺乳動物宿主細胞（例えば、CHO細胞）中で産生される。モノクローナル（例えば、ヒト）抗体は、本明細書中に記載されるように、宿主細胞中での組換えDNAの発現またはハイブリドーマ細胞中での発現によって産生され得る。

【0188】

本発明の抗-IL-17様抗体は、IL-17様ポリペプチドの検出および定量のために、任意の公知のアッセイ方法（例えば、競合結合アッセイ、直接的お

よび間接的サンドイッチアッセイ、および免疫沈降アッセイ)において使用され得る(Sola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques 147-158頁(CRC Press, Inc., 1987))。この抗体は、使用されるアッセイ方法に対して、適切である親和性でIL-17様ポリペプチドと結合する。

【0189】

診断適用のために、特定の実施形態において、抗-IL-17様抗体は、検出可能な部分で標識され得る。この検出可能な部分は、直接的または間接的のいずれかで、検出可能なシグナルを産生し得る任意の部分であり得る。例えば、検出可能な部分は、放射性同位体(例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{125}I)；蛍光化合物または化学発光化合物(例えば、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、もしくはルシフェリン)；または酵素(例えば、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、もしくは西洋ワサビペルオキシダーゼ)であり得る(Bayerら, 1990, Meth. Enz. 184:138-163)。

【0190】

競合結合アッセイは、標識した標準(例えば、IL-17様ポリペプチド、またはその免疫学的に活性な部分)の、限定された量の抗-IL-17様抗体との結合に関して、試験サンプル検体(IL-17様ポリペプチド)と競合する能力に依存する。試験サンプル中のIL-17様ポリペプチドの量は、抗体と結合した標準の量と反比例する。結合した標準の量を決定するのを容易にするために、この抗体は、競合前または後に、代表的に不溶化され、その結果、この抗体と結合した標準および検体は、結合しないままの標準および検体から好都合に分離され得る。

【0191】

サンドイッチアッセイは、2つの抗体の使用に代表的に関連し、各々は、検出および/または定量されるべきタンパク質の異なる免疫原性部分またはエピトープに結合し得る。サンドイッチアッセイにおいて、この試験サンプル検体は、固体支持体上に固定化される一次抗体によって代表的に結合され、その後、二次抗

体が、この検体に結合し、不溶性の3つの部分からなる複合体を形成する。例えば、米国特許第4,376,110号を参照のこと。二次抗体自体は、検出可能な部分で標識されるか(直接的なサンドイッチアッセイ)、または検出可能な部分で標識される抗-免疫グロブリン抗体を使用して測定され得る(間接的なサンドイッチアッセイ)。例えば、サンドイッチアッセイの1つの型は、酵素結合免疫ソルベント検定法(ELISA)(この場合、検出可能な部分は、酵素である)である。

【0192】

抗-IL-17様抗体を含む、選択的結合因子はまた、インビボ画像化のために有用である。検出可能な部分で標識した抗体は、動物に、好ましくは、血流に投与され得、宿主中で標識した抗体の存在および位置がアッセイされる。この抗体は、核磁気共鳴、放射線医学、または当該分野で公知の他の検出手段のいずれかによって、動物中で検出可能である任意の部分で標識され得る。

【0193】

本発明はまた、生物学的サンプル中のIL-17様の選択可能な結合因子(例えば、抗体)およびIL-17様ポリペプチドのレベルを検出するために有用な他の試薬を含むキットに関する。このような試薬は、二次的活性、検出可能な標識、ブロッキング血清、ポジティブコントロールサンプルおよびネガティブコントロールサンプル、ならびに検出試薬を含み得る。

【0194】

抗体を含む、本発明の選択的結合因子は、治療剤として使用され得る。これらの治療剤は、一般に、アゴニストまたはアンタゴニストであり、これらは、少なくとも1つのIL-17様ポリペプチドの生物学的活性を、それぞれ増強または減少させるかのいずれかである。1つの実施形態において、本発明のアンタゴニスト抗体は、IL-17様ポリペプチドに特異的に結合し得、そしてインビボまたはインビトロでIL-17様ポリペプチドの機能活性を阻害または排除し得る、抗体またはその結合フラグメントである。好ましい実施形態において、選択的結合因子(例えば、アンタゴニスト抗体)は、少なくとも約50%、および好ましくは、少なくとも約80%まで、IL-17様ポリペプチドの機能活性を阻害

する。別の実施形態において、この選択的結合因子は、IL-17様結合パートナー（リガンドまたはレセプター）と相互作用し得る抗-IL-17様ポリペプチドレセプター抗体であり、これにより、インビトロまたはインビボにおいてIL-17様活性を阻害または排除する。アゴニストおよびアンタゴニスト抗-IL-17様ポリペプチド抗体を含む、選択的結合因子は、当該分野で周知であるスクリーニングアッセイによって同定される。

【0195】

IL-17様ポリペプチドを使用して、当該分野で公知の方法を用いてIL-17様ポリペプチド選択的結合因子を調製し得る。例えば、抗原が、高度に選択された様式で、その対応する抗体と共に、そして他の抗原によって惹起され得る他の抗体の多数を用いずに、反応のための特異的な結合反応に使用され得る。

【0196】

本発明のIL-17様ポリペプチドは、発現クローニング戦略に使用するIL-17様レセプターをクローニングするために使用され得る。放射性標識された（125-ヨウ素）IL-17様ポリペプチドまたはアフィニティ/活性タグ化IL-17様ポリペプチド（例えば、Fc融合またはアルカリホスファターゼ融合）は、IL-17様レセプターを発現する細胞型、細胞株または組織を同定するための結合アッセイにおいて使用され得る。次いで、このような細胞または組織から単離されたRNAは、cDNAに変換され得、哺乳動物発現ベクターにクローニングされ得、そして哺乳動物細胞（例えば、COSまたは293細胞）にトランスフェクトされて発現ライブラリーを作製し得る。次いで、放射標識されたかまたはタグ化されたIL-17様ポリペプチドは、アフィニティリガンドとして使用され、このライブラリーから、細胞表面のIL-17様リガンドを発現する細胞のサブセットを同定および単離し得る。次いで、DNAは、これらの細胞から単離され得、そして哺乳動物細胞にトランスフェクトされて二次的発現ライブラリー（このライブラリーにおけるIL-17様レセプターを発現する細胞の画分はもともとのライブラリーにおけるものよりも数倍高い）が作製される。この濃縮プロセスは、IL-17様レセプターを含む単一の組換えクローンが単離されるまで、反復され得る。IL-17様レセプターの単離は、IL-17様

ポリペプチドシグナル伝達経路の新規のアゴニストおよびアンタゴニストを同定および開発するために有用である。このようなアゴニストおよびアンタゴニストは、可溶性IL-17様レセプター、抗IL-17様抗体および/もしくは抗IL-17様レセプター抗体、小分子またはアンチセンスオリゴヌクレオチドを含み、そしてこれらは本明細書中に記載される1つ以上の疾患/障害を処置するために使用され得る。

【0197】

(さらなるアゴニスト分子およびアンタゴニスト分子)

本明細書中に規定されるように、アゴニスト分子またはアンタゴニスト分子は、IL-17様ポリペプチドの少なくとも1つの生物学的活性をそれぞれ増強するかまたは減少するかのいずれかである。アンタゴニストは、IL-17様レセプター自身および/またはIL-17様結合パートナー(例えば、リガンドまたはレセプター)と相互作用し得、これにより、インビトロまたはインビボでIL-17様ポリペプチド活性を阻害または除去する。アゴニストは、IL-17様分子に特異的に結合し得、かつレセプターを活性化するそのネイティブなりガンドのように機能し得る分子である。アゴニストはまた、IL-17様結合パートナー(例えば、リガンド)と相互作用して、IL-17様ポリペプチドに対するその結合を増強し得、それにより、IL-17様分子の生物学的活性を増強し得る。本明細書中に記載されるアゴニストおよびアンタゴニストが選択可能な結合因子に限定されないことは、明白である。選択可能な結合因子に加えて、他の適切なアゴニスト分子およびアンタゴニスト分子としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない:可溶性IL-17様ポリペプチド、小分子、およびアンチセンスオリゴヌクレオチド。これらのいずれもが、本明細書中に記載されるものを含む1つ以上の疾患または障害を処置するために使用され得る。

【0198】

IL-17様ポリペプチドは、「発現クローニング」戦略に使用するIL-17様リガンドをクローニングするために使用され得る。放射性標識された(125-ヨウ素)IL-17様ポリペプチドまたは「アフィニティ/活性タグ化」IL-17様ポリペプチド(例えば、Fc融合またはアルカリホスファターゼ融合

)は、IL-17様リガンドを発現する細胞型、細胞株または組織を同定するための結合アッセイにおいて使用され得る。次いで、このような細胞または組織から単離されたRNAは、cDNAに変換され得、哺乳動物発現ベクターにクローニングされ得、そして哺乳動物細胞(例えば、COSまたは293)にトランスフェクトされて発現ライブラリーを作製し得る。次いで、放射標識されたかまたはタグ化されたIL-17様ポリペプチドを、アフィニティ試薬に使用してIL-17様リガンドを発現するこのライブラリーにおいて細胞のサブセットを同定および単離し得る。次いで、DNAは、これらの細胞から単離され得、そして哺乳動物細胞にトランスフェクトされて二次的発現ライブラリーを作製され、このライブラリーにおけるIL-17様リガンドを発現する細胞の画分はもともとのライブラリーにおけるものよりも数倍高い。この濃縮プロセスは、IL-17様リガンドを含む単一の組換えクローンが単離されるまで、反復され得る。IL-17様リガンドの単離は、IL-17様シグナル伝達経路の新規アゴニストおよびアンタゴニストを同定および開発するために有用である。このようなアゴニストおよびアンタゴニストは、IL-17様リガンド、抗IL-17様リガンド抗体、小分子またはアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。

【0199】

(IL-17様ポリペプチド活性の他の調節因子についてのアッセイ)

いくつかの状況において、IL-17様ポリペプチドの活性の調節因子(すなわち、アゴニストまたはアンタゴニスト)である分子を同定することが所望され得る。IL-17様ポリペプチドを調節する天然の分子または合成分子は、本明細書中に記載されるもののような1つ以上のスクリーニングアッセイを使用して同定され得る。このような分子は、エキソピボ様式もしくはインピボ様式での注射によってか、あるいは経口投与、移植デバイスなどによってのいずれかで投与され得る。

【0200】

「試験分子」は、IL-17様ポリペプチドの活性を調節(すなわち、増加または減少)する能力についての評価下である分子をいう。最も一般的には、試験分子は、IL-17様ポリペプチドと直接相互作用する。しかし、試験分子はま

た、IL-17様ポリペプチド活性を、例えば、IL-17様遺伝子発現を影響することによってかまたはIL-17様結合パートナー（例えば、レセプターまたはリガンド）に結合することによって、間接的に調節し得ることが意図される。1つの実施形態において、試験分子は、少なくとも約 10^{-6} M、好ましくは約 10^{-8} M、より好ましくは約 10^{-9} M、そしてさらにより好ましくは約 10^{-10} Mの親和性定数でIL-17様ポリペプチドに結合する。

【0201】

IL-17様ポリペプチドと相互作用する化合物を同定するための方法は、本発明によって包含される。特定の実施形態において、試験分子のIL-17様ポリペプチドとの相互作用を可能にする条件下で、IL-17様ポリペプチドは、試験分子とインキュベートされ、そして相互作用の量は測定され得る。試験分子は、実質的に精製された形態または粗製混合物においてスクリーニングされ得る。試験分子は、核酸分子、タンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質、または低分子量有機体化合物もしくは無機体化合物であり得る。

【0202】

特定の実施形態において、IL-17様ポリペプチドアゴニストまたはアンタゴニストは、IL-17様ポリペプチドと相互作用してその活性を調節するタンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質、または低分子量分子であり得る。IL-17様ポリペプチド発現を調節する分子は、IL-17様ポリペプチドをコードする核酸に相補的な核酸、またはIL-17様ポリペプチドの発現を指向するかもしくは制御する核酸配列に相補的な核酸、そして発現のアンチセンス調節因子として作用する核酸を含む。

【0203】

一旦、試験化合物のセットがIL-17様ポリペプチドと相互作用するとして同定されると、この分子はさらに、IL-17様ポリペプチド活性を増加または減少するその能力について評価され得る。試験分子のIL-17様ポリペプチドとの相互作用の測定は、いくつかの型（細胞ベースの結合アッセイ、膜結合アッセイ、溶液相アッセイおよび免疫アッセイを含む）において実施され得る。一般には、試験分子は、IL-17様ポリペプチドと特定の時間にわたってインキュ

べートされ、そして、IL-17様ポリペプチド活性は、生物学的活性を測定するための本明細書中に記載される1つ以上のアッセイによって決定される。

【0204】

試験分子のIL-17様ポリペプチドとの相互作用はまた、免疫アッセイにおいて、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を使用して直接的にアッセイされ得る。あるいは、本明細書中に記載されるエピトープタグを含有するIL-17様ポリペプチドの改変形態は、溶液中および免疫アッセイにおいて使用され得る。

【0205】

特定の実施形態において、IL-17様ポリペプチドアゴニストまたはアンタゴニストは、タンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質、または低分子量の分子であり得、これは、IL-17様ポリペプチドと相互作用して、その活性を調節する。IL-17様ポリペプチドの潜在的なタンパク質アゴニストは、ポリペプチドの活性領域と相互作用し、そして少なくともIL-17様分子の1つの活性を阻害または除去する抗体を含む。IL-17様ポリペプチドの発現を調節する分子は、IL-17様ポリペプチドをコードする核酸と相補的であるか、またはIL-17様ポリペプチドの発現を指向または制御する核酸配列に対して相補的である核酸分子、および発現のアンチセンス制御因子として作用する核酸配列を含む。

【0206】

IL-17様ポリペプチドが、結合パートナー（例えば、選択的結合因子、レセプターまたはリガンド）との相互作用を介して、生物学的活性を示す場合において、種々のインビトロアッセイが、対応する結合パートナー（例えば、選択的結合因子、またはリガンド）へのIL-17様ポリペプチドの結合を測定するために使用され得る。これらのアッセイは、結合パートナーに対するIL-17様ポリペプチドの結合の速度および/または程度を増加または減少させるためのこれらの能力について、試験分子をスクリーニングするために使用され得る。1アッセイにおいて、IL-17様ポリペプチドは、マイクロタイタープレートのウェル中に固定化される。次いで、放射性同位体で標識したIL-17様ポリペプ

チド結合パートナー（例えば、ヨウ素化したIL-17様ポリペプチド結合パートナー）および試験分子は、このウェルに、一時に一方を（いずれかの順序で）または同時に添加され得る。インキュベーション後に、このウェルを洗浄し、そしてシンチレーション計数器を使用して、放射活性を計数し、結合パートナーがIL-17様ポリペプチドに結合する範囲を決定する。代表的に、分子は、濃度範囲にわたって試験され、そして試験アッセイの1以上の要素を欠く一連のコントロールウェルは、結果の評価の精度のために使用され得る。この方法の代わりは、ポリペプチドの「位置」を逆にする工程（すなわち、マイクロタイタープレートウェルに対してIL-17様ポリペプチド結合パートナーを固定化し、試験分子および放射標識したIL-17様ポリペプチドをインキュベートし、そしてIL-17様ポリペプチド結合の範囲を決定する工程）を包含する。例えば、*Current Protocols in Molecular Biology*、第18章（Ausubelら編、John Wiley & Sons NY（1995））を参照のこと。

【0207】

放射性標識に対する代替として、IL-17様ポリペプチドまたはその結合パートナーは、ビオチンと結合体化され得、そしてビオチン化されたタンパク質の存在が、次いで、酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）またはアルカリホスファターゼ（AP））に結合したストレプトアビジン（これらは、比色定量的に検出されるか、またはストレプトアビジンの蛍光タグ化によって検出され得る）を使用して検出され得る。IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様ポリペプチド結合パートナーに対する抗体であって、かつビオチンに結合している抗体がまた使用され得、APまたはHRPに連結した酵素連結ストレプトアビジンとの複合体のインキュベーションに続いて検出し得る。

【0208】

IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様ポリペプチド結合パートナーは、アガロースビーズ、アクリルビーズ、または他の型のこのような不活性な固体相基材への付着によって固定化され得る。基材-タンパク質複合体は、相補タンパク質および試験化合物を含む溶液内に配置され得る。インキュベーション後、

これらのビーズは、遠心分離によって沈澱され得、そしてIL-17様ポリペプチドとその結合パートナーとの間の結合の量が、本明細書中に記載の方法を使用して評価され得る。あるいは、基材-タンパク質複合体は、カラム内に固定化され得、そして試験分子および相補タンパク質はカラムを通過する。IL-17様ポリペプチドとその結合パートナーとの間の複合体の形成が、次いで、本明細書中に記載の技術（例えば、放射性標識または抗体結合）のいずれかを使用して評価され得る。

【0209】

IL-17様ポリペプチド結合タンパク質とIL-17様ポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成を増加または減少させる試験分子を同定するために有用な別のインビトロアッセイは、表面プラズモン共鳴検出器システム（例えば、BIAcoreアッセイシステム（Pharmacia, Piscataway, NJ））である。BIAcoreシステムは、製造業者のプロトコルを使用して実施される。このアッセイは、本質的に、IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様ポリペプチド結合パートナーのいずれかの、デキストランでコートされたセンサーチップ（これは、検出器に存在する）への共有結合を含む。次いで、この試験化合物および他の相補タンパク質が、同時にかまたは連続的にかのいずれかで、センサーチップを含むチャンバーに注入され得る。結合する相補タンパク質の量は、センサーチップのデキストランコート側面に物理的に関係する分子の質量の変化に基づいて評価され得、この分子の質量の変化は、検出器システムによって測定され得る。

【0210】

いくつかの場合において、2つ以上の試験化合物と一緒に、IL-17様ポリペプチドとIL-17様ポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成を増加または減少させるそれらの能力について評価することが所望され得る。これらの場合において、本明細書中に記載のアッセイは、第一の試験化合物と同時に、またはそれに続いてのいずれかで、このようなさらなる試験化合物を添加することによって容易に改変され得る。このアッセイにおける工程の残りは、本明細書中に記載される。

【0211】

インビトロアッセイ（例えば、本明細書中に記載されるもの）は、IL-17様ポリペプチドとIL-17様ポリペプチド結合パートナーとによる複合体の形成に対する効果について、多数の化合物をスクリーニングするために、有利に使用され得る。これらのアッセイは、ファージディスプレイ、合成ペプチド、および化学合成ライブラリーにおいて生成された化合物をスクリーニングするために、自動化され得る。

【0212】

IL-17様ポリペプチドとIL-17様ポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成を増加または減少される化合物はまた、IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様ポリペプチド結合パートナーのいずれかを発現する細胞および細胞系列を使用して、細胞培養物においてスクリーニングされ得る。細胞および細胞系列は、任意の哺乳動物から得られ得るが、好ましくは、ヒト、または他の霊長類、イヌ類またはげっ歯類の供給源由来である。IL-17様ポリペプチドの、IL-17様ポリペプチド結合パートナーを発現する細胞への、その表面での結合は、試験化合物の存在または非存在下で評価され、そして結合の程度が、例えば、IL-17様ポリペプチド結合パートナーに対するビオチン化抗体を使用するフローサイトメトリーによって決定され得る。細胞培養アッセイは、本明細書中に記載されるタンパク質結合アッセイにおいて、陽性であるとスコア付けされる化合物をさらに評価するために有利に使用され得る。

【0213】

細胞培養物はまた、薬物候補の影響をスクリーニングするために使用され得る。例えば、薬物候補は、IL-17様遺伝子の発現を減少または増加させ得る。特定の実施形態において、生成されるIL-17様ポリペプチドまたはIL-17様ポリペプチドフラグメントの量は、細胞培養物の薬物候補への曝露の後に測定され得る。特定の実施形態において、細胞培養物への薬物候補の実質的な影響が検出され得る。例えば、特定の遺伝子の過剰発現は、細胞培養物への特定の影響を有し得る。このような場合に、遺伝子の発現を増加または減少させる薬物候補の能力、または細胞培養物に対する特定の影響を予防または阻害するその能力

が試験され得る。他の例において、特定の代謝産物（例えば、ポリペプチドのフラグメントなど）の生成が、疾患または病的状態を生じ得るか、またはそれらと関連し得る。このような場合、細胞培養物におけるこのような代謝産物の生成を減少する薬物候補の能力が試験され得る。

【0214】

酵母ツーハイブリッドシステム (Chienら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、88:9578~9583、1991) を、IL-17様ポリペプチドと結合し、相互作用する、新規ポリペプチドを同定のために使用し得る。例としては、酵母ツーハイブリッドベイト (bait) 構築物を、ベクター (例えば、Clontech製のpAS2-1) 内に生成し得、このベクターは、IL-17様ポリヌクレオチドに融合した酵母GAL4-DNA結合ドメインをコードしている。このベイト構築物は、ヒトcDNAライブラリーをスクリーニングするために使用し得、ここでcDNAライブラリー配列は、GAL4活性化ドメインに融合されている。相互作用が陽性であることが、 β -Galのようなレポータ遺伝子の活性化を生じる。このスクリーニングから現れた陽性クローンは、相互作用するタンパク質を同定するために特徴付けられる。

(内部移行タンパク質)

TATタンパク質配列 (HIV由来) が、細胞膜の脂質二重膜成分を標的化することによって、タンパク質を細胞内に内部移行させるために使用され得る。例えば、Falwellら、1994、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 91:664-68を参照のこと。例えば、HIV TATタンパク質の11アミノ酸の配列 (YGRKKRRQRRR; 配列番号11) (「タンパク質形質導入ドメイン」、またはTAT PDTを称される) は、細胞の細胞質膜および核膜を横切る、巨大な生物活性のあるタンパク質 (例えば、ガラクトシダーゼおよびp27kip) の送達を媒介するとして記載されている。Schwarzeら、1999、Science 285:1569-1572; およびNagaharaら、1998、Nature Medicine 4:1449-1452を参照のこと。Schwarzeら (Science 285:1569-1572、1999) は、培養した細胞が、TAT PDTとガ

ラクトシダーゼの融合物に曝露した場合に、- g a l 活性を持ったことを示した。T A T - - g a l 融合タンパク質のマウスへの注射は、多くの組織（肝臓、腎臓、肺、心臓および脳組織を含む）における - g a l 発現を生じた。

【0215】

従って、T A T タンパク質配列は、所望のポリペプチドを細胞に内部移入させるために使用され得ることが理解される。本発明の状況において、T A T タンパク質配列を使用して、I L - 17 様アンタゴニスト（すなわち、抗 - I L - 17 様選択結合因子または小分子）のような別の分子と融合し得、そして I L - 17 様分子の活性を阻害するために、細胞内に投与され得る。所望される場合、I L - 17 様タンパク質自体または I L - 17 様のペプチドブチドフラグメント、または改変形態が、上述のような手順を使用した細胞への投与のための、そのようなタンパク質トランスデューサに融合され得る。

【0216】

（治療的用途）

本発明の I L - 17 様アンタゴニストについての使用および処置の非限定的なリストとしては、以下が挙げられる：炎症疾患、自己免疫疾患、アレルギー、喘息、および患者における器官または組織の拒否反応の処置または予防。本発明の I L - 17 アンタゴニストはまた、T 細胞の増殖および/または活性化を阻害するために、インビボ B 細胞増殖または免疫グロビン分泌を阻害するために、そして骨の老化の誘導における I L - 17 の効果を遮断するために、有用である。

【0217】

本発明が意図される場合、I L - 17 様ポリペプチド、これのアゴニストまたはアンタゴニストが、他の治療の添加剤として投与され得、そしてまた、処置される徴候に対して適切な他の薬学的因子とともに投与され得る。I L - 17 様ポリペプチドおよび任意のさらなる1つ以上の治療剤もしくは薬学的因子は、別々に、続けて、または同時に投与され得る。

【0218】

特定の実施形態において、本発明はまた、I L - 17 様ポリペプチドまたは I L - 17 様分子の アンタゴニスト で処置し得る疾患の処置のための、任意の1つ

以上のインターロイキン - 1 (I L - 1) インヒビターと組合せて用いる、 I L - 1 7 様ポリペプチドまたは I L - 1 7 様分子のアゴニストの使用 (事前処置、事後処置、または同時処置) に関する。インターロイキン - 1 インヒビターのクラスは、インターロイキン - 1 レセプターアンタゴニスト (I L - 1 に対する細胞レセプターの活性化を特異的に阻害することが可能な任意の化合物) (例えば、上述の I L - 1 r a ; 抗 I L - 1 レセプターモノクローナル抗体 (例えば、 E P 6 2 3 6 7 4、この開示は本明細書中で参考として援用される ; 可溶性 I L - 1 レセプターのような I L - 1 結合タンパク質 (例えば、米国特許第 5 , 4 9 2 , 8 8 8 号、同第 5 , 4 8 8 , 0 3 2 号、同第 5 , 4 6 4 , 9 3 7 号、同第 5 , 3 1 9 , 0 7 1 号、および同第 5 , 1 8 0 , 8 1 2) これらの開示は本明細書中で参考として援用される ; 抗 I L - 1 モノクローナル抗体 (例えば、 P C T 公開 W O 9 5 / 0 1 9 9 7、W O 9 4 / 0 2 6 2 7、W O 9 0 / 0 6 3 7 1 ; 米国特許第 4 , 9 3 5 , 3 4 3 号 ; および欧州特許第 3 6 4 7 7 8 号、同第 2 6 7 6 1 1 号および同第 2 2 0 0 6 3 号) ; I L - 1 レセプター付属タンパク質 (例えば、 P C T 公開 W O 9 6 / 2 3 0 6 7) ならびに I L - 1 のインビボ合成または細胞外放出を遮断する他の化合物およびタンパク質)) 。

【 0 2 1 9 】

インターロイキン - 1 レセプターアンタゴニスト (I L - 1 r a) は、インターロイキン - 1 の天然のインヒビターとして作用するヒトタンパク質である。インターロイキンレセプターアンタゴニスト、ならびに、その作成方法および使用方法は、米国特許第 5 , 0 7 5 , 2 2 2 号 ; P C T 公開 W O 9 1 / 0 8 2 8 5 ; W O 9 1 / 1 7 1 8 4 ; A U 9 1 7 3 6 3 6 ; W O 9 2 / 1 6 2 2 1 ; W O 9 3 / 2 1 9 4 6 ; W O 9 4 / 0 6 4 5 7 ; W O 9 4 / 2 1 2 7 5 ; F R 2 7 0 6 7 7 2 ; W O 9 4 / 2 1 2 3 5 ; D E 4 2 1 9 6 2 6 ; W O 9 4 / 2 0 5 1 7 ; W O 9 6 / 2 2 7 9 3 ; および W O 9 7 / 2 8 8 2 8 に記載され、これらの開示は本明細書中で参考として援用される。このようなタンパク質には、グリコシル化 I L - 1 レセプターアンタゴニストおよび非グリコシル化 I L - 1 レセプターアンタゴニストが含まれる。

【 0 2 2 0 】

具体的には、IL-1raの3つの例示的形態(IL-1ra、IL-1raおよびIL-1rax)は、米国特許第5,075,222号に開示されている。IL-1インヒビター、特にIL-1raを生成する方法はまた、この5,075,222号の特許に開示されている。

【0221】

インターロイキン-1インヒビターのさらなるクラスは、IL-1に対する細胞レセプターの活性化を特異的に阻害することが可能な化合物を含む。このような化合物は、可溶性レセプターおよびモノクローナル抗体のようなIL-1結合タンパク質を含む。このような化合物はまた、このレセプターに対するモノクローナル抗体を含む。

【0222】

インターロイキン-1インヒビターのさらなるクラスは、IL-1のインビボ合成および/または細胞外放出をブロックする化合物およびタンパク質を含む。このような化合物は、IL-1遺伝子の転写またはIL-1プレタンパク質のプロセッシングに影響を与える薬剤を含む。

【0223】

別の実施形態において、本発明は、本明細書中に列挙した疾患および障害の処置および予防のために、任意の1つ以上のTNFインヒビターと組合せた(事前処置、事後処置、または同時処置)、IL-17様ポリペプチドまたはIL-17様分子のアンタゴニストの使用に関する。

【0224】

このようなTNFインヒビターとしては、TNFのインビボ合成または細胞外放出を遮断する化合物およびタンパク質が挙げられる。特定の実施形態において、本発明は、以下の任意の1つ以上のTNFインヒビターのいずれかと組合せられた(前処置、後処置、または同時処置)IL-17様ポリペプチドの使用に関する：TNF結合タンパク質(本明細書中で定義されるような、可溶性TNFレセプターI型および可溶性TNFレセプターII型(「sTNFR」)、抗TNF抗体、顆粒球コロニー刺激因子；サリドマイド；BN 50730；テニダブ(tenidap)；E 5531；チアパファント(tiapafant) P

CA 4248; ニメスリド (nimesulide); パナビル (panavir); ロリプラム (rolipram); RP 73401; ペプチド T; MDL 201,449A; (1R,3S)-Cis-1-[9-(2,6-ジアミノプリニル)]-3-ヒドロキシ-4-シクロペンテン塩酸塩; (1R,3R)-trans-1-(9-(2,6-ジアミノ)プリン]-3-アセトキシシクロペンタン; (1R,3R)-trans-1-[9-アデニル]-3-アジドシクロペンタン塩酸塩および(1R,3R)-trans-1-(6-ヒドロキシ-プリン-9-イル)-3-アジドシクロ-ペンタン。TNF結合タンパク質は、当該分野で開示される(EP308378、EP422339、GB2218101、EP393438、WO90/13575、EP398327、EP412486、WO91/03553、EP418014、JP127,800/1991、EP433900、米国特許第5,136,021号、GB2246569、EP464533、WO92/01002、WO92/13095、WO92/16221、EP512528、EP526905、WO93/07863、EP568928、WO93/21946、WO93/19777、EP417563、WO94/06476、およびPCT国際出願番号PCT/US97/12244)。

【0225】

例えば、欧州特許第393438号および同第422339号は、可溶性TNFレセプターI型(「sTNFR-I」または「30kDa TNFインヒビター」としても公知)および可溶性TNFレセプターII型(「sTNFR-II」または「40kDa TNFインヒビター」としても公知)(集散的に「sTNFR」と称する)ならびにその改変形態(例えば、フラグメント、機能的誘導体、および改変体)のアミノ酸配列および核酸配列を教示する。欧州特許第393438号および同第422339号はまた、インヒビターのコードの原因である遺伝子を単離するための方法、適切なベクターおよび細胞型でこの遺伝子をクローニングするための方法、ならびにこの遺伝子を発現させてインヒビターを産生するための方法を開示する。さらに、sTNFR-IおよびsTNFR-IIの多価形態(すなわち、1つより多くの活性部位を含む分子)もまた開示された

。1つの実施形態において、多価形態は、少なくとも1つのTNFインヒビターおよび別の部分を、任意の臨床的に受容可能なリンカー（例えば、ポリエチレングリコール）と化学的にカップリングすることにより（PCT公開番号WO92/16221およびWO95/34326）、ペプチドリンカーにより（Nev erら、1996、Cytokine、8（5）：365-370）、ビオチンへの化学的カップリングおよび次いでアビジンへの結合（PCT公開番号WO91/03553）により、そして最後に、キメラ抗体分子を組み合わせることにより（米国特許第5,116,964号；PCT公開番号WO89/09622およびWO91/16437；ならびに欧州特許第315062号）構築され得る。

【0226】

抗TNF抗体としては、以下が挙げられる：MAK 195F Fab抗体（Hollerら、1993、1st International Symposium on Cytokines in Bone Marrow Transplantation 147）、CDP 571抗TNFモノクローナル抗体（Rankinら、1995、Br. J. Rheumatol.、34：334-342）、BAY X 1351マウス抗腫瘍壊死因子モノクローナル抗体（Kieftら、1995、7th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 9頁）；CentNF cA2抗TNFモノクローナル抗体（Elliottら、1994、Lancet、344：1125-1127；およびElliottら、1994、Lancet、344：1105-1110）。

【0227】

別の特定の実施形態において、本発明は、分泌または可溶性のヒトfas抗原またはその組換えバージョン（PCT公開番号WO96/20206；Mountzら、J. Immunol.、155：4829-4837；および欧州特許第510691号）と組合わせた（前処置、後処置、または同時処置）IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。PCT公開番号WO96/20206は、分泌ヒトfas抗原（ネイティブおよび組換え

(I g 融合タンパク質を含む))、可溶性組換えヒト f a s 抗原のコードの原因である遺伝子を単離するための方法、適切なベクターおよび細胞型でこの遺伝子をクローン化するための方法、ならびにこの遺伝子を発現させてインヒビターを産生するための方法を開示する。欧州特許第 5 1 0 6 9 1 号は、ヒト f a s 抗原 (可溶性 f a s 抗原を含む) をコードする DNA、この DNA を発現するためのベクター、およびこのベクターでトランスフェクトされた形質転換体を記載する。非経口的に投与される場合、分泌または可溶性の f a s 抗原融合タンパク質の用量は、それぞれ一般的に、約 1 μ g / k g ~ 約 1 0 0 μ g / k g である。

【 0 2 2 8 】

本明細書中に列挙される疾患および障害の現在の処置は、一般的に、疼痛および炎症の制御のための第 1 の系統の薬物の使用を包含し；これらの薬物は、非ステロイド系抗炎症薬 (N S A I D) として分類される。二次的な処置は、コルチコステロイド、遅い作用性の抗リウマチ薬 (S A A R D)、または疾患改善 (D M) 薬を含む。以下の化合物に関する情報は、The Merck Manual of Diagnosis and Therapy 第 16 版、Merck, Sarp & Dohme Research Laboratories, Merck & Co., Rathway, N. J. (1992) and Pharmaprojects PJB Publications Ltd. に見出され得る。

【 0 2 2 9 】

特定の実施形態において、本発明は、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための I L - 1 7 様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニスト、および 1 以上の N S A I D のいずれかの使用に関する。N S A I D は、その抗炎症性作用が、少なくとも部分的に、プロスタグランジン合成の阻害による (G o d m a n および G i l m a n、The Pharmacological Basis of Therapeutics (第 7 版、1985))。N S A I D は、以下の少なくとも 9 つのグループに特徴付けられ得る：(1) サリチル酸誘導体；(2) プロピオン酸誘導体；(3) 酢酸誘導体；(4) フェナム酸誘導体；(5) カルボン酸誘導体；(6) 酪酸誘導体；(7) オキシカム類；(8)

ピラゾール類；および(9)ピラゾロン類。

【0230】

別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のサリチル酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組合わせた(前処置、後処置、または同時処置)IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。このようなサリチル酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アセトアミノサロール(acetaminosalol)、アロキシプリン(aloxiprin)、アスピリン、ベノリレート(benorylate)、プロモサリゲニン、アセチルサリチル酸カルシウム、コリンマグネシウムトリサリチレート、サリチル酸マグネシウム、コリンサリチレート、ジフルシナル(diflusal)、エテルサレート(etersalate)、フェンドサル(fendosal)、ゲンチシン酸、サリチル酸グリコール、イミダゾールサリチレート、リジンアセチルサリチレート、メサラミン、モルホリンサリチレート、1-ナフチルサリチレート、オルサラジン、パルサルミド(parsalmide)、アセチルサリチル酸フェニル、サリチル酸フェニル、サラセタミド(salacetamide)、サリチルアミド O-酢酸、サルサレート、サリチル酸ナトリウムおよびスルファサラジン。同様の鎮痛特性および抗炎症特性を有する構造的に関連したサリチル酸誘導体もまた、この群に包含されることが意図される。

【0231】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のプロピオン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた(前処置、後処置、または同時処置)、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。プロピオン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アルミノプロフェン、ベノキサプロフェン、ブクロクス酸、カルプロフェン、デキシインドプロフェン(dexindoprofen)、フェノプロフェン、フルノキサプロフェン、フルプロフェン、フルルビプロフェン、フルクロプロフェン、イブプロフェン、イブプロフェンアルミニウム、イブプロキサム、インドプロフェン、イソ

プロフェン、ケトプロフェン、ロキソプロフェン (loxoprofen)、ミロプロフェン、ナプロキセン、ナプロキセンナトリウム、オキサプロジン、ピケトプロフェン、ピメプロフェン、ピルプロフェン、プラノプロフェン、プロチジン酸、ピリドキシプロフェン (pyridoxiprofen)、スプロフェン、チアプロフェン酸およびチオキサプロフェン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したプロピオン酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【0232】

なお別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上の酢酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。酢酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アセメタシン、アルクロフェナク、アムフェナク、ブフェキサマック、シンメタシン、クロピラク、デルメタシン (delmetacin)、ジクロフェナクカリウム、ジクロフェナクナトリウム、エトドラク、フェルピナク、フェンクロフェナク、フェンクロラク、フェンクロジン酸、フェンチアザク、フロフェナク、グルカメタシン、イブフェナック、インドメタシン、イソフェゾラク、イソキセパック、ロナゾラク、メチアジン酸 (metiazinic acid)、オキサメタシン、オキシピナック (oxpinac)、ピメタシン、プログルメタシン、スリンダク、タルメタシン、チアラミド、チオピナク、トルメチン、トルメチンナトリウム、ジドメタシンおよびゾメピラク。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した酢酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【0233】

別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のフェナム酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。フェナム酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：エンフェナム酸、エトフ

エナマート (etofenamate)、フルフェナム酸、イソニキシン、メクロフェナム酸、メクロフェナム酸ナトリウム、メドフェナム酸 (medofenamamic acid)、メフェナム酸、ニフルム酸、タルニフルマート、テロフェナマート、トルフェナム酸およびウフェナマート (ufenamate)。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したフェナム酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【0234】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のカルボン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。使用され得るカルボン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は以下を含む：クリダナク、ジフルニサル、フルフェニサル、イノリジン (inoridine)、ケトロラクおよびチノリジン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したカルボン酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【0235】

なお別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上の酪酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。酪酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：ブマジゾン、ブチブフェン、フェンブフェンおよびキセンブシン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した酪酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【0236】

別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のオキシカム、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。オキシカム、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：ドロキシカム、エノリカム、イソキシ

カム、ピロキシカム、スドキシカム、テノキシカムおよび4-ヒドロキシル-1,2-ベンゾチアジン1,1-ジオキシド4-(N-フェニル)-カルボキサミド。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したオキシカムもまた、この群に含まれることが意図される。

【0237】

なお別の特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のピラゾール、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。使用され得るピラゾール、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は以下を含む：ジフェナミゾールおよびエピリゾール。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したピラゾールもまた、この群に含まれることが意図される。

【0238】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、1つ以上のピラゾロン、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する。使用され得るピラゾロン、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アパゾン、アザプロパゾン、ベンズピペリロン、フェブラゾン、モフェブタゾン、モラゾン、オキシフェンブタゾン、フェニルブタゾン、ピペブゾン、プロピルフェナゾン、ラミフェナゾン、スキシブゾンおよびチアゾリノブタゾン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したピラゾロン (pyrazalone) もまた、この群に含まれることが意図される。

【0239】

別の特定の実施形態において、本発明は、以下のNSAIDの1つ以上のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニストまたはアンタゴニストの使用に関する： - 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-ヒドロキシ酪酸、アミキセトリン、アニトラザフェン、アントラフェニン、ベンダザック、ベンダザッ

クリジネート (bendazac lysinate)、ベンジダミン、ベプロジン (beprozin)、プロペラモール、ブコローム、ブフェゾラク、シプロカゾン、クロキシマート、ダジダミン、デボキサメト、デトミジン、ジフェンピラミド (difenpiramide)、ジフェンピラミド (difenpyramide)、ジフィサラミン (difisalamine)、ジタゾール、エモルファゾン、ファネチゾールメシレート、フェンフルミゾール、フロクタフェニン、フルミゾール、フルニキシム、フルプロカゾン、フォピルトリン (fopirtoline)、フォスフォサル、グアイメサル、グアイアゾレン (guaiazolene)、イソニキシム (isonixirn)、レフェタミン HCl、レフルノミド、ロフェミゾール、ロチファゾール、リジクロニキシネート (lysin clonixinate)、メセクラゾン、ナブメトン、ニクチンドール、ニメスリド、オルゴテイン、オルパノキシム、オキサセプロール、オキサパドール、パラニリン (paranyline)、ペリソキサール、クエン酸ペリソキサール、ピフォキシム、ピプロキセン (piproxen)、ピラゾラク、ピルフェニドン、プロカゾン、プロキサゾール、チエラビン B (thielavin B)、チフラミゾール、チメガジン、トレクチン、トルパドール、トリプトアミド (tryptamid) および 480156S、AA861、AD1590、AFP802、AFP860、AI77B、AP504、AU8001、BPPC、BW540C、CHINOIN 127、CN100、EB382、EL508、F1044、FK-506、GV3658、ITF182、KCNT EI6090、KME4、LA2851、MR714、MR897、MY309、ONO3144、PR823、PV102、PV108、R830、RS2131、SCR152、SH440、SIR133、SPAS510、SQ27239、ST281、SY6001、TA60、TAI-901 (4-ベンゾイル-1-インダンカルボン酸)、TVX2706、U60257、UR2301 および WY41770 のような会社コード番号によって登録されるような NSAID。NSAID に対して類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した NSAID もまた、この群に含まれることが意図される。

【0240】

さらに別の特定の実施形態において、本発明は、リウマチ性疾患、対宿主性移植片病、および多発性硬化症のような急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、1つ以上の副腎皮質ステロイド、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニスト、またはアンタゴニストの使用に関する。副腎皮質ステロイド、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下に由来するヒドロコルチゾンおよび化合物を含む：21-アセトキシプレグネノロン、アルクロメラゾン、アルゲストン、アムシノニド、ベクロメタゾン、ベタメタゾン、ベタメタゾンバレレート、ブデソニド、クロロプレドニゾロン、クロベタゾール、クロベタゾールプロピオネート、クロベタゾン、クロベタゾンブチレート、クロコルトロン、クロプレドノール、コルチコステロン、コルチゾン、コルチバゾール、デフラザコン、デソニド、デスオキシメラゾン、デキサメタゾン、ジフロラゾン、ジフルコルトロン、ジフルプレドネート、エノキサロン、フルアザコート、フルクロロニド、フルメタゾン、フルメタゾンピバレート、フルシノロンアセトニド、フルニソリド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、フルオコルチンブチル、フルオコルトロン、フルオコルトロンヘキサノエート、ジフルコルトロンバレレート、フルオロメトロン、フルペロロンアセテート、フルプレドニデンアセテート、フルプレドニゾロン、フルランデノリド、ホルモコータル、ハルシノニド、ハロメタゾン、ハロプレドンアセテート、ヒドロコルタメート、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾンアセテート、ヒドロコルチゾンブチレート、ヒドロコルチゾンホスフェート、ヒドロコルチゾン21-ナトリウムスクシネート、ヒドロコルチゾンテブテート、マジプレドン、メドリゾン、メプレドニゾン、メチルプレドニソロン、モメタゾンフロエート、パラメタゾン、プレドニカルベート、プレドニゾロン、プレドニゾロン21-ジエドリアミノアセテート、プレドニゾロンナトリウムホスフェート、プレドニゾロンナトリウムスクシネート、プレドニゾロンナトリウム21-m-スルホベンゾエート、プレドニゾロン21-ステアログリコレート、プレドニゾロンテブテート、プレドニゾロン21-トリメチル

アセテート、プレドニゾン、プレドニバル、プレドニリデン、プレドニリデン 2-1-ジエチルアミノアセテート、チキソコルトール、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロンベネトニド、およびトリアムシノロンヘキサアセトニドのようなヒドロコルチゾン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した副腎皮質コルチコイドはまた、この群に含まれることが意図される。

【0241】

別の特定の実施形態において、本発明は、リウマチ性疾患、対宿主性移植片病、および多発性硬化症のような急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、1つ以上の遅効性の抗リウマチ性薬物(SAARD)または疾患改変抗リウマチ性薬物(DMARDs)、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた(前処置、後処置、または同時処置)、IL-17様ポリペプチド、アゴニスト、およびアンタゴニストの使用に関する。SAARDまたはDMARD、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下を含む:アロキュブレイドナトリウム、オーラノフィン、アウロチオグルコース、アウロチオグリカニド、アザチオプリン、ブレキナール(brequinar)ナトリウム、ブシラミン、カルシウム3-アウロチオ-2-プロパノール-1-スルホネート、クロラムブシル、クロロキン、クロブザリット、キュプロキシリン、シクロホスホアミド、シクロスポリン、ダプソン、15-デオキシスペルグアリン、ジアセレイン、グルコサミン、金塩(例えば、シクロキン金塩、金ナトリウムチオマレート、金ナトリウムチオスルフェート)、ヒドロキシシクロロキン、ヒドロキシシクロロキンスルフェート、ヒドロキシ尿素、ケブゾン、レバミゾール、ロベンザリット、メリチン、6-メルカプトプリン、メトトレキセート、ミゾリビン、ミコフェノレートモフェチル(mofetil)、ミオラル、ナイトロジェン・マスタード、D-ペニシルアミン、ピリジノール、イミダゾール(例えば、SKNF86002およびSB203580)、ラパマイシン、チオール、サイモポエチン、およびビンクリスチン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したSAARDまたはDMARDはまた、この群に含まれることが意図される。

【0242】

さらなる実施形態において、本発明は、急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、1つ以上のCOX2インヒビター、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニスト、またはアンタゴニストの使用に関する。COX2インヒビター、プロドラッグエステル、またはそれらの薬学的に受容可能な塩の例としては、例えば、セレコキシブ（celecoxib）が挙げられる。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したCOX2インヒビターはまた、この群に含まれることが意図される。

【0243】

さらに別の特定の実施形態において、本発明は、急性および慢性炎症を含む、本明細書中に記載される疾患および障害の処置のための、1つ以上の抗菌剤、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）、IL-17様ポリペプチド、アゴニスト、またはアンタゴニストの使用に関する。抗菌剤としては、例えば、ペニシリン、セファロスポリンおよび他のβ-ラクタムの広範なクラス、アミノ配糖体、アゾール、キノロン類、マクロライド、リファマイシン、テトラサイクリン、スルホンアミド、リンコサミド（lincosamide）ならびにポリミキシンが挙げられる。ペニシリンは、以下を含むがこれらに限定されない：ペニシリンG、ペニシリンV、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フロクサシリン、アンピシリン、アンピシリン/スルバクタム、アモキシシリン、アモキシシリン/クラブラン酸、ヘタシリン、シクラシリン（cyclacillin）、バカンピシリン、カルベニシリン、カルベニシリンインダニル（carbenicillin indanyl）、チカルシリン、チカルシリン/クラブラン酸、アズロシリン、メズロシリン、ペペラシリン（peperacillin）、およびメシリナム。セファロスポリンおよび他のβ-ラクタムとしては、以下を含むがこれらに限定されない：セファロチン、セファピリン、セファレキシン、セフラジン、セファゾリン、セファドロキシル、セ

ファクロール、セファマンドール、セフォテタン、セフォキシチン、セルロキシム (ceruroxime)、セフォニシド、セフォラジン (ceforadine)、セフィキシム、セフォタキシム、モキサラクタム、セフチゾキシム、セトリアキソン (cetriaxone)、セフォペラゾン (cephoperazone)、セフトジジム、イミペネムおよびアズトレオナム。アミノ配糖体としては、以下を含むがこれらに限定されない：ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、アミカシン、ネチルマイシン、カナマイシンおよびネオマイシン。アゾールとしては、フルコナゾールを含むがこれに限定されない。キノロン類としては、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、エノキサシン、シプロフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシンおよびテマフロキサシンを含むがこれらに限定されない。マクロライドとしては、エリスロマイシン (erythromycin)、スピラマイシンおよびアジスロマイシンを含むがこれらに限定されない。リファマイシンとしては、リファンピンを含むがこれに限定されない。テトラサイクリンとしては、スピサイクリン (spicycline)、クロルテトラサイクリン、クロモサイクリン、デメクロサイクリン、デオキシサイクリン (deoxycycline)、グアメサイクリン (guamecycline)、リメサイクリン、メクロサイクリン、メタサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、ペニメピサイクリン、ピパサイクリン、ロリテトラサイクリン、サンサイクリン、セノサイクリン (senocyclin) およびテトラサイクリンを含むがこれらに限定されない。スルホンアミドとしては、スルホニルアミド、スルファメトキサゾール、スルファセタミド、スルファジジン、スルフィソキサゾールおよび co-トリモキサゾール (トリメトプリム / スルファメトキシサゾール) を含むがこれらに限定されない。リンコサミドとしては、クリンダマイシンおよびリンコマイシンを含むがこれらに限定されない。ポリミキシン (ポリペプチド) としては、ポリミキシン B およびコリスチンを含むがこれらに限定されない。

【0244】

(IL-17 様ポリペプチド組成物および投与)

治療組成物は、本発明の範囲内である。このような IL-17 様ポリペプチド

薬学的組成物は、治療有効量のIL-17様ポリペプチドまたはIL-17様核酸分子を、投与の様式と適合するように選択された薬学的にまたは生理学的に受容可能な処方薬剤との混合物中に、含み得る。薬学的組成物は、治療有効量の1以上のIL-17様ポリペプチド選択的結合因子を、投与の様式と適合するように選択された薬学的にまたは生理学的に受容可能な処方薬剤との混合物中に、含み得る。受容可能な処方物材料は、好ましくは、使用される投薬量および濃度で、レシピエントに対して非毒性である。

【0245】

薬学的組成物は、例えば、pH、浸透圧、粘度、清澄性、色、等張性、において、無菌性、安定性、解離または放出の速度、吸着、または組成物の浸透を改変、維持または保存するための処方物材料を含み得る。適切な処方物材料としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：アミノ酸（例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、またはリジン）、抗菌剤、抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウム、または亜硫酸水素ナトリウム（sodium hydrogen-sulfite））、緩衝液（例えば、ホウ酸塩、炭酸水素塩、Tris-HCl、クエン酸塩、リン酸塩、または他の有機酸）、バルキング剤（例えば、マンニトールまたはグリシン）、キレート化剤（エチレンジアミン四酢酸（EDTA））、複合体化剤（例えば、カフェイン、ポリビニルピロリドン、 β -シクロデキストリン、またはヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン）、フィラー、単糖類、二糖類、および他の炭水化物（例えば、グルコース、マンノースまたはデキストリン）、タンパク質（例えば、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン）、着色剤、味付け剤および希釈剤、乳化剤、親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドン）、低分子量ポリペプチド、塩形成対イオン（例えば、ナトリウム）、保存剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサール、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸、または過酸化水素）、溶媒（例えば、グリセリン、プロピレングリコール、またはポリエチレングリコール）、糖アルコール（例えば、マンニトールまたはソルビトール）、懸濁剤、表面活性剤または湿潤剤（例えば、プルオニック（pluronic

); PEG; ソルビタンエステル; ポリソルビテート (例えば、poly sorbate 20 または poly sorbate 80); トリトン; トロメタミン; レシチン; コレステロール または チロキサポール (tyloxapal))、安定性増強剤 (例えば、スクロース または ソルビトール)、張度増強剤 (例えば、ハロゲン化アルカリ金属 (好ましくは塩化ナトリウム または 塩化カリウム)、または マンニトール ソルビトール)、送達ビヒクル、希釈剤、賦形剤 および / または 薬学的なアジュバント。Remington's Pharmaceutical Sciences (第18版, A. R. Gennaro, 編, Mack Publishing Company [1990] を参照のこと。)

最適な薬学的組成物は、当業者によって、例えば、意図される投与経路、送達形式、および所望の投薬量に依存して決定される。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 前出を参照のこと。このような組成物は、IL-17 様分子の、物理的な状態、安定性、インビボ放出の速度、およびインビボクリアランスの速度に影響し得る。

【0246】

薬学的組成物における主要なビヒクルまたはキャリアは、本来水性または非水性のいずれかであり得る。例えば、注入のための適切なビヒクルまたはキャリアは、水、生理学的な生理食塩水溶液、または人工脳脊髄液であり、おそらく非経口投与のための組成物において一般的な材料で補充されている。中性の緩衝化生理食塩水または血清アルブミンと混合された生理食塩水は、さらなる例示的なビヒクルである。他の例示的な薬学的組成物は、約 pH 7.0 ~ 8.5 の Tris 緩衝液または約 pH 4.0 ~ 5.5 の酢酸塩緩衝液を含み、これはさらに、ソルビトールまたは適切な置換物を含み得る。本発明の1つの実施形態において、IL-17 様ポリペプチド組成物は、所望の程度の純度を有する選択された組成物を、任意の処方薬剤 (Remington's Pharmaceutical Sciences, 前出) と混合することによって、凍結乾燥ケーキまたは水溶液の形態で、保存のために調製され得る。さらに、IL-17 様ポリペプチド産物は、スクロースのような適切な賦形剤を使用して凍結乾燥物として処方され得る。

【0247】

このIL-17様ポリペプチドの薬学的組成物は、非経口送達のために選択され得る。あるいは、これらの組成物は、吸入または消化管を介する送達（例えば、経口的に）のために、選択され得る。このような薬学的に受容可能な組成物の調製は、当該分野の技術内にある。

【0248】

処方成分が、投与の部位に受容可能な濃度で存在する。例えば、緩衝液は、生理学的pHまたは多少より低いpH（典型的に、約5～約8のpH範囲内）にこの組成物を維持するために使用される。

【0249】

非経口投与が意図される場合、本発明における使用のための治療組成物は、薬学的に受容可能なビヒクルに所望のIL-17様分子を含む発熱物質を含まない非経口的に受容可能な水溶液の形態であり得る。非経口注入のために特に適切なビヒクルは、滅菌蒸留水であり、ここで、IL-17様分子が、滅菌で、等張溶液として処方され、適切に保存される。なお別の調製は、所望の分子と、薬剤（例えば、注入可能なマイクロスフィア、生体侵食（bio-erodible）薬剤、ポリマー化合物（ポリ乳酸またはポリグリコール酸）、ビーズまたはリポソーム）との処方物に関連し得、これは、次いで蓄積注射を介して送達され得る産物の制御されたまたは持続された放出を提供する。ヒアルロン酸がまた、使用され得、そしてこれは、循環において、維持された持続時間を促進する効果を有し得る。所望の分子の導入のための他の適切な手段は、移植可能な薬物送達デバイスを含む。

【0250】

(1) 遅放出处方物 (slow-release formulation)、(2) 吸入霧 (inhalant mist)、または(3) 経口活性処方物のような薬学的処方物はまた、想定される。IL-17様分子薬学的処方物は、一般に非経口投与で処方される。このような非経口投与される治療組成物は、典型的に、薬学的に受容可能なビヒクルに所望のIL-17様分子を含む発熱物質を含まない非経口的に受容可能な水溶液の形態であり得る。IL-17様分子薬

学的組成物はまた、ポリ乳酸、ポリグリコール酸などのようなポリマー化合物の粒子性の調製物、ならびにリポソームへの分子の導入を含む。ヒアルロン酸はまた、使用され得、そしてこれは、循環において、維持された持続時間を促進する効果を有し得る。

【0251】

1つの実施形態において、薬学的組成物は、吸入剤として処方され得る。例えば、IL-7様ポリペプチドは、吸入剤の乾燥パウダーとして処方され得る。IL-7様ポリペプチドまたはIL-7様核酸分子の吸入溶液はまた、エアロゾル送達のために液化された噴霧剤と共に処方され得る。なお別の実施形態において、溶液は、噴霧され得る。肺投与は、化学的改変タンパク質の肺送達を記載するPCT出願番号PCT/US94/001875にさらに記載される。

【0252】

特定の処方物が、経口投与されることがまた意図される。本発明の1つの実施形態において、このよう様式で投与されるIL-17様ポリペプチドが、固体投薬形態（例えば、錠剤またはカプセル）の調合において慣用的に使用されるキャリアを伴うか、または伴わず処方され得る。例えば、カプセルは、バイオアベイラビリティが最大化され、そして前全身分解が最小化される場合、胃腸管内での点で処方物の活性部分を放出するように設計され得る。さらなる薬剤が、IL-17様ポリペプチドの吸収を容易にするために含まれ得る。希釈剤、味付け剤、低融点ワックス、植物油、潤滑剤、懸濁剤、錠剤崩壊剤、およびバインダーがまた、使用され得る。

【0253】

別の薬学的組成物は、錠剤の製造に適切な非毒性賦形剤との混合物中に、有効量のIL-17様ポリペプチドを含み得る。錠剤を滅菌水または他の適切なビヒクルに溶解することによって、溶液が、単位用量形態で調製され得る。適切な賦形剤は以下を含むが、これらに限定されない：不活性な希釈剤（炭酸カルシウム、炭酸ナトリウムまたは炭酸水素ナトリウム、ラクトース、あるいはリン酸カルシウム）；または結合剤（例えば、デンプン、ゼラチンまたはアラビアゴム）；あるいは潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸またはタル

ク)。

【0254】

さらなるIL-17様ポリペプチドの処方物は、当業者に明らかであり、持続または制御送達処方物中にIL-17様ポリペプチドを含む処方物を含む。種々の他の持続または制御送達手段(例えば、リポソームキャリア、生体侵食マイクロスフィアあるいは多孔性ビーズおよび蓄積注射)を処方するための技術はまた、当業者に公知である。例えば、PCT/US93/00829(これは、薬学的組成物の送達のための多孔性ポリマー性マイクロ粒子の制御放出を記載する)を参照のこと。徐放性調製物のさらなる例としては、成形された物品の形態(例えば、フィルム、またはマイクロカプセル)の半透過性ポリマーマトリックスを含む。徐放性マトリックスとしては、ポリエステル、ヒドロゲル、ポリラクチド(米国特許第3,773,919号および欧州特許第058481号)、L-グルタミン酸とエチル-L-グルタメートとのコポリマー(Sidmanら, *Biopolymers* 22:547-56(1983))、ポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)(Langerら, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277(1981)およびLanger, *Chem. Tech.* 12:98-105(1982))、エチレンビニルアセテート(Langerら, 前出)またはポリ-D(-)-3-ヒドロキシ酪酸(欧州特許第133988号)。徐放性組成物はまた、リポソームを含み得、これは、当該分野で公知のいくつかの方法のいずれかによって調製され得る。例えば、Eppsteinら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:3688-3692(1985); および欧州特許第036676号、同第088046号、および同第143949号を参照のこと。

【0255】

インビボ投与のために使用されるIL-17様の薬学的組成物は、典型的には滅菌でなければならない。このことは、滅菌濾過膜を介する濾過によって達成され得る。組成物が、凍結乾燥される場合、この方法を使用する滅菌は、凍結乾燥および再構成の前に、またはそれに続いてのいずれかで実施され得る。非経口投与のための組成物は、凍結乾燥された形態または溶液で保存され得る。さらに、

非経口組成物は、一般に、滅菌アクセスポートを有する容器（例えば、静脈内溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有するバイアル）内に配置される。

【0256】

一旦、薬学的組成物が処方されると、それは、滅菌バイアル中に溶液、懸濁液、ゲル、エマルジョン、固体、または脱水和粉末または凍結乾燥粉末として保存され得る。このような処方物は、すぐに使用できる形態または投与の前に再構成を必要とする形態（凍結乾燥された形態）のいずれかで保存され得る。

【0257】

特定の実施形態において、本発明は、単一用量投与単位を生成するためのキットに関する。このキットは、各々、乾燥タンパク質を有する第一の容器および水性処方物を有する第二の容器の両方を含み得る。また、本発明の範囲内には、単一および多チャンバーの予め充填されたシリンジ（例えば、液体シリンジおよび分散シリンジ（*lyosyringe*））を含むキットが含まれる。

【0258】

治療的に使用されるIL-17様の薬学的組成物の有効量は、例えば、治療の内容および目的に依存する。従って、当業者は、処置のための適切な投薬レベルが、送達される分子、IL-17様分子が使用されている指標、投与の経路、および患者のサイズ（体重、体表面、または器官の大きさ）および状態（年齢および一般的な健康）に、部分的に依存して変化することを理解する。従って、臨床医は、最適な治療効果を得るために、投薬量を力価決定し（*titer*）、投与経路を改変し得る。代表的な投薬量は、上記の因子に依存して、約 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ～約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ 以上までの範囲であり得る。他の実施形態において、投薬量は、 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ～約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ まで；または $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ～約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ まで； $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ～約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ まで； $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ～約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ までの範囲であり得る。

【0259】

投薬の頻度は、使用される処方物中でのIL-17様分子の薬物動態学のパラメータに依存する。典型的に、臨床医は、所望の効果を達成する投薬量に達する

まで組成物を投与する。組成物は、従って、組成物は、経時的な単一用量として、2以上の用量（これは、同量の所望の分子を含んでも、含まなくてもよい）として、あるいは移植デバイスまたはカテーテルを介する連続的な注入として、投与され得る。適切な投薬量のさらなる改良は、当業者によって慣用的になされ、そしてそれらによって慣用的に実施される課題の範囲内である。適切な投薬量は、適切な用量 - 応答データの使用を介して確認され得る。

【0260】

薬学的組成物の投与の経路は、例えば、以下のような公知の方法と一致する：経口；吸入；静脈内、腹腔内、太脳内（実質内の）、脳室内、筋肉内、眼内、動脈内、門脈内、または病巣内の経路による注射または注入；または徐放性系；または移植デバイス。所望される場合、これらの組成物は、注入によって連続的に投与されるか、ボーラス注射によって投与され得るか、または注入によって連続投与され得るか、または移植デバイスによって連続投与され得る。

【0261】

あるいはまたはさらに、この組成物は、所望される分子が吸収されるかまたはカプセル化される膜、海綿質、または他の適切な物質の影響する領域への移植を介して局所的に投与される。移植デバイスが使用される場合、このデバイスは任意の適切な組織または器官に移植され得、そして所望の分子の送達は、デバイスに通って直接的に、拡散、時間放出性ボーラス投与または連続投与を介して、または連続注入を使用するカテーテルを介して移植され得る。 るい

IL - 17様ポリペプチド（フラグメント、変異体、および誘導体を含む）は、単独または、一緒に、または他のポリペプチドおよび薬学的組成物と組み合わせて使用され得ることがさらに理解される。例えば、IL - 17様ポリペプチドはまた、処置される状態に適切であるように、1つ以上のサイトカイン、増殖因子、抗生物質、抗炎症剤および/または化学療法剤と組み合わせて使用され得る。

【0262】

いくつかの場合において、エキソビボ様式において、IL - 17様の薬学的組成物を使用することが所望され得る。このような例において、患者から除去され

た細胞、組織、または器官は、これらの細胞、組織、または器官が引き続いて患者に移植して戻された後にIL-17様の薬学的組成物にポリペプチドに曝露される。

【0263】

他の場合において、IL-17様ポリペプチドは、本明細書中に記載される方法を使用して、遺伝的に操作されて、IL-17様ポリペプチドを発現および分泌する特定の細胞を移植することによって送達され得る。このような細胞は、動物またはヒト細胞であり得、そして自己、異種、または外因性の細胞であり得る。必要に応じて、細胞は、不死化され得る。免疫学的応答の機会を減少するために、細胞は、周囲の組織の浸潤を回避するために、カプセル化され得る。カプセル化材料は、典型的に、生体適合性の半浸透性ポリマー性包囲物または膜であり、これらは、タンパク質産物の放出を可能にするが、患者の免疫系または周囲の組織からの他の有害な因子による細胞の破壊を防止する。

【0264】

本発明のさらなる実施形態は、治療ポリペプチドのインビトロ産生と、遺伝子治療または細胞治療による治療ポリペプチドの産生および送達との両方のための、細胞および方法（例えば、相同組換えおよび/または他の組換え産生方法）に関する。

【0265】

IL-17様ポリペプチドが、相同組換えによってインビボまたはインビトロにおいて産生され得るか、またはIL-17様ポリペプチドをコードするDNAをすでに含む細胞に導入された制御エレメントを使用する組換え産生方法と組み合わせることでインビボまたはインビトロにおいて産生され得る。例えば、相同組換えおよび他の組換えの方法を使用して、通常は転写に対してサイレントなIL-17様遺伝子（すなわち、過少発現される遺伝子）を含む細胞を改変し得、これによって、治療有効量のIL-17様ポリペプチドを発現する細胞を産生し得る。

【0266】

相同組換えは、もともとは、遺伝子を標的化して転写活性な遺伝子における変異を誘導するか、または修正するために開発された技術である。Kucherl

apati, Prog. in Nucl. Acid Res. & Mol. Biol. 36:301 (1989)。基本的な技術が、特定の変異を哺乳動物ゲノムの特定の領域に導入するため(Thomasら, Cell 44:419-428 (1986); ThomasおよびCapecchi, Cell 51:503-512 (1987); Doetschmanら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:8583-8587 (1988))、または欠損遺伝子における特定の変異を修正するため(Doetschmanら, 1987, Nature 330:576-578)の方法として、開発された。例示的な相同組換え技術は、米国特許第5,272,071号;欧州特許第9193051号および同第505500号;PCT/US90/07642、ならびにPCT公開番号WO 91/09955)に記載されている。

【0267】

相同組換えによって、ゲノムに挿入されるべきDNA配列は、このDNA配列に標的化DNAを結合することによって、目的の遺伝子の特定の領域に指向され得る。この標的化DNAは、ゲノムDNAの領域に相補的(相同)であるヌクレオチド配列である。ゲノムの特定の領域に対して相補的な標的化DNAの小さな断片は、DNA複製プロセスの間に親鎖と接触される。これは、細胞に挿入されて、共有される相同領域を介して内因性DNAの他の断片とハイブリダイズし、そして従って、その内因性DNAの他の断片と組み換わる、DNAの一般的特性である。この相補鎖に、変異または異なる配列あるいはさらなるヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドが結合される場合には、このオリゴヌクレオチドもまた、この組換えの結果としてその新たに合成された鎖に組み込まれる。プルーフリーディング機能の結果として、DNAのこの新たな配列がテンプレートとして働くことが可能である。従って、この移入されたDNAは、ゲノムに組み込まれる。

【0268】

IL-17様ポリペプチドと相互作用し得るかまたはその発現を制御し得るDNAの領域(例えば、隣接配列)に、標的化DNAのこれらの断片を結合する。例えば、プロモーター/エンハンサーエレメント、サプレッサー、または外因性

転写調節エレメントが、意図される宿主細胞のゲノムにおいて、所望のIL-17様ポリペプチドをコードするDNAの転写に影響を与えるに十分な近接性および方向で、挿入される。制御エレメントは、この宿主細胞ゲノムに存在するDNAの一部を制御する。従って、所望のIL-17様ポリペプチドの発現は、IL-17様遺伝子自体をコードするDNAのトランスフェクションによってではなく、むしろ、IL-17様遺伝子の転写のための認識可能なシグナルを有する内因性遺伝子配列を提供するDNA調節セグメントと結合した標的DNA（目的の内因性遺伝子と相同の領域を含む）の使用によって、達成され得る。

【0269】

例示的な方法において、細胞における所望の標的遺伝子（すなわち、所望の内因性細胞遺伝子）の発現は、予め選択された部位における細胞ゲノムへの相同組換えを介して、少なくとも調節配列、エキソン、およびスプライドナー部位を含むDNAの導入によって、変更される。これらの構成成分は、これが実際に新たな転写単位の産生を実際に生じるような様式で、染色体（ゲノム）DNAに導入される（ここで、このDNA構築物に存在する調節配列、エキソン、およびスプライドナー部位は、内因性遺伝子に作動可能に連結される）。染色体DNAへのこれらの構成成分の導入の結果として、所望の内因性遺伝子の発現が変化する。

【0270】

本明細書中で記載されるように、変化された遺伝子発現は、得られたままの細胞において通常にはサイレントな（発現されていない）遺伝子を活性化すること（または発現させること）、ならびに得られたままの細胞において生理学的に有意なレベルでは発現されない遺伝子の発現を増加させることを包含する。この実施形態はさらに、調節または誘導のパターンを変化させる工程を包含し、その結果、このパターンは、得られたままの細胞において生じる調節または誘導のパターンとは異なり、そしてその得られたままの細胞において発現される遺伝子の発現を減少（排除を含む）させる。

【0271】

細胞の内因性IL-17様遺伝子からのIL-17様ポリペプチドの産生を増

加するかまたはこれを引き起こすために相同組換えが使用され得る、1つの方法は、最初に、相同性組換えを使用して、部位特異的組換え系由来の組換え配列（例えば、Cre/loxP、FLP/FRT）（Sauer, Current Opinion In Biotechnology, 5:521-527, 1994; Sauer, Methods In Enzymology, 225:890-900, 1993）を、その細胞の内在性ゲノムIL-17様ポリペプチドコード領域の上流（すなわち、5'側）に配置する工程を包含する。ゲノムIL-17様ポリペプチドコード領域のすぐ上流に配置されたこの部位に対して相同性の組換え部位を含むプラスミドは、適切なリコンビナーゼ酵素と共に、その改変された細胞株に導入される。このリコンビナーゼは、このプラスミドを、このプラスミドの組換え部位を介して、この細胞株のゲノムIL-17様ポリペプチドコード領域のすぐ上流に位置するその組換え部位に組み込む（BaubonisおよびSauer, Nucleic Acids Res. 21:2025-2029, 1993; O'Gormanら, Science 251:1351-1355, 1991）。転写を増加させることが知られている任意の隣接配列（例えば、エンハンサー/プロモーター、イントロン、翻訳エンハンサー）は、このプラスミド中に適切に配置される場合、細胞の内在性IL-17様遺伝子からの新たなまたは増加したIL-17様ポリペプチド産生を生じる、新たなまたは改変された転写単位を作製するような様式で組み込む。

【0272】

部位特異的組換え配列が細胞の内在性ゲノムIL-17様ポリペプチドコード領域のすぐ上流に配置された細胞株を使用するさらなる方法は、相同組換えを使用して細胞株のゲノムの他の位置に第2の組換え部位を導入することである。次いで、適切なリコンビナーゼ酵素が、この二組換え部位細胞株に導入され、組換え事象（欠失、反転、転移）を生じ（Sauer, Current Opinion In Biotechnology, 前出, 1994; Sauer, Methods In Enzymology, 前出, 1993）、これは、その細胞の内在性IL-17様遺伝子からの新規なまたは増加したIL-17様ポリペプチド産生を生じる、新しいかまたは改変された転写単位を作製する。

【0273】

細胞の内在性IL-17様遺伝子からのIL-17様ポリペプチドの発現を増加するため、または引き起こすためのさらなるアプローチは、細胞の内在性IL-17様遺伝子からの新たなまたは増加したIL-17様ポリペプチドの産生を生じる様式で、遺伝子（単数または複数）（例えば、転写因子）の発現を増加するかまたは引き起こす工程、および/または遺伝子（単数または複数）（例えば、転写リプレッサー）の発現を減少する工程を包含する。この方法は、天然に存在しないポリペプチド（例えば、転写因子ドメインに融合した部位特異的DNA結合ドメインを含むポリペプチド）を、その細胞の内在性IL-17様遺伝子からの新たなまたは増加したIL-17様ポリペプチドの産生が起こるように、細胞に導入する工程を包含する。

【0274】

本発明はさらに、標的遺伝子の発現を変化させる方法において有用なDNA構築物に関する。特定の実施形態において、代表的なDNA構築物は、以下を含む：（a）1つ以上の標的化配列、（b）調節配列、（c）エクソン、および（d）不対スプライドナー部位。DNA構築物中の標的化配列は、細胞中の標的遺伝子へのエレメント（a）～（d）の組込みを指向し、その結果、これらのエレメント（b）～（d）が、その内在性標的遺伝子の配列に作動可能に連結される。別の実施形態において、DNA構築物は、以下を含む：（a）1つ以上の標的化配列、（b）調節配列、（c）エクソン、（d）スプライドナー部位、（e）イントロン、および（f）スプライスアクセプター部位。ここで、標的化配列は、エレメント（a）～（f）の組込みを指向し、その結果、これらのエレメント（b）～（f）が、その内在性遺伝子に作動可能に連結される。この標的化配列は、相同組換えが生じる細胞染色体DNAの予め選択された部位に対して相同性である。この構築物において、エクソンは、一般的に、調節配列の3'側であり、そしてスプライドナー部位は、このエクソンの3'側である。

【0275】

特定の遺伝子の配列（例えば、本明細書中で記載されるIL-17様ポリペプチドの核酸配列）が公知である場合、この遺伝子の選択された領域に対して相補

的なDNAの断片が、合成され得るか、またはそうでなければ、例えば、目的の領域に結合している特定の認識部位におけるそのネイティブのDNAの適切な制限処理によって得られ得る。この断片は、細胞に挿入された際に、標的化配列として働き、そしてそのゲノム内の相同性領域にハイブリダイズする。このハイブリダイゼーションが、DNA複製の間に生じる場合、このDNAの断片、およびそれに結合した任意のさらなる配列は、岡崎フラグメントとして作用し、そしてDNAの新たに合成された娘鎖に組み込まれる。従って、本発明は、IL-17様分子をコードするヌクレオチドを含み、このヌクレオチドは、標的化配列として使用され得る。

【0276】

IL-17様ポリペプチド細胞治療（例えば、IL-17様ポリペプチドを産生する細胞の移植）もまた企図される。この実施形態は、生物学的に活性な形態のIL-17様ポリペプチドを合成および分泌し得る細胞を移植する工程を包含する。このようなIL-17様ポリペプチド産生細胞は、IL-17様ポリペプチドの天然の産生者である細胞であり得るか、またはそのIL-17様ポリペプチドを産生する能力が、所望のIL-17様ポリペプチドをコードする遺伝子またはIL-17様ポリペプチドの発現を増大する遺伝子で形質転換することによって増大された、組換え細胞であり得る。このような改変は、遺伝子を送達しそしてその遺伝子の発現および分泌を促進するために適切なベクターによって達成され得る。IL-17様ポリペプチドを投与されている患者における強力な免疫学的反応を最小化するために、外来種のポリペプチドの投与と共に生じ得る場合、IL-17様ポリペプチドを産生する天然の細胞が、ヒト起源であり、そしてヒトIL-17様ポリペプチドを産生することが好ましい。同様に、IL-17様ポリペプチドを産生する組換え細胞が、ヒトIL-17様ポリペプチドをコードする遺伝子を含む発現ベクターで形質転換されることが好ましい。

【0277】

移植細胞は、周辺組織の浸潤を回避するようにカプセル化され得る。ヒトまたは非ヒト動物細胞は、生体適合性の半透性ポリマー封入物または膜（これは、IL-17様ポリペプチドの放出を可能にするが、患者の免疫系によるかまたは周

辺組織からの他の有害な因子による細胞の崩壊を防止する)において患者に移植され得る。あるいは、IL-17様ポリペプチドをエキソビボで産生するように形質転換された患者自身の細胞が、このようなカプセル化なしで、患者に直接移植され得る。

【0278】

生きた細胞をカプセル化するための技術は当該分野で公知であり、そしてカプセル化された細胞の調製およびそれらの患者への移植は、慣用的に達成され得る。例えば、Baetgeら(PCT公開WO95/05452およびPCT/US94/09299)は、生物学的に活性な分子の効果的な送達のために遺伝子操作された細胞を含む膜カプセルを記載する。このカプセルは、生体適合性であり、そして容易に回収可能である。このカプセルは、生物学的に活性な分子をコードするDNA配列を含む組換えDNA分子でトランスフェクトされた細胞をカプセル化し、このDNA配列は、哺乳動物宿主細胞に移植された際にインビボで下方制御に供されないプロモーターに作動可能に連結されている。このデバイスは、レシピエント内の特定の部位への生きた細胞由来の分子の送達を提供する。さらに、米国特許第4,892,538号;同第5,011,472号;および同第5,106,627号を参照のこと。生きた細胞をカプセル化するためのシステムは、PCT公開WO91/10157(Aebischerら)に記載される。PCT公開WO91//10155(Aebischerら);Winnら、Exper.Neurol.113:322-329,(1991);Aebischerら、Exper.Neurol.111:269-275,(1991);およびTrescoら、ASAIO 38:17-23,(1992)もまた参照のこと。

【0279】

IL-17様ポリペプチドのインビボおよびインビトロの遺伝子治療送達もまた想定される。遺伝子治療技術の一例は、構成的または誘導性プロモーターに作動可能に連結され得るIL-17様ポリペプチドをコードするIL-17様遺伝子(ゲノムDNA、cDNAおよび/または合成DNAのいずれか)を使用して、「遺伝子治療DNA構築物」を形成することである。このプロモーターは、内

在性IL-17様遺伝子に対してホモ接合性またはヘテロ接合性であり得るが、ただし、これは、構築物が挿入される細胞または組織型において活性である。遺伝子治療DNA構築物の他の成分は、必要に応じて、部位特異的組込みのために設計されるDNA分子（例えば、相同組換えのために有用な内在性配列）、組織特異的プロモーター、エンハンサーまたはサイレンサー、親細胞を超える選択的優性を提供し得るDNA分子、形質転換された細胞を同定するための標識として有用なDNA分子、ネガティブ選択系、細胞特異的結合因子（例えば、細胞標的化について）、細胞特異的内部移行因子、ベクターからの発現を増大する転写因子、およびベクターの産生を可能にする因子を含み得る。

【0280】

遺伝子治療DNA構築物は、次いで、ウイルスベクターまたは非ウイルスベクターを使用して細胞に導入され得る（エキソビボまたはインビボのいずれか）。遺伝子治療DNA構築物を導入するための1つの手段は、本明細書中に記載されるようなウイルスベクターを用いた手段による。特定のベクター（例えば、レトロウイルスベクター）は、DNA構築物を細胞の染色体DNAに送達し、そしてこの遺伝子は、染色体DNAに組み込まれ得る。他のベクターは、エピソームとして機能し、そして遺伝子治療DNA構築物は、細胞質に残る。

【0281】

なお他の実施形態において、調節エレメントが、標的細胞におけるIL-17様遺伝子の制御された発現のために含まれ得る。このようなエレメントは、適切なエフェクターに応答して刺激される。このようにして、治療的ポリペプチドは、所望の場合に発現され得る。1つの従来制御手段は、低分子結合ドメインおよび生物学的プロセスを開始し得るドメインを含むキメラタンパク質（例えば、DNA結合タンパク質または転写活性タンパク質）を二量化する低分子二量化剤またはラパログ（rapalog）の使用を包含する（PCT公開WO96/41865（PCT/US96/099486）、WO97/31898（PCT/US97/03137）およびWO97/31899（PCT/US95/03157）を参照のこと）。タンパク質の二量化は、IL-17様遺伝子の転写を開始するために使用され得る。

【0282】

代替の調節技術は、目的の遺伝子から発現されたタンパク質を、凝集体またはクラスターとして細胞の内側に貯蔵する方法を使用する。目的の遺伝子は、小胞体における凝集タンパク質の保持を生じる、条件的凝集ドメインを含む融合タンパク質として発現される。貯蔵されたタンパク質は安定であり、そして細胞の内側で不活性である。しかし、このタンパク質は、薬物（例えば、低分子リガンド）を投与することによって放出され得る。この薬物は、この条件的凝集ドメインを除去し、それにより、凝集体またはクラスターを特異的に破壊し、その結果、このタンパク質は細胞から分泌され得る。Science 287:816-17およびScience 287:826-30, (2000)を参照のこと。

【0283】

他の適切な制御手段または遺伝子スイッチとしては、以下のような系が挙げられるが、これらに限定されない。Mifepristone (RU486)は、プロゲステロンアンタゴニストとして使用される。改変されたプロゲステロンレセプターリガンド結合ドメインのプロゲステロンアンタゴニストへの結合は、2つの転写因子のダイマーを形成し、これらが、次いで、核を通過してDNAを結合することによって、転写を活性化する。このリガンド結合ドメインは、天然のリガンドに結合するレセプターの能力を排除するように改変される。改変されたステロイドホルモンレセプター系はさらに、米国特許第5,364,791号、ならびにPCT公開WO96/40911およびWO97/10337に記載される。

【0284】

なお別の制御系は、エクジソンレセプター（細胞質レセプター）に結合しそしてこれを活性化する、エクジソン（ショウジョウバエステロイドホルモン）を使用する。次いで、このレセプターは核に転移し、特定のDNA応答エレメント（エクジソン応答性遺伝子由来のプロモーター）に結合する。エクジソンレセプターは、トランス活性化ドメイン/DNA結合ドメイン/リガンド結合ドメインを含み、転写を開始する。エクジソン系はさらに、米国特許第5,514,578、およびPCT公開WO97/38117、WO96/37609、およびWO

93/03162に記載される。

【0285】

別の制御手段は、陽性テトラサイクリン制御可能トランス活性化因子を使用する。この系は、転写を活性化するポリペプチドに連結された変異したtetリプレッサータンパク質DNA結合ドメイン（逆テトラサイクリン制御トランス活性化因子タンパク質を生じた変異したtetR-4アミノ酸の変化、すなわち、これは、テトラサイクリンの存在下でtetオペレーターに結合する）を含む。このような系は、米国特許第5,464,758号、同第5,650,298号、および同第5,654,168号に記載される。

【0286】

さらなる発現制御系および核酸構築物は、米国特許第5,741,679号および同第5,834,186号（Innovir Laboratories Inc.）に記載される。

【0287】

インビボ遺伝子治療は、IL-17様ポリペプチドをコードする遺伝子を、IL-17様核酸分子の局所注射によって、または他の適切なウイルスもしくは非ウイルス送達ベクターによって、細胞に導入することにより達成され得る。Hefiti, Neurobiology 25:1418-1435, (1994)。例えば、IL-17様ポリペプチドをコードする核酸分子は、標的細胞への送達のためのアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターに含まれ得る（例えば、Johnson, PCT公開WO95/34670; PCT出願PCT/US95/07178を参照のこと）。組換えAAVゲノムは、典型的に、機能的プロモーターおよびポリアデニル化配列に作動可能に連結されたIL-17様ポリペプチドをコードするDNA配列に隣接する、AAV逆末端反復を含む。

【0288】

代替の適切なウイルスベクターとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、レンチウイルス、肝炎ウイルス、パルボウイルス、パポウイルス、ポックスウイルス、アルファウイルス、コロナウイルス、ラブドウイルス、パラミクソウイルス、および乳頭腫ウイルスベクターが挙げられるがこ

れらに限定されない。米国特許第5,672,344号は、組換え神経栄養性HSV-1ベクターを含むインビボウイルス媒介遺伝子移入系を記載する。米国特許第5,399,346号は、治療タンパク質をコードするDNAセグメントを挿入するためにインビトロで処置されたヒト細胞の送達によって、治療タンパク質を患者に提供するためのプロセスの例を提供する。遺伝子治療技術の実施のためのさらなる方法および材料は、米国特許第5,631,236号(アデノウイルスベクターを含む)、同第5,672,510号(レトロウイルスベクターを含む)、同第5,635,399号(サイトカインを発現するレトロウイルスベクターを含む)に記載される。

【0289】

非ウイルス送達法としては、リポソーム媒介送達、裸のDNA送達(直接注射)、レセプター媒介移入(リガンド-DNA複合体)、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈降、および微粒子ボンバードメント(例えば、遺伝子銃)が挙げられるが、これらに限定されない。遺伝子治療材料および方法はまた、誘導性プロモーター、組織特異的エンハンサー-プロモーター、部位特異的組込みのために設計されたDNA配列、親細胞を越える選択的優性を提供し得るDNA配列、形質転換された細胞を同定するための標識、ネガティブな選択系および発現制御系(安全性の指標)、細胞特異的結合因子(細胞ターゲティングのため)、細胞特異的內部移行因子、およびベクターならびにベクター製造の方法による発現を増大する転写因子を含み得る。遺伝子治療技術の実施のためのこのようなさらなる方法および材料は、米国特許第4,970,154号(エレクトロポレーション技術を含む)、PCT公開WO96/40958(核リガンドを含む)、同第5,679,559号(遺伝子送達のためのリポタンパク質含有系を記載する)、同第5,676,954号(リポソームキャリアを含む)、同第5,593,875号(リン酸カルシウムトランスフェクションのための方法を記載する)、および同第4,945,050号(生物学的に活性な粒子がある速度で細胞に噴霧され、それによりこの粒子がこの細胞の表面に浸透し、そしてこの細胞の内側に組み込まれるプロセスを記載する)に記載される。

【0290】

IL-17様遺伝子治療または細胞治療はさらに、同じか異なる細胞（単数または複数）における1つ以上のさらなるポリペプチド（単数または複数）の送達を含み得ることもまた企図される。例えば、宿主細胞は、IL-7様ポリペプチドおよび以下の少なくとも1つ：IL-1ra、sTNFr I型、sTNFr II型、およびそれらの誘導体；セリン白血球プロテアーゼインヒビター（SLPI）、オステオプロトゲリン（OPG）；および抗TNF抗体、抗IL-1抗体、およびそれらの誘導体の両方を発現し、放出するように改変され得る。

【0291】

このような細胞は、患者に別々に導入され得るか、この細胞は、単一の移植可能デバイス（例えば、上記のカプセル化膜）に含められ得るか、あるいはこの細胞は、ウイルスベクターによって別々に改変され得る。

【0292】

遺伝子治療による細胞における内在性IL-17様ポリペプチドの発現を増加する手段は、IL-17様ポリペプチドプロモーターに1つ以上のエンハンサーエレメントを挿入することであり、ここでエンハンサーエレメントは、IL-17様遺伝子の転写活性を増加させるように働き得る。使用されるエンハンサーエレメントは、遺伝子を活性化することを所望する組織に基づいて選択される - その組織の中でプロモーター活性を与えることが知られているエンハンサーエレメントが選択される。例えば、IL-17様ポリペプチドをコードする遺伝子がT細胞において「オンに変わる」場合、Ickプロモーターエンハンサーエレメントが使用され得る。従って、付加される転写エレメントの機能的部分は、標準的なクローニング技術を使用して、IL-17様ポリペプチドプロモーターを含むDNAのフラグメントに挿入され得る（そして必要に応じて、ベクターおよび/または5'および/または3'隣接配列に挿入される）。「相同性組換え構築物」として公知のこの構築物は、次いで、エキソビボまたはインビボいずれかで、所望の細胞に導入され得る。

【0293】

遺伝子治療はまた、内在性プロモーターのヌクレオチド配列を改変することによって、IL-17様ポリペプチド発現を減少するために使用され得る。このよ

うな改変は、典型的に、相同性組換え方法によって達成される。例えば、不活性化のために選択された I L - 17 様遺伝子の全てまたは一部のプロモーターを含む DNA 分子は、転写を調節するプロモーターの断片を除去および/または置換するように操作され得る。例えば、プロモーターの転写活性化因子の T A T A ボックスおよび/または結合部位は、標準的な分子生物学的技術を使用して欠失され得；このような欠失は、プロモーター活性を阻害し得、それにより対応する I L - 17 様遺伝子の転写を抑制し得る。プロモーターにおける T A T A ボックスまたは転写活性化因子結合部位の欠失は、I L - 17 様ポリペプチドプロモーター（調節される I L - 17 様遺伝子と同じかまたは関連の種由来）のすべてまたは関連の部分を含む DNA 構築物を生成することによって達成され得、ここで、1 つ以上の T A T A ボックスおよび/または転写活性化因子結合部位のヌクレオチドは、1 つ以上のヌクレオチドの置換、欠失、および/または挿入によって変異される。結果として、T A T A ボックスおよび/または活性化因子結合部位は、活性を減少するか、または完全に不活性にされる。この構築物は、典型的に、改変されたプロモーターセグメントに隣接したネイティブの（内在性）5' および 3' DNA 配列に対応する少なくとも約 500 塩基の DNA を含む。この構築物は、直接または本明細書中に記載されるようなウイルスベクターを介してのいずれかで、適切な細胞に（エキソビボまたはインビボ/いずれかで）導入され得る。典型的に、細胞のゲノム DNA へのこの構築物の組込みは相同性組換えによってであり、ここで、このプロモーター構築物の 5' および 3' DNA 配列は、内在性染色体 DNA へのハイブリダイゼーションによって、改変プロモーター領域に一体化するのを助けるように作用し得る。

【0294】

（I L - 17 様核酸およびポリペプチドのさらなる使用）

本発明の核酸分子（それ自体は生物学的に活性なポリペプチドをコードしない核酸分子を含む）を使用して、I L - 17 様遺伝子および関連遺伝子の染色体上の位置をマッピングし得る。マッピングは、当該分野で公知の技術（例えば、P C R 増幅およびインサイチュハイブリダイゼーション）により行われ得る。

【0295】

IL - 17様核酸分子（それ自体は生物学的に活性なポリペプチドをコードしない核酸分子を含む）は、哺乳動物組織または体液サンプル中のIL - 17様DNAまたは対応するRNAの存在について、定性的または定量的のいずれかで試験するための、診断アッセイにおけるハイブリダイゼーションプローブとして有用であり得る。

【0296】

生物学的に活性なIL - 7様ポリペプチドおよび核酸分子は、本明細書中に引用される疾患および状態を含む、多数の疾患および状態の予防または処置に使用され得る。

【0297】

生物学的に活性なIL - 7様ポリペプチドおよび核酸分子はまた、1つ以上の他の治療学的組成物と組み合わせて使用され得る。IL - 7様ポリペプチドは、処置される状態に適切であるように、1つ以上のサイトカイン、増殖因子、抗生物質、抗炎症剤および/または化学療法剤と組み合わせて（同時に、または引き続き）使用され得る。

【0298】

他の方法はまた、1つ以上のIL - 17様ポリペプチドの活性を阻害することを所望する場合に使用され得る。このような阻害は、発現制御配列（3重螺旋形態）またはIL - 17様mRNAに相補的であり、かつハイブリダイズする核酸分子によって影響され得る。例えば、少なくとも選択されたIL - 17様遺伝子の一部に相補的な配列を有するアンチセンスDNAまたはRNA分子は、細胞に導入され得る。アンチセンスプローブは、本明細書において開示されたIL - 17様ポリペプチドの配列を用いた利用可能な技術によって設計され得る。代表的には、このようなアンチセンス分子の各々は、各選択されたIL - 17様遺伝子の開始部位（5'末端）に相補的である。次いでアンチセンス分子が対応するIL - 17様mRNAにハイブリダイズする場合、このmRNAの翻訳を、妨げるか、または減少する。アンチセンスインヒビターは、細胞または生物におけるIL - 17様ポリペプチドの減少または非存在に関連する情報を提供する。

【0299】

あるいは、遺伝子治療を使用して、1つ以上のIL-17様ポリペプチドの優勢ネガティブインヒビターを作製し得る。この状況において、各々の選択されたIL-17様ポリペプチドの変異体ポリペプチドをコードするDNAは、本明細書において記載されるように調製され得、そしてウイルスまたは非ウイルス性のいずれかの方法を用いて患者の細胞中に導入され得る。各々のそのような変異体は、代表的に、その生物学的役割における内因性ポリペプチドと競合するように設計される。

【0300】

さらに、IL-17様ポリペプチド（生物学的に活性でも活性でなくても）は、免疫原として使用され得、すなわち、これらのポリペプチドは、抗体が惹起され得る少なくとも1つのエピトープを含む。IL-17様ポリペプチドに結合する（本明細書中に記載されるような）選択的結合因子は、インビボおよびインビトロでの診断目的のために使用され得、これらの目的としては、体液サンプルまたは細胞サンプル中のIL-17様ポリペプチドの存在を検出するための標識された形態での使用が挙げられるが、これに限定されない。これらの抗体は、IL-17様ポリペプチドの少なくとも1つの活性特徴を低減するかまたは遮断するように、IL-17様ポリペプチドに結合し得るか、またはポリペプチドに結合してIL-17様ポリペプチドの少なくとも1つの活性特徴を増加し得る（IL-17様ポリペプチドの薬物動態を増加させることによるものを含む）。

【0301】

以下の実施例は、例示目的のみのために意図され、本発明の範囲をどちらにしても限定するとは解釈されるべきではない。

【0302】

（実施例1）

PCRを使用して、プライマー2406-26および2406-28をそれぞれ2.5 pmolならびに15 ngのライブラリーcDNAを使用して75個のヒト組織ライブラリーのパネルをスクリーニングした。PCRを、Ready-To-Go PCRビーズ（Amersham Pharmacia Biotech Catalogue No. #27-9553）を使用して実施した。

PCRを、25 μ lの容量で実施した。PCR条件は、94 で2分間；次いで94 で15秒間；65 で30秒間；72 で1分間の35サイクル；72 で7分間の最終伸長、および4 で保持であった。238bpのバンドを、シグナルの強度を変えることで7つの供給源において同定した。7つのライブラリーは：1) 胎児臍臓-オリゴdTライブラリー、2) 卵巣腫瘍-オリゴdTライブラリー、3) リンパ種-ランダムプライムした(primed)ライブラリー、4) 標準化胎児組織-ランダムプライムしたライブラリー、5) 精巢-オリゴdTライブラリー、6) 小脳-オリゴdTライブラリー、7) 脊柱-オリゴdTライブラリーである。

【0303】

【表3】

供給源	シグナル
1) 胎児臍臓-DT	+
2) 卵巣腫瘍-DT	+++
3) リンパ種-RP	++
4) 標準化胎児組織-RP	+
5) 精巢-DT	+
6) 小脳-DT	++++
7) 脊柱-DT	+++

(実施例2)

スクリーニングに使用したライブラリーおよびRACEを、以下の一般的な手順を使用して作製した。

【0304】

全RNAを、標準RNA抽出手順を使用して適切な組織/細胞株から抽出し、そしてポリA+RNAを、当業者に公知の標準手順を使用して、この全RNAから選択した。Superscript Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloningキット(Gibco-BRL, Inc., Rockville, MD)のマニュアル

ルの手順を使用して、ランダムプライムしたcDNAまたはオリゴ(dT)プライムしたcDNAを、このポリA+RNAから合成した。この得られたcDNAを適切な制限酵素で消化して、クローニングベクターへのライゲートを援助するように粘着末端を作製した。この消化されたcDNAを、適切な制限酵素で予め消化しているpSPORT-1クローニングベクターにライゲートした。ライゲーション産物を、当該分野で公知の標準技術を使用してE. coliに形質転換し、そして形質転換体を、アンピシリン、テトラサイクリン、カナマイシンまたはクロラムフェニコールのいずれかを含む細菌培養プレート上で、使用した特異的クローニングベクターに依存して選択した。このcDNAライブラリーは、これらの形質転換体の全てまたはサブセットから構成されていた。

【0305】

PCRを、タッチダウンプロトコールを使用して5'-RACE反応および3'-RACE反応の両方について、7つの陽性ライブラリー上で使用した。5'-RACEプライマーは、遺伝子特異的プライマー2406-28およびライブラリーベクター(pSPORT1)プライマー1926-83(5'GGC TCG TAT GTT GTG TGG AAT TGT GAG CG-3'配列番号5)を使用した。3'-RACEプライマーは、遺伝子特異的プライマー2406-26およびライブラリーベクタープライマー1916-80(5'TGC AAG GCG ATT AAG TTG GGT AAC GCC AG-3'配列番号6)を使用した。PCR条件は、以下であった: 94にて2分間; 94にて5秒間そして72にて2分間を5サイクル; 94にて5秒間そして70にて2分間を5サイクル; 94にて5秒間そして68にて2分間を25サイクル; 次いでならびに72にて7分間の最終伸長そして4で保持。この反応は、50µlの最終容量中、25ngの各DNAライブラリー、10pmolの各プライマー、200µM dNTP(最終濃度)、および1x濃度のClontech's Advantage cDNA Polymerase Mix(カタログ番号8417-1)を使用した。

【0306】

入れ子式(nested)PCR反応を、5µlの1:50希釈の第1ラウン

ドPCR 5' - RACE産物および3' - RACE産物、10 pmolの各入れ子式遺伝子特異的プライマー、および入れ子式ベクタープライマーを使用して上のサンプル上で実施した。(5' 入れ子式RACEに対する遺伝子特異的プライマーおよびベクタープライマーは、それぞれ、5' - GCC GAC GGG GAC GTG GAT GAA C - 3' (配列番号7)および5' - CAT GAT TAG GCC AAG CTC TAA TAC GAC TC - 3' (配列番号8)であった。3' 入れ子式RACEに対する遺伝子特異的プライマーおよびベクタープライマーは、それぞれ、5' - CTT CGC CGA GTG CCT GTG CAG - 3' (配列番号9)および5' - TCA CGA CGT TGT AAA ACG ACG GCC AGT G - 3' (配列番号9)であった。)残存試薬およびPCR反応プロトコールは、一次RACE反応に使用したものと同一であった。

【0307】

10 µlの入れ子式RACE由来の最終産物を、1% TBEアガロースゲルに5 V/cmで電気泳動した。十分に規定した単一バンドを、ゲルから単離し、そしてQiagenゲル抽出キット(カタログ番号28704)を使用して精製し、そして配列決定のために提示した。種々のRACE産物の配列を、新規のIL-17関連タンパク質の全コード領域を含むコンティグへ集合させた。

(訂正の理由1)

平成14年8月8日に提出致しました翻訳文について、全体に亘って誤訳がありましたので、適正な訳文を提出致します。

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Int'l. Application No. PCT/US 01/03916
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7	C12N15/19 G01N33/68	C07K14/52 A61K38/19
	C12N5/10 C12N15/62	C12N1/21 A61K31/70
	C07K16/24 C12Q1/68	
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) IPC 7 C12N C07K G01N A61K C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, SEQUENCE SEARCH, PAJ, WPI Data, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 60127 A (CHEN JIAN ;GENENTECH INC (US); LI HANZHONG (US); FILVAROFF ELLEN () 25 November 1999 (1999-11-25)	1-13, 15-25, 28-44, 46-48, 50,51, 60-63, 67-71, 74-79
A	* 97,8% identity in 978 nt overlap with sequence ID no.1 (197-1172:12-988) * examples figures 3,4 sequence ID no.4 claims	14,45, 49, 52-59, 64,65, 72,73
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 September 2001		Date of mailing of the international search report 19/09/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Le Cornec, N

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/US 01/03916

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 61617 A (HUMAN GENOME SCIENCES INC ;EBNER REINHARD (US); RUBEN STEVEN M (US) 2 December 1999 (1999-12-02) * 100% identity in 195 aa overlap with seq ID no.2 (33-227:3-197) * * 99,36% identity in 937 nt overlap with sequence ID no.1 (236-1172:37-973) * claims; figures 1,6A-B examples 22-26	1-13, 15-25, 28-44, 46-48, 50,51, 60-63, 67-71, 74-79
A		14,45, 49, 52-59, 64,65, 72,73
X	LI H ET AL: "Cloning and characterization of the iL-17B and iL-17C, two members of the iL-17 cytokine family" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, US, vol. 97, no. 2, 18 January 2000 (2000-01-18), pages 773-778, XP002139729 ISSN: 0027-8424 the whole document	1-11
P,X	WO 00 42187 A (SCHERING CORP) 20 July 2000 (2000-07-20)	1-11
P,A	* 97,75% identity in 978 nt overlap (197-1172:77-1054) * sequences ID no.4 and no.5	12-79
P,X	WO 00 20593 A (GLASEBROOK ANDREW L ;SU ERIC W (US); LILLY CO ELI (US); LIU LING () 13 April 2000 (2000-04-13)	1-11
P,A	* 100% identity in 195 aa overlap between sequences ID no.2 * * 99,8% identity in 588 nt overlap between sequences ID no.1 * Sequences ID no.1 and 2 claims	12-79

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US 01/03916

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 00 56889 A (STEWART TIMOTHY A ; DESNOYERS LUC (US); EATON DAN L (US); GENENTECH) 28 September 2000 (2000-09-28) * 98% identity in 978 nt overlap between sequences ID no.1 and sequence ID no.10 (fig.5) * claims; figure 5 page 13 -page 14 -----	1-11
P, A		12-79

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 34, 45-48, 49, 69 and 70 all partially

Claims 34, 45-48 and 49 have been searched in view of claim 35.

Claim 69-70 refer to an antagonist of iL-17 like polypeptide activity without giving a true technical characterization. Moreover, no such compounds are defined in the application. In consequence, the scope of said claim is ambiguous and vague, and its subject-matter is not sufficiently disclosed and supported.

No search can be carried out for such purely speculative claims whose wording is, in fact, a mere recitation of the results to be achieved.

But a partial search has been carried out as far as the antagonist relates to an antibody or an antisense oligonucleotide.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 01/03916

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9960127 A	25-11-1999	AU 3993799 A	06-12-1999
		EP 1076703 A2	21-02-2001
		WO 9946281 A2	16-09-1999
		WO 9960127 A2	25-11-1999
WO 9961617 A	02-12-1999	AU 4208799 A	13-12-1999
		EP 1082433 A1	14-03-2001
		US 6075319 A	13-06-2000
		WO 9961617 A1	02-12-1999
WO 0042187 A	20-07-2000	AU 3207000 A	01-08-2000
		WO 0042187 A1	20-07-2000
WO 0020593 A	13-04-2000	AU 6277799 A	26-04-2000
		WO 0020593 A1	13-04-2000
WO 0056889 A	28-09-2000	AU 3864800 A	09-10-2000
		WO 0056889 A2	28-09-2000
		AU 3514400 A	28-09-2000
		WO 0053758 A2	14-09-2000
		AU 5459900 A	18-12-2000
		AU 7573000 A	26-03-2001
		WO 0073348 A2	07-12-2000
		WO 0073452 A2	07-12-2000
		WO 0116318 A2	08-03-2001
		WO 0140465 A2	07-06-2001
WO 0140466 A2	07-06-2001		

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 K 48/00		A 6 1 P 29/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 25/00			1 0 1 4 C 0 8 6
29/00		37/06	4 H 0 4 5
	1 0 1	C 0 7 K 14/54	
37/06		16/24	
C 0 7 K 14/54		16/42	
16/24		16/46	
16/42		19/00	
16/46		C 1 2 N 1/15	
19/00		1/19	
C 1 2 N 1/15		1/21	
1/19		C 1 2 P 21/02	C
1/21		C 1 2 Q 1/02	
5/10		1/68	A
C 1 2 P 21/02		G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q 1/02		33/50	Z
1/68		33/53	D
G 0 1 N 33/15			M
33/50			P
33/53		33/566	
		C 1 2 P 21/08	
33/566		C 1 2 N 15/00	Z N A A
// C 1 2 P 21/08		5/00	A
		A 6 1 K 37/02	B

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

F ターム(参考) 2G045 AA40 DA12 DA13 DA14 DA36
FB02 FB03
4B024 AA01 AA11 BA41 BA56 BA61
CA04 CA11
4B063 QA01 QA18 QQ02 QQ08 QQ42
QQ52
4B064 AG03 AG26 AG27 CA02 CA05
CA10 CA11 CA19 DA01 DA13
4B065 AA01X AA57X AA87X AA93Y
AB01 BA01 BA08 CA23 CA24
CA25 CA44 CA46
4C084 AA06 AA07 AA13 AA17 BA01
BA22 CA62 DA12 ZA02 ZB02
ZB11 ZB15
4C086 AA01 EA16 MA01 MA02 MA04
MA05 NA14 ZA02 ZB02 ZB11
ZB15
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA09
BA41 BA54 CA40 DA02 DA75
DA76 EA20 EA50 FA72 FA73
FA74

专利名称(译)	IL-17样分子及其用途		
公开(公告)号	JP2003523745A	公开(公告)日	2003-08-12
申请号	JP2001558456	申请日	2001-02-07
[标]申请(专利权)人(译)	安姆根有限公司		
申请(专利权)人(译)	安进公司		
[标]发明人	ジングシュチアン バスマイケルビー		
发明人	ジング, シュチアン バス, マイケル ビー.		
IPC分类号	A01K67/027 A61K31/70 A61K31/7088 A61K38/00 A61K38/19 A61K45/00 A61K48/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/06 A61P43/00 C07K14/52 C07K14/54 C07K16/24 C07K16/42 C07K16/46 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N5/12 C12N15/09 C12N15/19 C12N15/24 C12N15/64 C12P21/02 C12P21/04 C12P21/08 C12Q1/02 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/566 G01N33/68		
CPC分类号	A01K2217/05 A61K38/00 A61P25/00 A61P29/00 C07K14/52 C07K2319/00 C12N2799/021		
FI分类号	A01K67/027 A61K31/7088 A61K45/00 A61K48/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P29/00.101 A61P37/06 C07K14/54 C07K16/24 C07K16/42 C07K16/46 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02. C C12Q1/02 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/53.P G01N33/566 C12P21/08 C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A C12N5/00.B A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA41 4B024/BA56 4B024/BA61 4B024/CA04 4B024/CA11 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B064/AG03 4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA05 4B064/CA10 4B064/CA11 4B064/CA19 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA87X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA01 4B065/BA08 4B065/CA23 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA22 4C084/CA62 4C084/DA12 4C084/ZA02 4C084/ZB02 4C084/ZB11 4C084/ZB15 4C086/AA01 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/MA05 4C086/NA14 4C086/ZA02 4C086/ZB02 4C086/ZB11 4C086/ZB15 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA09 4H045/BA41 4H045/BA54 4H045/CA40 4H045/DA02 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA73 4H045/FA74		
优先权	60/180864 2000-02-08 US 09/722990 2000-11-27 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了新颖的IL-17样多肽和编码新颖的IL-17样多肽的核酸分子。本发明还提供载体，宿主细胞，选择性结合剂和产生IL-17样多肽的方法。还提供了使用IL-17样多肽或其拮抗剂诊断，治疗或预防疾病的方法。本发明进一步是一种诊断试剂，其被可检测地标记，编码其片段，变体或同源物，包括SEQ ID NO：2所示的氨基酸序列或其等位基因和剪接变体。提供了包含多核苷酸的诊断试剂。

最初の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asu, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイミン	Leu
Leu	ノルロイミン, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4-ジフェニル誘導体, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイミン	Leu