

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4841038号
(P4841038)

(45) 発行日 平成23年12月21日 (2011.12.21)

(24) 登録日 平成23年10月14日 (2011.10.14)

(51) Int. Cl.

F I

C 1 2 N 15/02 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 Z N A C

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 U

A 6 1 P 1/04 (2006.01)

A 6 1 P 1/04

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 3/10

請求項の数 29 (全 272 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-606632 (P2000-606632)
 (86) (22) 出願日 平成12年3月24日 (2000.3.24)
 (65) 公表番号 特表2002-542770 (P2002-542770A)
 (43) 公表日 平成14年12月17日 (2002.12.17)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2000/007946
 (87) 国際公開番号 W02000/056772
 (87) 国際公開日 平成12年9月28日 (2000.9.28)
 審査請求日 平成18年8月10日 (2006.8.10)
 (31) 優先権主張番号 60/126,603
 (32) 優先日 平成11年3月25日 (1999.3.25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

前置審査

(73) 特許権者 502104228
 アボット ゲーエムペーハー ウント カ
 ンパニー カーゲー
 ドイツ連邦共和国 65205 ヴィース
 バーデン、マックス・プランク・リング
 2
 (74) 代理人 100062007
 弁理士 川口 義雄
 (74) 代理人 100103920
 弁理士 大崎 勝真
 (72) 発明者 ザルフエルト, ヨーヒエン・ゲー
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01
 536、ノース・グラフトン、オールド・
 ウェストボロウ・ロード・177

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト IL-12 に結合するヒト抗体およびその産生法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 23 のアミノ酸配列を含む重鎖可変部および配列番号 24 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 2】

I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g M、I g A、および I g E 定常部からなる群から選択される重鎖定常部を含む、請求項 1 に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 3】

前記抗体重鎖定常部が I g G 1 である、請求項 2 に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 4】

F a b フラグメントである、請求項 1 に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 5】

F (a b ')₂ フラグメントである、請求項 1 に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 6】

単鎖 F v フラグメントである、請求項 1 に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 7】

配列番号 31 のアミノ酸配列を含む重鎖可変部および配列番号 32 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

【請求項 8】

I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g M、I g A、および I g E 定常部からなる群から選択される重鎖定常部を含む、請求項 7 に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部位。

【請求項 9】

前記抗体重鎖定常部が I g G 1 である、請求項 8 に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部位。

【請求項 10】

F a b フラグメントである、請求項 7 に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部位。

【請求項 11】

F (a b ')₂ フラグメントである、請求項 7 に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部位。

【請求項 12】

単鎖 F v フラグメントである、請求項 7 に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部位。

【請求項 13】

請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部分および薬学的に受容可能なキャリアを含む薬学的組成物。

【請求項 14】

(a) 1 ~ 10 % のマンニトール、
(b) 0 ~ 0.05 % のポリソルベート - 80、
(c) 1 ~ 50 mM の L - メチオニン、および
(d) pH が 5.0 ~ 7.0 であって、1 ~ 50 mM の L - ヒスチジンを含む緩衝系を含む請求項 13 に記載の薬学的組成物。

【請求項 15】

(a) 2 ~ 4 % のマンニトール、
(b) 0.005 ~ 0.01 % のポリソルベート - 80、
(c) 5 ~ 10 mM の L - メチオニン、および
(d) pH が 5.0 ~ 7.0 であって、5 ~ 10 mM の L - ヒスチジンを含む緩衝系を含む請求項 14 に記載の薬学的組成物。

【請求項 16】

(a) 4 % のマンニトール、
(b) 0.01 % のポリソルベート - 80、
(c) 10 mM の L - メチオニン、および
(d) pH が 6 であって、10 mM の L - ヒスチジンを含む緩衝系を含む請求項 15 に記載の薬学的組成物。

【請求項 17】

抗体またはその抗原結合部分の濃度が 0.1 ~ 250 mg / ml である、請求項 13 ~ 16 のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項 18】

ヒト I L - 12 の p 40 サブユニットが検出されるように、I L - 12 のサブユニットと請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合部分とを接触させる工程を包含する、ヒト I L - 12 の p 40 サブユニットの検出法。

【請求項 19】

前記ヒト I L - 12 の p 40 サブユニットが i n v i t r o で検出される、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記ヒト I L - 12 のサブユニットが診断目的で生体サンプル中で検出される、請求項

10

20

30

40

50

19に記載の方法。

【請求項21】

障害の治療用の薬物製造における請求項1～12のいずれか1項に記載の抗体またはその抗原結合部分の使用であって、前記障害が、慢性関節リウマチ、変形性関節炎、若年型慢性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、強直性脊椎炎、全身性紅斑性狼瘡、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、多発性硬化症、インスリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、甲状腺炎、移植片対宿主疾患、臓器移植拒絶、臓器移植に関連する急性もしくは慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、血管内凝固症候群、川崎病、グレーブス病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、結節性多発性動脈炎、ヴェグナー肉芽腫症、ヘーノホ・シェーンライン紫斑病、腎臓の微視的脈管炎、慢性滑動性肝炎、シェーグレン症候群、ブドウ膜炎、敗血症、敗血症性ショック、敗血症症候群、成人呼吸窮迫症候群、悪液質、感染症、寄生虫症、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、重症筋無力症、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、アルツハイマー病、脳卒中、原発性胆汁性肝硬変、線維性肺疾患、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、および心筋梗塞からなる群から選択される前記使用。

10

【請求項22】

前記障害がクローン病である、請求項21に記載の使用。

【請求項23】

前記障害が多発性硬化症である、請求項21に記載の使用。

20

【請求項24】

前記障害が慢性関節リウマチである、請求項21に記載の使用。

【請求項25】

前記障害が乾癬である、請求項21に記載の使用。

【請求項26】

前記障害が乾癬性関節炎である、請求項21に記載の使用。

【請求項27】

a) 配列番号31のアミノ酸配列を含む可変部を有する抗体重鎖および

b) 配列番号32のアミノ酸配列を含む可変部を有する抗体軽鎖を含む、組換え発現ベクター。

30

【請求項28】

請求項27に記載の組換え発現ベクターが移入されている、宿主細胞。

【請求項29】

ヒトIL-12のp40サブユニットに結合するヒト抗体が細胞によって合成されるまで、培養培地中で請求項28に記載の宿主細胞を培養する工程を包含する、ヒトIL-12のp40サブユニットに結合するヒト抗体の合成法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の背景)

ヒトインターロイキン12(IL-12)は、固有の構造および多面発現効果を有するサイトカインとして最近特徴づけられた(Kobayashi, et al., 1989, J. Exp. Med., 170, 827~845; Seder, et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci., 90, 10188~10192; Ling, et al., 1995, J. Exp. Med., 154, 116~127; Podlaski, et al., 1992, Arch. Biochem. Biophys., 294, 230~237)。IL-12は、免疫および炎症応答に関与するいくつかの疾患に関連する病理学における重要な役割を果たす。IL-12、その生物活性、およびその疾患における役割の概要を、Gately, et al., 1998, Ann. Rev. Immunol., 16, 495~521に見出すことができる。

40

【0002】

50

構造的には、IL-12は、ジスルフィド結合によって互いに連結している35 kDaサブユニット(p35)および40 kDaサブユニットを含むヘテロ二量体タンパク質(p40)(「p70」サブユニットという)である。ヘテロ二量体タンパク質は、主に単球、マクロファージ、および樹状細胞などの抗原提示細胞によって産生される。これらの細胞型はまた、p70サブユニットに関連する過剰なp40サブユニットを分泌する。p40およびp35サブユニットは、一般に関連が無く、どちらも生物活性を有するにもかかわらず、p40ホモ二量体はIL-12アゴニストとして機能することができると報告されている。

【0003】

機能的には、IL-12は、抗原特異的Tヘルパー型(Th1)と2型(Th2)リンパ球との間の平衡調節における中心的役割を果たす。Th1およびTh2細胞は、自己免疫疾患の発症および進行を支配し、IL-12はTh₁-リンパ球分化および成熟の制御に重要である。Th1細胞によって放出されたサイトカインは炎症性であり、これにはインタフェロンγ(IFNγ)、IL-2、およびリンホトキシン(LT)が含まれる。Th2細胞は、ヒトの炎症、アレルギー反応、および免疫抑制を促進するIL-4、IL-5、IL-6、IL-10、およびIL-13を分泌する。

10

【0004】

自己免疫疾患およびIFNγの炎症促進活動におけるTh1応答と一致して、IL-12は、慢性関節リウマチ(RA)、多発性硬化症(MS)、およびクローン病などの多数の自己免疫疾患および炎症疾患に関連する病理の主要な役割を果たし得る。

20

【0005】

ヒトMS患者は、急性MSブランク中のp40 mRNAレベルによって報告されているIL-12発現の増加を示す。(Windhagen et al., 1995, J. Exp. Med., 182, 1985~1996)。さらに、MS患者由来のCD40L発現T細胞での抗原提示細胞のex vivo刺激により、コントロールT細胞と比較してIL-12産生が増加し、これは、CD40/CD40L相互作用がIL-12の潜在的なインデューサーであるという所見と一致する。

【0006】

健常コントロールと比較してRA患者の滑液でIL-12 p70レベルの上昇が検出された(Morita et al., 1998, Arthritis and Rheumatism, 41, 306~314)。RA滑液におけるサイトカインメッセンジャーリボ核酸(mRNA)発現プロファイルは、Th1サイトカインで優勢であると同定された。(Buchta et al., 1996, Clin. Exp. Immunol., 103, 347~367)。IL-12はまた、クローン病(CD)に関連する病理学に重要な役割を果たすようである。この疾患を罹患した患者の腸粘膜でIFNγおよびIL-12発現の増加が認められた(Fais et al., 1994, J. Interferon Res., 14, 235~238; Parronchi et al., 1997, Am. J. Path., 150, 823~832; Monteleone et al., 1997, Gastroenterology, 112, 1169~1178、およびBerrebi et al., 1998, Am. J. Path., 152, 667~672)。CD患者の固有層由来のT細胞のサイトカイン分泌プロファイルは、IFNγレベルの大きな上昇を含む優勢Th1応答の特徴を示している(Fuss, et al., 1996, J. Immunol., 157, 1261~1270)。さらに、CD患者由来の結腸組織分泌は豊富なIL-12発現マクロファージおよびIFNγ発現T細胞を示す(Parronchi et al., 1997, Am. J. Path., 150, 823~832)。

30

40

【0007】

種々のヒト障害におけるヒトIL-12の役割によって、IL-12活性を阻害または反作用するように治療戦略が設計されている。特に、IL-12に結合して中和する抗体は、IL-12活性を阻害する手段と考えられている。いくつかの最も初期の抗体

50

は、IL - 12で免疫化されたマウスリンパ球から調製されたハイブリドーマによって分泌されたマウスモノクローナル抗体 (mAb) であった (例えば、Strober et al.、による特許出願公開番号WO97/15327; Neurath et al.、1995、J. Exp. Med.、182、1281~1290; Duchmann et al.、1996、J. Immunol.、26、934~938を参照のこと)。これらのマウスIL - 12抗体は、ヒトへのマウス抗体の投与に関する問題 (血清半減期が短いこと、一定のヒトエフェクター機能を惹起できないこと、およびヒトにおけるマウス抗体に対する望ましくない免疫応答の惹起 (「ヒト抗マウス抗体」 (HAMA) 反応) など) のために in vivo 使用には限りがある。

【0008】

一般に、ヒトにおける完全なマウス抗体の使用に関する問題を克服する試みには、より「ヒトに類似した」抗体の操作が含まれている。例えば、抗体鎖の可変部がマウス由来であり、且つ抗体鎖の定常部がヒト由来であるキメラ抗体が調製されている (Jung et al.、1990、Cancer Res.、50、1495~1502、Brown et al.、1991、Proc. Natl. Acad. Sci.、88、2663~2667; Kettleborough et al.、1991、Protein Engineering、4、773~783)。しかし、これらのキメラおよびヒト化抗体は依然としていくつかのマウス配列を保持しているので、特に長期間投与した場合、これらは依然として望ましくない免疫反応 (ヒト抗キメラ抗体 (HACA) 反応) を惹起し得る。

【0009】

マウス抗体またはその誘導体 (例えば、キメラまたはヒト化抗体) に対する好ましいIL - 12阻害剤は、長期間使用してもHAMA反応を惹起するはずが無いので、完全にヒト抗IL - 12抗体であろう。しかし、このような抗体は当該分野で記載されていないので、依然として必要とされている。

【0010】

(発明の開示)

本発明は、ヒトIL - 12に結合するヒト抗体を提供する。本発明はまた、本発明のヒト抗IL - 12抗体を用いた、その病理学がIL - 12に関連する急性または慢性疾患の治療または予防に関する。

【0011】

1つの態様では、本発明は、ヒトIL - 12に結合する単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【0012】

1つの実施形態では、本発明は、ヒトIL - 12に結合するように、好ましい選択的変異位置、接触位置、または過剰変異位置において活性を向上させるアミノ酸残基により選択的に変異させたヒト抗体またはその抗体結合部分を含む、選択的変異ヒトIL - 12抗体を提供する。

【0013】

好ましい実施形態では、本発明は、ヒトIL - 12に結合するように、好ましい選択的変異位置において活性を向上させるアミノ酸残基により選択的に変異させたヒト抗体またはその抗体結合部分を含む、選択的変異ヒトIL - 12抗体を提供する。

【0014】

別の好ましい実施形態では、選択的変異ヒト抗体またはその抗原結合部分は、1つを超える好ましい選択的変異位置、接触位置、または過剰変異位置においてで活性を向上させるアミノ酸残基により選択的に変異されている。別の好ましい実施形態では、選択的変異ヒト抗体またはその抗原結合部分は、3箇所以下の好ましい選択的変異位置、接触位置、または過剰変異位置において選択的に変異されている。別の好ましい実施形態では、選択的変異ヒト抗体またはその抗原結合部分は2箇所以下の好ましい選択的変異、接触位置、または過剰変異位置で選択的に変異されている。さらに別の好ましい実施形態では、選択的

変異ヒト抗体またはその抗原結合部分は、ファージディスプレイ技術を用いて同一の抗原に対して抗体を選択した場合に、達成可能なレベルを超えるような、目標特異性親和性レベルを達成するように選択的に変異され、別の好ましい実施形態では、選択的変異ヒト抗体は、少なくとも1つの所望の特性または特徴（例えば、他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の保存、エピトープ認識、生殖系列免疫グロブリン配列に隣接する抗体の産生）をさらに保持している。

【0015】

他の実施形態では、本発明は、ヒトIL-12に結合し、表面プラスモン共鳴で測定すると 0.1 s^{-1} 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*フィトヘマグルチニン芽細胞増殖アッセイ（*phytohemagglutinin blast proliferation assay*）（PHAアッセイ）において $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。より好ましくは、 $1 \times 10^{-2}\text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-7}\text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。より好ましくは、 $1 \times 10^{-3}\text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-8}\text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。より好ましくは、 $1 \times 10^{-4}\text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-9}\text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。より好ましくは、 $1 \times 10^{-5}\text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-10}\text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。さらに好ましくは、 $1 \times 10^{-5}\text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-11}\text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

【0016】

別の実施形態では、本発明は以下の特徴：

- a) *in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
- b) 配列番号1のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3を有し、
- c) 配列番号2のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【0017】

好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2および配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号5のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1および配列番号6のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖可変部および配列番号8のアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有する。

【0018】

別の実施形態では、本発明は、以下の特徴：

- a) *in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-9}\text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
- b) 配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3を有し、
- c) 配列番号10のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【0019】

10

20

30

40

50

好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR2 および配列番号 12 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR2 を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR1 および配列番号 14 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR1 を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む重鎖可変部および配列番号 16 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有する。

【0020】

別の実施形態では、本発明は、a) *in vitro* PHA アッセイにおいて 1×10^{-9} M 以下の IC₅₀ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
b) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR3 を有し、
c) 配列番号 18 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR3 を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

10

【0021】

好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR2 および配列番号 20 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR2 を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR1 および配列番号 22 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR1 を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む重鎖可変部および配列番号 24 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、Kabat et al. (Kabat, E. A. et al., 1991, 「免疫学上目的のタンパク質配列」、第 5 版、米国保健福祉省、NIH 発行番号 91-3242) (本明細書中で参考として援用される) で考察されているように、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、および IgE 定常部またはその任意の対立遺伝子変異体からなる群から選択される重鎖定常部を含む。より好ましい実施形態では、抗体重鎖定常部は IgG1 である。別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体は Fab フラグメント、F(ab')₂ フラグメント、または短鎖 Fv フラグメントである。

20

【0022】

別の実施形態では、本発明は、a) *in vitro* PHA アッセイにおいて 1×10^{-9} M 以下の IC₅₀ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
b) 配列番号 404 ~ 配列番号 469 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 CDR3 を有し、
c) 配列番号 534 ~ 配列番号 579 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR3 を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

30

【0023】

好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 335 ~ 配列番号 403 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 CDR2 および配列番号 506 ~ 配列番号 533 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR2 を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 288 ~ 配列番号 334 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖 CDR1 および配列番号 470 ~ 配列番号 505 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR1 を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む重鎖可変部および配列番号 24 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、上記のように重鎖定常部、Fab フラグメント、F(ab')₂ フラグメント、または短鎖 Fv フラグメントを含む。

40

【0024】

別の実施形態では、本発明は、a) *in vitro* PHA アッセイにおいて 1×10^{-9} M 以下の IC₅₀ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、

50

- b) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 を有し、
 c) 配列番号 26 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【0025】

好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 および配列番号 28 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 および配列番号 30 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む重鎖可変部および配列番号 32 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有する。好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、上記のように重鎖定常部、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、または短鎖 F v フラグメントを含む。

10

【0026】

別の実施形態では、本発明は、a) *in vitro* P H A アッセイにおいて 1×10^{-6} M 以下の $I C_{50}$ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
 b) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2、および配列番号 5 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1、または接触位置または過剰変異位置に 1 つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号 1 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2、および配列番号 5 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 を含む抗体より 10 倍以下高い k_{off} 速度を有し、
 c) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2、および配列番号 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1、または接触位置または過剰変異位置で 1 つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 4、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2、および配列番号 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 を含む抗体より 10 倍以下高い k_{off} 速度を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

20

【0027】

別の実施形態では、本発明は、a) *in vitro* P H A アッセイにおいて 1×10^{-9} M 以下の $I C_{50}$ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
 b) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2、および配列番号 13 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1、または接触位置または過剰変異位置で 1 つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号 9 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2、および配列番号 13 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 を含む抗体より 10 倍以下高い k_{off} 速度を有し、
 c) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2、および配列番号 14 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1、または好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置で 1 つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号 10 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2、および配列番号 14 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 を含む抗体より 10 倍以下高い k_{off} 速度を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

30

40

【0028】

別の実施形態では、本発明は、a) *in vitro* P H A アッセイにおいて 1×10^{-9} M 以下の $I C_{50}$ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
 b) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2、および配列番号 21 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1、または好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置で 1 つまたは複数のアミノ酸置換を

50

有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号 17 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR3、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR2、および配列番号 21 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR1 を含む抗体より 10 倍以下高い k_{off} 速度を有し、

c) 配列番号 18 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR3、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR2、および配列番号 22 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置で 1 つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号 18 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR4、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR2、および配列番号 22 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR1 を含む抗体より 10 倍以下高い k_{off} 速度を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

10

【0029】

本発明はまた、本発明の抗体またはその抗原結合部分をコードする核酸分子を提供する。好ましい単離核酸は、配列番号 17 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR3 をコードする。抗体重鎖可変部をコードする単離核酸。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変部の CDR2 をコードする。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 21 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変部の CDR1 をコードする。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変部をコードする。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 18 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR3 をコードする。抗体軽鎖可変部をコードする単離核酸。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 20 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変部の CDR2 をコードする。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 22 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変部の CDR1 をコードする。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変部をコードする。

20

【0030】

別の実施形態では、本発明は、a) *in vitro* PHA アッセイにおいて 1×10^{-9} M 以下の IC₅₀ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、

b) 配列番号 25 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR3、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR2、および配列番号 29 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置で 1 つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号 25 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR3、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR2、および配列番号 29 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR1 を含む抗体より 10 倍以下高い k_{off} 速度を有し、

30

c) 配列番号 26 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR3、配列番号 28 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR2、および配列番号 30 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置で 1 つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号 26 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR3、配列番号 28 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR2、および配列番号 30 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR1 を含む抗体より 10 倍以下高い k_{off} 速度を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【0031】

40

好ましい単離核酸は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む重鎖 CDR3 をコードする。抗体重鎖可変部をコードする単離核酸。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変部の CDR2 をコードする。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変部の CDR1 をコードする。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変部をコードする。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 26 のアミノ酸配列を含む軽鎖 CDR3 をコードする。抗体軽鎖可変部をコードする単離核酸。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 28 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変部の CDR2 をコードする。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変部の CDR1 をコードする。別の実施形態では、単離核酸は、配列番号 32 のアミノ酸配列を含む抗体軽鎖可変部

50

をコードする。

【 0 0 3 2 】

別の態様では、本発明は、以下の特徴：

a) ヒト I L - 1 2 に結合し、表面プラスモン共鳴で測定すると 0.1 s^{-1} の k_{off} 速度定数でヒト I L - 1 2 から解離するか、*in vitro* フィットヘマグルチニン芽細胞増殖アッセイ (P H A アッセイ) において $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィットヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、

b) V_H 3 生殖系列ファミリーメンバーから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変部を有し、前記重鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基による変異を有し、

c) V_L 1 生殖系列ファミリーメンバーから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有し、前記軽鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基による変異を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【 0 0 3 3 】

別の実施形態では、本発明は、以下の特徴：

a) ヒト I L - 1 2 に結合し、表面プラスモン共鳴で測定すると 0.1 s^{-1} 以下の k_{off} 速度定数でヒト I L - 1 2 から解離するか、*in vitro* フィットヘマグルチニン芽細胞増殖アッセイ (P H A アッセイ) において $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィットヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、

b) 配列番号 5 9 5 ~ 6 6 7 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変部を有し、前記重鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基による変異を有し、

c) 配列番号 6 6 9 ~ 6 7 5 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有し、前記軽鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基による変異を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【 0 0 3 4 】

別の実施形態では、本発明は、以下の特徴：

a) ヒト I L - 1 2 に結合し、表面プラスモン共鳴で測定すると 0.1 s^{-1} 以下の k_{off} 速度定数でヒト I L - 1 2 から解離するか、*in vitro* フィットヘマグルチニン芽細胞増殖アッセイ (P H A アッセイ) において $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィットヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、

b) C O S - 3 生殖系列アミノ酸配列を含む重鎖可変部を有し、前記重鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基による変異を有し、

c) D P L 8 生殖系列アミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有し、前記軽鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基による変異を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【 0 0 3 5 】

別の実施形態では、本発明は、以下の特徴：

a) ヒト I L - 1 2 に結合し、表面プラスモン共鳴で測定すると 0.1 s^{-1} 以下の k_{off} 速度定数でヒト I L - 1 2 から解離するか、*in vitro* フィットヘマグルチニン芽細胞増殖アッセイ (P H A アッセイ) において $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィットヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、

b) V_H 3 生殖系列ファミリーメンバーから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変部を有し、前記重鎖可変部は他の V_H 3 生殖系列ファミリーメンバー由来の C D R 2 に構造的に類似した C D R 2 および他の V_H 3 生殖系列ファミリーメンバー由来の C D R 1 に構造的に類似した C D R 1 を含み、前記重鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基による変異を有し、

c) V_{λ} 1 生殖系列ファミリーメンバーから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有し、前記軽鎖可変部は他の V_{λ} 1 生殖系列ファミリーメンバー由来の C D R 2 に構造的に類似した C D R 2 および他の V_{λ} 1 生殖系列ファミリーメンバー由来の C D R 1 に構造的に類似した C D R 1 を含み、前記軽鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基による変異を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【 0 0 3 6 】

好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、重鎖 C D R 3 中に変異を有する。別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、軽鎖 C D R 3 中に変異を有する。別の実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、重鎖 C D R 2 中に変異を有する。別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、軽鎖 C D R 2 中に変異を有する。別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、重鎖 C D R 1 中に変異を有する。別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、軽鎖 C D R 1 中に変異を有する。

【 0 0 3 7 】

別の態様では、本発明は、本発明の抗体コード核酸を保有する組換え発現ベクターを提供し、本発明の宿主細胞の培養による本発明の抗体の作製法と同様に、このようなベクターが移入された宿主細胞もまた本発明の範囲内である。

【 0 0 3 8 】

別の態様では、本発明は、ヒト I L - 1 2 ならびにヒヒ I L - 1 2、マーモセット I L - 1 2、チンパンジー I L - 1 2、カニクイザル I L - 1 2、およびアカゲザル I L - 1 2 からなる群から選択される少なくとも 1 つのさらなる霊長類 I L - 1 2 の活性を中和するがマウス I L - 1 2 の活性を中和しない、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【 0 0 3 9 】

別の態様では、本発明は、本発明の抗体またはその抗原結合部分および薬学的に受容可能なキャリアを含む薬学的組成物を提供する。

【 0 0 4 0 】

別の態様では、本発明は、抗体またはその抗原結合部分およびさらなる薬剤（例えば、治療薬）を含む組成物を提供する。

【 0 0 4 1 】

別の態様では、本発明は、ヒト I L - 1 2 活性を阻害するようにヒト I L - 1 2 と本発明の抗体（例えば、J 6 9 5）とを接触させる工程を包含する、ヒト I L - 1 2 活性の阻害法を提供する。

【 0 0 4 2 】

別の態様では、本発明は、ヒト対象におけるヒト I L - 1 2 活性が阻害されるようにヒト被験体に本発明の抗体（例えば、J 6 9 5）を投与する工程を包含する、I L - 1 2 活性が有害な障害を有するヒト対象におけるヒト I L - 1 2 活性の阻害法を提供する。障害は、例えば、クローン病、多発性硬化症、または慢性関節リウマチであり得る。

【 0 0 4 3 】

別の態様では、本発明は、a) 親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、
b) H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 5 3、H 5 6、H 5 8、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 5 0、L 9 1、L 9 2、L 9 3、および L 9 4 からなる群から選択される好ましい選択的変異誘発位置を選択する工程と、
c) 前記選択された好ましい選択的変異位置を少なくとも 2 つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異することによって変異抗体またはその抗原結合物の第 1 のパネルを作製する工程と、
d) 1 つの選択的変異位置の変異により予め同定した目標活性または部分的標的活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるかどうかを決定するために、前記変異抗体またはその抗原結合部分の第 1 のパネルの活性を評価する工程と、

e) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性を有することを示す各変異を段階的に組み合わせて、組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

f) 前記組み合わせ抗体またはその抗原結合部分が予め同定した目標活性または部分的標的活性を有するかどうかを決定するために、前記組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性を評価する工程と、

g) 工程 d) または工程 f) で予め同定した目標活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られないか部分的活性のみを有する抗体が得られる場合、H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30A、およびL96からなる群から選択されるさらなるアミノ酸残基を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にさらに変異して、変異抗体またはその抗原結合部分の第2のパネルを作製する工程をさらに包含し、

h) H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30A、およびL96からなる群から選択される1つのアミノ酸残基の変異により予め同定した目標活性またはその部分的活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるかどうかを決定するために、前記変異抗体またはその抗原結合部分の第2のパネルの活性を評価する工程と、

i) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性を有することを示す工程 g) の各変異を段階的に組み合わせて、組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

j) 前記組み合わせ抗体またはその抗原結合部分が予め同定した目標活性または部分的標的活性を有するかどうかを決定するために、前記組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性を評価する工程と、

k) 工程 h) または工程 j) で予め同定した目標活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られないか部分的活性のみを有する抗体が得られる場合、前記方法はH33B、H52B、およびL31Aからなる群から選択されるさらなるアミノ酸残基を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にさらに変異することによって変異抗体またはその抗原結合部分の第3のパネルを作製する工程をさらに包含し、

l) H33B、H52B、およびL31Aからなる群から選択される1つのアミノ酸残基の変異により予め同定した目標活性またはその部分的活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるかどうかを決定するために、前記変異抗体またはその抗原結合部分の第3のパネルの活性を評価する工程と、

m) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性を有することを示す工程 k) の各変異を段階的に組み合わせて、組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

n) 前記組み合わせ抗体またはその抗原結合部分が予め同定した目標活性または部分的標的活性を有することによって予め同定した目標活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるかどうかを決定するために、前記組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性を評価する工程とを包含する、予め同定した目標活性を達成するための抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を特徴とする。

【0044】

別の態様では、本発明は、a) 親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b) 変異のために、相補性決定領域(CDR)内で好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置を選択することによって選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置を同定する工程と、

c) 前記好ましい選択的変異誘発位置または接触位置または過剰変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製する工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価する工程と、

e) 少なくとも1つの接触位置または過剰変異位置について工程 b) ~ d) を繰り返す工程と、

10

20

30

40

50

f) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性を有することを示す各変異を組み合わせて、組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

g) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0045】

1つの実施形態では、本発明は、a) ファージディスプレイ系での選択によって得られたがその活性を前記ファージディスプレイ系における変異誘発によってさらに改良することができない組換え親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b) 変異のために、相補性決定領域(CDR)内で好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置を選択することによって選択された接触位置または過剰変異位置を同定する工程と、

c) 前記好ましい選択的変異誘発位置または接触位置または過剰変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製し、前記非ファージディスプレイ系におけるパネルを発現させる工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価する工程と、

e) 少なくとも1つの他の接触位置または過剰変異位置について工程b)～d)を繰り返す工程と、

f) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性を有することを示す各変異を組み合わせて、組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

g) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0046】

好ましい実施形態では、接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、およびL96からなる群から選択される。別の好ましい実施形態では、過剰変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、およびL93からなる群から選択される。より好ましい実施形態では、選択的変異誘発位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、およびL94からなる群から選択される。より好ましい実施形態では、接触位置は、L50およびL94からなる群から選択される。

【0047】

別の実施形態では、本発明は、a) 組換え親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b) 変異のために、相補性決定領域(CDR)内で好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置を選択することによって選択された接触位置または過剰変異位置を同定する工程と、

c) 前記好ましい選択的変異誘発位置または接触位置または過剰変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製し、前記適切な発現系におけるパネルを発現させる工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と、

e) 親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性および少なくとも1つの保

10

20

30

40

50

持された特性または特徴を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、少なくとも1つの他の特性または特徴について親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分を評価する工程とを包含し、前記特性または特徴は抗体中での維持されなければならないものである、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0048】

好ましい実施形態では、接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、およびL96からなる群から選択され、他の特性または特徴は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2)エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3)生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。別の好ましい実施形態では、過剰変異位置が、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、およびL93からなる群から選択され、他の特性または特徴は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2)エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3)生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。より好ましい実施形態では、選択的変異誘発についての残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、およびL94からなる群から選択され、他の特性または特徴は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2)エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3)生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。

【0049】

別の実施形態では、本発明は、a)ファージディスプレイ系での選択によって得られたがその活性を前記ファージディスプレイ系における変異誘発によってさらに改良することができない親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b)変異のために、相補性決定領域(CDR)内で好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置を選択することによって選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置を同定する工程と、

c)前記選択された好ましい変異誘発位置または接触位置または過剰変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製し、前記非ファージディスプレイ系におけるパネルを発現させる工程と、

d)前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と、

e)親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性および少なくとも1つの保持された特性または特徴を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、少なくとも1つの他の特性または特徴について親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異

10

20

30

40

50

抗体またはその抗原結合部分を評価する工程であって、前記特性または特徴は維持されなければならないものである、

f) 少なくとも1つの他の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置について工程a) ~ e) を繰り返す工程と、

g) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性および少なくとも1つの保持された特性または特徴を有することを示す少なくとも2つの各活性を向上させるアミノ酸残基を組み合わせ、組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

h) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性および少なくとも1つの保持された特性または特徴を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

10

【0050】

好ましい実施形態では、接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、およびL96からなる群から選択され、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。別の好ましい実施形態では、過剰変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、およびL93からなる群から選択され、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。より好ましい実施形態では、選択的変異誘発の残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、およびL94からなる群から選択され、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。

20

30

【0051】

別の実施形態では、本発明は、a) ファージディスプレイ系での選択によって得られたがその活性を前記ファージディスプレイ系における変異誘発によってさらに改良することができない組換え親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b) 変異のために、相補性決定領域(CDR)内で接触または過剰変異位置を選択することによって選択した接触位置または過剰変異位置を同定する工程と、

c) 前記接触または過剰変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製し、前記非ファージディスプレイ系におけるパネルを発現させる工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と

40

50

、
e) 親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性および少なくとも1つの保持された特性または特徴を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、少なくとも1つの他の特性または特徴について親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分を評価する工程とを包含し、前記特性または特徴は維持されなければならないものである、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0052】

好ましい実施形態では、接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、
L55、L91、L92、L93、L94、およびL96からなる群から選択され、他の
特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、およ
び/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群
から選択される。別の好ましい実施形態では、過剰変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、およびL93
からなる群から選択され、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40
由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エ
ピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列
を有する抗体の産生からなる群から選択される。より好ましい実施形態では、選択的変異
誘発の残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、
L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、およびL94からなる群か
ら選択され、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反
応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干
渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エ
ピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列
を有する抗体の産生からなる群から選択される。

【0053】

別の実施形態では、本発明は、a) ファージディスプレイ系での選択によって得られたが
その活性を前記ファージディスプレイ系における変異誘発によってさらに改良することが
できない組換え親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b) 相補性決定領域(CDR)内で好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変
異位置を変異について選択することによって選択された好ましい選択的変異誘発位置、接
触位置または過剰変異位置を同定する工程と、

c) 前記選択された好ましい変異誘発位置または接触位置または過剰変異位置を少なく
とも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結
合部分のパネルを作製し、前記非ファージディスプレイ系におけるパネルを発現させる工
程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部
分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と

、
e) 親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性および少なくとも1つの保
持された特性または特徴を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、少なくと

10

20

30

40

50

も1つの他の特性または特徴について親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分を評価する工程であって、前記特性または特徴は維持されなければならないものである、

f) 少なくとも1つの他の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置について工程a) ~ e) を繰り返す工程と、

g) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性および少なくとも1つの保持された特性または特徴を有することを示す少なくとも2つの各活性を向上させるアミノ酸残基を組み合わせ、組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

h) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性および少なくとも1つの保持された特性または特徴を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0054】

好ましい実施形態では、接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、およびL96からなる群から選択され、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。別の好ましい実施形態では、過剰変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53、およびL93からなる群から選択され、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。より好ましい実施形態では、選択的変異誘発の残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、およびL94からなる群から選択され、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。

【0055】

別の実施形態では、本発明は、a) 親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b) 変異のために、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、およびL96以外の位置で相補性決定領域(CDR)内でアミノ酸残基を選択する工程と、

c) 前記選択位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製する工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分

10

20

30

40

50

のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と、

e) 親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、少なくとも1つの他の特性または特徴の変化について親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0056】

好ましくは、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性 p 40 由来の結合干渉を防止する P 70 p 40 / p 35 ヘテロ二量体との関連における p 40 エピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。

【0057】

別の実施形態では、本発明は、a) 親親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、b) 変異のために、H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4、および L 9 6 以外の位置で相補性決定領域(CDR)内でアミノ酸残基を選択する工程と、

c) 前記選択位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製する工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と、

e) 工程 b) で選択された位置でも H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4、および L 9 6 での位置でもない CDR 内の少なくとも1つの他の位置について工程 b) ~ 工程 d) を繰り返す工程と、

f) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性を有することを示す少なくとも2つの各活性を向上させるアミノ酸残基を組み合わせて、組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

g) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して、活性を向上させるアミノ酸残基を有する組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0058】

別の実施形態では、本発明は、a) ファージディスプレイ系での選択によって得られたがその活性を前記ファージディスプレイ系における変異誘発によってさらに改良することができない組換え抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b) 変異のために、H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、および L 9 4 以外の位置で相補性決定領域(CDR)内でアミノ酸残基を選択する工程と、

c) 前記選択した接触または過剰変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製し、前記非ファージディスプレイ系におけるパネルを発現させる工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と

10

20

30

40

50

、
e) 親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、少なくとも1つの他の特性または特徴の変化について親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0059】

好ましくは、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性 p 4 0 由来の結合干渉を防止する P 7 0 p 4 0 / p 3 5 ヘテロ二量体との関連における p 4 0 エピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。

10

【0060】

別の実施形態では、本発明は、a) ファージディスプレイ系での選択によって得られたがその活性を前記ファージディスプレイ系における変異誘発によってさらに改良することができない親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b) 変異のために、H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4、および L 9 6 以外の位置で相補性決定領域(CDR)内でアミノ酸残基を選択する工程と、

20

c) 前記選択位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製し、非ファージディスプレイ系で発現させる工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と、

e) 工程 b) で選択された位置でも H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、および L 9 4 での位置でもない CDR 内の少なくとも1つの他の位置について工程 b) ~ 工程 d) を繰り返す工程と、

30

f) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性を有することを示す少なくとも2つの各活性を向上させるアミノ酸残基を組み合わせ、組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

g) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、前記組換え抗体またはその抗原結合部分と比較して、2つの活性を向上させるアミノ酸残基を有する組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性および他の特性または特徴を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0061】

40

好ましくは、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性 p 4 0 由来の結合干渉を防止する P 7 0 p 4 0 / p 3 5 ヘテロ二量体との関連における p 4 0 エピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。

【0062】

別の実施形態では、本発明は、a) 親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b) H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3

50

、L 9 4、およびL 9 6以外の位置で相補性決定領域（C D R）内でアミノ酸残基を変異について選択する工程と、

c）前記選択位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製する工程と、

d）前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と、

e）少なくとも1つの他の特性または特徴の変化について親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分を評価する工程と、

f）工程b）で選択された位置でもH 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4、およびL 9 6での位置でもない少なくとも1つのC D R位置について工程b）～工程e）を繰り返す工程と、

g）前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性を有することを示すが少なくとも1つの特性または特徴に影響を与えない少なくとも2つの各活性を向上させるアミノ酸残基を組み合わせて、少なくとも1つの特性または特徴を保持した組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

h）前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性および少なくとも1つの保持された特性または特徴を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して、2つの活性を向上させるアミノ酸残基を有する組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性および少なくとも1つの特性または特徴を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0063】

別の実施形態では、本発明は、a）ファージディスプレイ系での選択によって得られたがその活性を前記ファージディスプレイ系における変異誘発によってさらに改良することができない親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b）変異のために、H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4、およびL 9 6以外の位置で相補性決定領域（C D R）内でアミノ酸残基を選択する工程と、

c）前記選択位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製し、非ファージディスプレイ系で発現させる工程と、

d）前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と、

e）親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、少なくとも1つの他の特性または特徴の変化について親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを評価する工程とを包含する、他の特性に影響を与えない抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0064】

別の実施形態では、本発明は、a）親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b）変異のために、H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4、およびL 9 6以外の位置で相補性決定領域（C D R）内でアミノ酸残基を選択する工程と、

c) 前記選択位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製する工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と、

e) 少なくとも1つの他の特性または特徴の変化について、前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを評価する工程と、

f) 工程b) で選択された位置でもH30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、およびL96での位置でもない少なくとも1つの他のCDR位置について工程b) ~ 工程d) を繰り返す工程と、

g) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性を有することを示すが少なくとも1つの他の特性または特徴に影響を与えない少なくとも2つの各活性を向上させるアミノ酸残基を組み合わせ、少なくとも1つの保持された特性または特徴を有する組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

h) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性および少なくとも1つの他の保持された特性または特徴を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、前記組換え抗体またはその抗原結合部分と比較して、活性を向上させる2つのアミノ酸残基を有する組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性および少なくとも1つの他の特性または特徴の保持を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0065】

好ましくは、他の特性または特徴は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2) エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3) 生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。

【0066】

別の実施形態では、本発明は、a) 親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、b) 変異のために、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、およびL96以外の位置で相補性決定領域(CDR)内でアミノ酸残基を選択する工程と、

c) 前記選択位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製する工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と、

e) 親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、少なくとも1つの他の特性または特徴の変化について親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを評価する工程とを包含する、他の特徴に影響を与えない抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0067】

別の実施形態では、本発明は、a) ファージディスプレイ系での選択によって得られたがその活性を前記ファージディスプレイ系における変異誘発によってさらに改良することができない親抗体またはその抗原結合部分を得る工程と、

b) 変異のために、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H5

10

20

30

40

50

2、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94、およびL96以外の位置で相補性決定領域(CDR)内でアミノ酸残基を選択する工程と、

c) 前記選択位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基にそれぞれ変異させることによって変異抗体またはその抗原結合部分のパネルを作製し、非ファージディスプレイ系で発現させる工程と、

d) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して前記変異抗体またはその抗原結合部分のパネルの活性および少なくとも1つの他の特性または特徴の保持を評価することによって活性を向上させるアミノ酸残基を同定する工程と、

e) 工程b)で選択された位置でもH30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、およびL94での位置でもない少なくとも1つの他のCDR位置について工程b)～工程d)を繰り返す工程と、

f) 前記親抗体またはその抗原結合部分中に改良された活性を有することを示し、且つ少なくとも1つの他の特性または特徴に影響を与えない少なくとも2つの各活性を向上させるアミノ酸残基を組み合わせ、組み合わせ抗体またはその抗原結合部分を形成させる工程と、

g) 前記親抗体またはその抗原結合部分と比較して改良された活性および少なくとも1つの他の保持された特性または特徴を有する抗体またはその抗原結合部分を得られるまで、前記組換え抗体またはその抗原結合部分と比較して、活性を向上させる2つのアミノ酸残基を有する組み合わせ抗体またはその抗原結合部分の活性および少なくとも1つの他の特性または特徴の保持を評価する工程とを包含する、抗体またはその抗原結合部分の活性の改良法を提供する。

【0068】

好ましくは、他の特性または特徴は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非相互反応性の保存、2)エピトープ認識(すなわち、好ましくは遊離の可溶性p40由来の結合干渉を防止するP70p40/p35ヘテロ二量体との関連におけるp40エピトープの認識)の保存、および/または3)生殖系列免疫グロブリン配列に密接な配列を有する抗体の産生からなる群から選択される。

【0069】

(図面の簡単な説明)

図1A～図1Bは生殖系列配列Cos-3/JH3およびDp118Lv1042と比較した、ヒトIL-12に結合する一連のヒト抗体の重鎖可変部アミノ酸アラインメントを示す図である。カバットナンバリングを使用して、アミノ酸位置を同定する。Joe9野生型については、全配列を示す。他の抗体については、Joe9野生型と異なるアミノ酸位置のみを示す。

【0070】

図1C～図1DはヒトIL-12に結合する一連のヒト抗体の軽鎖可変部アミノ酸アラインメントを示す図である。カバットナンバリングを使用して、アミノ酸位置を同定する。Joe9野生型については、全配列を示す。他の抗体については、Joe9野生型と異なるアミノ酸位置のみを示す。

【0071】

図2A～図2Eは部位特異的変異誘発および各位置での各アミノ酸置換によって変異されたY61抗体の重鎖におけるCDR位置を示す図である。図の右側のグラフは、変異Y61(白抜きのバー)と比較した置換抗体(黒塗りのバー)についてのoff-速度を示す。

【0072】

図2F～図2Hは部位特異的変異誘発および各位置での各アミノ酸置換によって変異され

10

20

30

40

50

た Y 6 1 抗体の軽鎖における C D R 位置を示す図である。図の右側のグラフは、変異 Y 6 1 (白抜きのバー)と比較した置換抗体(黒塗りのバー)についての o f f - 速度を示す。

【 0 0 7 3 】

図 3 はカニクイザルにおける血漿ネオプテリンに対するヒト抗 I L - 1 2 抗体 J 6 9 5 の i n v i v o での効果を示す図である。

【 0 0 7 4 】

図 4 はコラーゲンでのマウスの免疫化後に対する平均関節炎スコアのグラフを示す図であり、これは、C 1 7 . 1 5 での治療によりラット I g G での治療と比較して関節炎関連症状が有意に減少することを示す。

【 0 0 7 5 】

(発明の詳細な説明)

本発明をより容易に理解するために、最初に一定の用語を定義する。

【 0 0 7 6 】

用語「活性を向上させるアミノ酸残基」には、抗体の活性を改良するアミノ酸残基が含まれる。活性を向上させるアミノ酸残基は、接触位置、過剰変異位置、または好ましい選択的変異誘発位置においてアミノ酸残基と置換することができ、さらに、1つまたは複数の C D R 内に1つを超える活性を向上させるアミノ酸残基が存在することができることを理解すべきである。活性を向上させるアミノ酸残基には、抗体(例えば、ヒト I L - 1 2 に結合する抗ヒト I L - 1 2 抗体)の結合特異性/親和性を改良するアミノ酸残基が含まれる。活性を向上させるアミノ酸残基は、抗体(例えば、ヒト I L - 1 2 を阻害するヒト I L - 1 2 抗体)の中和能力を改良するアミノ酸残基が含まれることも意図される。

【 0 0 7 7 】

用語「抗体」には、ジスルフィド結合によって相互連結された4つのポリペプチド鎖、2つの重(H)鎖、および2つの軽(L)鎖から構成される免疫グロブリン分子が含まれる。各重鎖は、重鎖可変部(本明細書中では H C V R または V H と略す)および重鎖定常部から構成される。重鎖定常部は、3つのドメイン C H 1、C H 2、および C H 3 から構成される。各軽鎖は、軽鎖可変部(本明細書中では L C V R または V L と略す)および重鎖定常部からなる。軽鎖定常部は1つのドメイン C L からなる。V H および V L 領域は、さらに、より保存された領域(フレームワーク領域(F R)という)に点在する超可変部(相補性決定領域(C D R)という)に分けることができる。各 V H および L H は、3つの C D R および4つの F R から構成され、アミノ末端からカルボキシ末端まで、以下の順番: F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4 で配置している。

【 0 0 7 8 】

用語、抗体の「抗原結合部分」(または「抗体部分」)には、抗原(例えば、h I L - 1 2)に特異的に結合する能力を保持している抗体のフラグメントが含まれる。抗体の抗原結合を、全長抗体のフラグメントによって機能させることができることが示されている。用語、抗体の「抗原結合部分」に含まれる結合フラグメントの例には、(i) F a b (V L、V H、C L、および C H 1 ドメインからなる1価のフラグメント)、(i i) F (a b)₂ フラグメント(ヒンジ領域でジスルフィド結合によって連結した2つの F a b 領域を含む2価のフラグメント)、(i i i) V H および C H 1 ドメインからなる F d フラグメント、(i v) 抗体の1つのアームからなる V L および V H ドメインからなる F v フラグメント、(v) V H ドメインからなる d A b フラグメント(Ward et al., 1989、Nature、341、544~546)、および(v i) 単離した相補性決定領域(C D R)が含まれる。さらに、F v フラグメントの2つのドメイン(V L および V H)は、別の遺伝子(これらは、組換え法を用いて、1価の分子(単鎖 F v (s c F v))として公知)を形成するために V L と V H 領域が対になって1つのタンパク質鎖として作製することができる合成リンカーによって連結することができる)にコードされる(例えば、Bird et al., 1988、Science、242、423~426; および Huston et al., 1988、Proc. Natl. Acad. Sci

10

20

30

40

50

．USA、85、5879～5883を参照のこと）。このような単鎖抗体はまた、用語抗体の「抗原結合部分」の範囲内であることが意図される。単鎖抗体の他の形態（ジアボディなど）もまた範囲内である。ジアボディは、短すぎて同一の鎖上の2つのドメイン間で対を形成することができないリンカーを使用しないでVHおよびVLドメインが1つのポリペプチド鎖上で発現されることにより、ドメインを別の鎖の相補ドメインと対合させて2つの抗原結合部位を作製する2価で二重特異性の抗体である（例えば、Holliger, P. et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 6444～6448; Poljak, R. J., et al., 1994, Structure, 2, 1121～1123を参照のこと）。さらに、抗体またはその抗原結合部分は、抗体または抗体の一部と1つまたは複数の他のタンパク質またはペプチドとの共有結合または非共有結合によって形成されたより大きな免疫接着分子の一部であり得る。このような免疫接着分子の例には、四量体scFv分子を作製するためのストレプトアビジンコア領域の使用（Kipriyanov, S. M., et al., 1995, Human Antibodies and Hygriomas, 6, 93～101）および2価のピオチン化scFv分子を作製するためのシステイン残基、マーカーペプチド、およびC末端ポリヒスチジンタグの使用（Kipriyanov, S. M., et al., 1994, Mol. Immunol., 31, 1047～1058）が含まれる。FabおよびF(ab')₂フラグメントなどの抗体の一部を、全抗体のそれぞれパインまたはペプシン消化などの従来技術を用いて完全な抗体から調製することができる。さらに、抗体、抗体の一部、および免疫接着分子を、本明細書中に記載の標準的な組換えDNA技術を用いて得ることができる。好ましい抗原結合部分は、完全なドメインまたは完全なドメインの対である。

【0079】

用語「復帰突然変異」は、ヒト抗体のいくつかまたは全ての体細胞変異アミノ酸が相同な生殖系列抗体配列由来の対応する生殖系列残基に置換されるプロセスをいう。本発明のヒト抗体の重鎖および軽鎖配列を、VBASEデータベース中の生殖系列配列と個別に整列させて、相同性の高い配列を同定する。本発明のヒト抗体における相違は、このような異なるアミノ酸をコードする定義されたヌクレオチド位置の変異によって生殖系列配列に戻る。復帰突然変異の候補としてこのように同定された各アミノ酸の役割は抗原結合における直接的または間接的役割について調査すべきであり、ヒト抗体のいずれかの所望の特徴に影響を与えるための変異後に認められるいずれのアミノ酸も最終的な抗体に含まれるべきではない（例として、選択的変異誘発アプローチによって同定された活性を向上させるアミノ酸を復帰突然変異に供さない）。第2の生殖系列配列が本発明のヒト抗体配列の少なくとも10個、好ましくは12個のアミノ酸と問題の両アミノ酸部位で同一であり、かつ共直線性である場合、復帰突然変異に供されるアミノ酸数を最小化するために、最も密接な生殖系列配列と異なるが第2の生殖系列配列中の対応するアミノ酸に同一であると認められたこれらのアミノ酸位置は存続し得る。復帰突然変異は、抗体最適化の任意の段階で起こり得る。好ましくは、復帰突然変異は、選択的変異誘発アプローチの直前または直後に起こる。より好ましくは、復帰突然変異は、選択的変異誘発アプローチの直前に起こる。

【0080】

本明細書中で使用される、句「ヒトインターロイキン12」（本明細書中ではhIL-12またはIL-12と略す）には、主にマクロファージおよび樹状細胞によって分泌されるヒトサイトカインが含まれる。この用語には、ジスルフィド結合で互いに結合している35kDサブユニット（p35）および40kDサブユニット（p40）を含むヘテロ二量体が含まれる。ヘテロ二量体タンパク質を、「p70サブユニット」という。ヒトIL-12の構造は、例えば、Kobayashi et al., 1989, J. Exp. Med., 170, 827～845; Seder, et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci., 90, 10188～10192; Ling, et al., 1995, J. Exp. Med., 154, 116～127; Podlaski, et

10

20

30

40

50

al., 1992, Arch. Biochem. Biophys., 294, 230 ~ 237 にさらに記載されている。用語「ヒトIL-12」には、標準的な組換え発現法によって調製することができる組換えヒトIL-12 (rh IL-12) を含むことが意図される。

【0081】

用語「カバットナンバリング (Kabat numbering)」、「カバット定義 (Kabat definitions)」、および「カバット標識 (Kabat labeling)」を、本明細書中では交換的に使用できる。当該分野で認識されるこれらの用語は、抗体または抗原結合部分の重鎖および軽鎖可変部中の他のアミノ酸残基よりも変化する (すなわち、超可変) アミノ酸残基のナンバリングシステムをいう (Kabat et al., 1971, Ann. NY Acad. Sci., 190, 382 ~ 391 および Kabat, E. A. et al., 1991, 「免疫学上目的のタンパク質配列」、第5版、米国保健福祉省、NIH発行番号91-3242)。重鎖可変部について、超可変部は、CDR1のアミノ酸31 ~ 35、CDR2のアミノ酸50 ~ 65、およびCDR3のアミノ酸95 ~ 102の範囲である。軽鎖可変部について、超可変部は、CDR1のアミノ酸24 ~ 34、CDR2のアミノ酸50 ~ 56、およびCDR3のアミノ酸89 ~ 97の範囲である。

【0082】

本明細書中でカバットナンバリングを使用して、本発明の抗体中に作製されたアミノ酸修飾の位置を示す。例えば、Y61抗IL-12抗体を重鎖CDR1の第31位でセリン (S) からグルタミン酸 (E) に変異するか (H31S → E)、または軽鎖CDR3の第94位でグリシン (G) をチロシン (Y) に変異する (L94G → Y) ことができる。

【0083】

用語「ヒト抗体」には、Kabat et al. (Kabat, et al., 1991, 「免疫学上目的のタンパク質配列」、第5版、米国保健福祉省、NIH発行番号91-3242を参照のこと) に記載のヒト生殖系列免疫グロブリン配列に対応する可変部または定常部を有する抗体が含まれる。本発明のヒト抗体には、例えばCDR (特に、CDR3) 中のヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされるアミノ酸残基 (例えば、in vitroでの無作為もしくは部位特異的変異誘発またはin vivoでの体細胞変異によって移入される変異) を含み得る。本明細書中に記載の「選択的変異誘発アプローチ」を用いて変異を導入することが好ましい。ヒト抗体は、アミノ酸残基 (例えば、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされる活性を向上させるアミノ酸残基) と置換された少なくとも1つの位置を有し得る。ヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列の一部ではないアミノ酸残基を用いて20個までの位置で置換することができる。他の実施形態では、10個まで、5個まで、または2個までの位置で置換される。より好ましい実施形態では、これらの置換は、以下に詳述のCDR領域の範囲内である。しかし、本明細書中で使用される、用語「ヒト抗体」は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖系列由来のCDR配列がヒトフレームワーク配列に移植されている抗体を含むことは意図しない。

【0084】

句「組換えヒト抗体」には、組換え技術によって調製、発現、作製、または単離されたヒト抗体 (宿主細胞にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを使用して発現された抗体 (以下の第II章にさらに記載)、組換え、結合抗体ライブラリーから単離された抗体 (下記第III章にさらに記載)、ヒト免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックな動物 (例えば、マウス) から単離した抗体 (例えば、Taylor, L. D., et al., 1992, Nucl. Acids Res., 20, 6287 ~ 6295を参照のこと)、またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを含む任意の他の手段によって調整、発現、作製、または単離された抗体など) が含まれる。このような組換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来の可変部および定常部を有する (Kabat, E. A. et al., 1991, 「免疫学上目的のタン

パク質配列」、第5版、米国保健福祉省、NIH発行番号91-3242を参照のこと）。しかし、ある実施形態では、このような組換えヒト抗体を、*in vitro*変異誘発（またはヒトIg配列についてトランスジェニック動物を使用する場合は*in vivo*体細胞変異誘発）に供するので、組換え抗体のVHおよびVL領域のアミノ酸配列は、関連のVHおよびVL配列から由来するが、*in vivo*でのヒト抗体生殖系列レパートリー内に天然には存在し得ない配列であろう。しかし、ある実施形態では、このような組換え抗体は、選択的変異誘発アプローチまたは復帰突然変異またはその両方の結果である。

【0085】

「単離抗体」には、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体が含まれる（例えば、hIL-12に特異的に結合する単離抗体は、hIL-12以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。hIL-12に特異的に結合する単離抗体は、他の種由来のIL-12分子に結合し得ない（以下にさらに詳細に考察する）。さらに、単離抗体は、他の細胞物質および/または化学薬品を実質的に含み得ない。

【0086】

「中和抗体」（または「hIL-12活性を中和した抗体」）には、hIL-12への結合によってhIL-12の生物活性が阻害される抗体が含まれる。このhIL-12の生物活性の阻害は、hIL-12生物活性の1つまたは複数のインヒビターの測定（フィトヘマグルチニン芽細胞増殖アッセイ（PHA）におけるヒトフィトヘマグルチニン芽細胞増殖の阻害またはヒトIL-12レセプタ結合アッセイ（実施例3 - インターフェロ γ 誘導アッセイを参照のこと）におけるレセプタ結合の阻害など）によって評価することができる。これらのhIL-12生物活性の指標を、1つまたは複数の当業者に既知のいくつかの*in vitro*または*in vivo*アッセイによって評価することができる（実施例3を参照のこと）。

【0087】

用語「活性」には、抗原に対する抗体（例えば、IL-12抗原に結合する抗hIL-12抗体）の結合特異性/親和性および/または抗体の中和能力（例えば、hIL-12への結合はhIL-12の生物活性を阻害する（例えば、PHA芽細胞増殖の阻害またはヒトIL-12レセプタ結合アッセイにおけるレセプタ結合の阻害（実施例3を参照のこと）などの抗hIL-12抗体）などが含まれる。

【0088】

句「表面プラスモン共鳴」には、例えば、BIAcoreシステム（Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, NJ）を使用した、バイオセンサマトリックス内のタンパク質濃度の変化の検出による実時間での生体特異的相互作用の分析を可能にする光学現象が含まれる。さらなる説明のためには、実施例5およびJonsson, U. et al., 1993, Ann. Biol. Clin., 51, 19~26; Jonsson, U. et al., 1991, Biotechniques, 11, 620~627; Jonsson, B. et al., 1995, J. Mol. Recognit., 8, 125~131; およびJohnson, B. et al., 1991, Anal. Biochem., 198, 268~277を参照のこと。

【0089】

本明細書中で使用される、用語「 K_{off} 」は、抗体/抗原複合体からの抗体の解離についての解離速度定数をいうことが意図される。

【0090】

本明細書中で使用される、用語「 K_d 」は、特定の抗体 - 抗原相互作用の解離定数をいうことが意図される。

【0091】

句「核酸分子」には、DNA分子およびRNA分子が含まれる。核酸分子は、一本鎖または二本鎖であり得るが、二本鎖DNAが好ましい。

10

20

30

40

50

【0092】

本明細書において使用される、h I L - 1 2 に結合する抗体または抗体部分（たとえば V H、V L、C D R 3）（「単離抗体」を含む）についての句「単離核酸分子」は、前記抗体または抗体部分をコードするヌクレオチド配列が h I L - 1 2 以外の抗原に結合する抗体または抗体部分をコードする他の核酸配列（この他の配列はヒトゲノム D N A において天然において当該核酸に隣接して存在し得る）を含まない核酸分子を含む。したがって、例えば、抗 I L - 1 2 抗体の V H 領域をコードする本発明の単離核酸は、I L - 1 2 以外の抗原に結合する他の V H 領域をコードする他の配列を含まない。句「単離核酸分子」はまた、2 価の二重特異性抗体（V H および V L 領域が当該 d i a b o d y 配列以外の他の配列を含まない d i a b o d y など）をコードする配列を含むことが意図される。

10

【0093】

用語「ベクター」には、結合している別の核酸を輸送することができる核酸分子が含まれる。ベクターの 1 つの型は、「プラスミド」であり、これは、さらなる D N A セグメントを連結することができる環状二本鎖 D N A ループをいう。ベクターの別の型は、さらなる D N A セグメントをウイルスゲノムに連結することができるウイルスベクターである。あるベクターは、導入された宿主細胞中で自己複製することができる（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクターおよびエピソーム哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）を、宿主細胞への導入の際に宿主細胞のゲノムに組み込むことによって、宿主ゲノムと共に複製することができる。さらに、あるベクターは、作動可能に連結された遺伝子の発現を指示することができる。このようなベクターを、本明細書中では、「組換え発現ベクター」（または、単に「発現ベクター」という。一般に、組換え D N A 技術に使用される発現ベクターは、しばしばプラスミドの形態である。プラスミドはベクターの最も一般的に使用される形態であるので、本明細書では、「プラスミド」および「ベクター」を、交換可能に使用することができる。しかし、本発明は、等価に機能するこのような発現ベクターの他の形態（ウイルスベクター（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルス、およびアデノ随伴ウイルス）など）を含むことが意図される。

20

【0094】

句「組換え宿主細胞」（または単に「宿主細胞」）には、組換え発現ベクターが導入された細胞が含まれる。このような用語は、特定の細胞だけでなく、このような細胞の子孫も含むことが意図されることを理解すべきである。変異または環境の影響のいずれかによって継代で一定の修飾が起こり得るので、このような子孫は実際には親細胞と同一ではないが、本明細書中で使用される、用語「宿主細胞」の範囲内に含まれる。

30

【0095】

本明細書中で使用される、用語「修飾」は、抗体またはその抗原結合部分中の 1 つまたは複数のアミノ酸の変化をいうことが意図される。1 つまたは複数の位置でのアミノ酸の付加、置換、または欠失によって変化することができる。公知の技術（P C R 変異誘発）を用いて変化させることができる。

【0096】

句「接触位置」には、26 の既知の抗体 - 抗原構造の 1 つに抗体と接触するアミノ酸によって占められた抗体の重鎖可変部または軽鎖可変部の C D R 1、C D R 2、または C D R 3 のアミノ酸位置が含まれる。抗体 - 抗原複合体の 26 の任意の既知の解析された構造中の C D R アミノ酸が抗原に接触する場合、アミノ酸は接触位置を占めると考えることができる。接触位置は、非接触位置よりも抗原に接触するアミノ酸で占められる可能性が高い。好ましくは、接触位置は、26 個のうち 3 個を超える（> 11.5 %）構造中で抗原と接触するアミノ酸を含む C D R 位置である。最も好ましくは、接触位置は、25 個のうち 8 個を超える（> 32 %）構造中で抗原と接触するアミノ酸を含む C D R 位置である。

40

【0097】

用語「過剰変異位置」には、抗体の i n v i v o 親和性成熟中の体細胞過剰変異の頻度または可能性が高いと考えられる抗体の重鎖可変部または軽鎖可変部の C D R 1、C D R

50

2、またはCDR3領域中の位置を占めるアミノ酸残基が含まれる。「体細胞過剰変異の高い頻度または可能性」には、上記残基が抗体の*in vivo*親和性成熟中の体細胞過剰変異を受ける頻度または可能性が5%~40%であることが含まれる。記載したこの範囲内の全ての範囲はまた、本発明の一部であることが意図されることが理解されるべきである(例えば、5%~約30%、5%~約15%、15%~約30%)。

【0098】

用語「好ましい選択的変異誘発位置」には、接触および過剰変異位置であると考えられることができる重鎖可変領域または軽鎖可変領域のCDR1、CDR2、またはCDR3中の位置を占めるアミノ酸残基が含まれる。

【0099】

句「選択的変異誘発アプローチ」には、少なくとも1つの好ましい選択的変異誘発位置、過剰変異位置、および/または接触位置での、CDRアミノ酸の選択およびそれらの変異による、抗体活性の改良法が含まれる。「選択的に変異した」ヒト抗体は、選択的変異誘発アプローチを用いて選択された位置での変異を含む抗体である。別の実施形態では、選択的変異誘発アプローチは、好ましくは抗体の重鎖可変部のCDR1、CDR2、もしくはCDR3(以下それぞれH1、H2、およびH3)または軽鎖可変部のCDR1、CDR2、もしくはCDR3(以下それぞれL1、L2、およびL3)中の選択された各アミノ酸残基の変異法を提供することが意図される。アミノ酸残基を、好ましい選択的変異誘発位置、接触位置、または過剰変異位置から選択することができる。軽鎖および重鎖可変部中の位置に基づいて各アミノ酸を選択する。過剰変異位置はまた接触位置であり得ることが理解されるべきである。用語「目標アプローチ」は、好ましくは目標方式(例えば、「群様式目標アプローチ」または「CDR様式目標アプローチ」)における抗体の重鎖可変部のCDR1、CDR2、もしくはCDR3(以下それぞれH1、H2、およびH3)または軽鎖可変部のCDR1、CDR2、もしくはCDR3(以下それぞれL1、L2、およびL3)中の選択された各アミノ酸残基の変異法を含むことが意図される。「群様式の目標アプローチ」では、特定の群(群I(L3およびH2を含む)、群II(H2およびL1を含む)、および群III(L2およびH1を含む)(群は目標として好ましい順に列挙している)を含む)の各アミノ酸残基を、選択的変異誘発用に目標化する。「CDR様式目標アプローチ」では、特定のCDR中の各アミノ酸残基を、選択的変異用にH3、L3、H2、L1、H1、およびL2(目標として好ましい順に列挙)で目標化する。選択されたアミノ酸残基を、例えば少なくとも2つの他のアミノ酸残基に変異させ、抗体活性に対する変異の効果を同定する。活性を、抗体の結合特異性/親和性および/または抗体の中和能力の変化として測定する。選択的変異誘発アプローチを、任意の供給源(ファージディスプレイ、ヒトIgG生殖系列遺伝子を用いたトランスジェニック動物、ヒトB細胞から単離したヒト抗体を含む)由来の任意の抗体の最適化に使用することができることが理解されるべきである。好ましくは、選択的変異誘発アプローチを、ファージディスプレイ技術をさらに用いて最適化することができない抗体について使用することが理解されるべきである。ファージディスプレイ、ヒトIgG生殖系列遺伝子を用いたトランスジェニック動物、ヒトB細胞から単離したヒト抗体を含む任意の供給源由来の抗体を、選択的変異誘発アプローチの前または後の復帰特全変異に供することができる。

【0100】

用語「活性を向上させるアミノ酸残基」には、抗体の活性を改良するアミノ酸残基が含まれる。活性を向上させるアミノ酸残基を、好ましい選択的変異誘発位置、接触位置、または過剰変異位置においてアミノ酸残基と置換することができ、さらに、1つを超える活性を向上させるアミノ酸残基は1つまたは複数のCDR内に存在し得ることが理解されるべきである。活性を向上させるアミノ酸残基には、抗体(例えば、ヒトIL-12に結合する抗ヒトIL-12抗体)の結合特異性/親和性を向上させるアミノ酸残基が含まれる。活性を向上させるアミノ酸残基はまた、抗体(例えば、ヒトIL-12を阻害するヒトIL-12抗体)の中和能力を改良するアミノ酸残基を含むことが意図される。

【0101】

本発明の種々の態様を、以下の節でさらに詳細に説明する。

【0102】

I. ヒトIL-12に結合するヒト抗体

本発明は、ヒトIL-12に結合するヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。好ましくは、本発明のヒト抗体は、組換え中和ヒト抗hIL-12抗体である。ヒトIL-12に結合する本発明の抗体を、例えば、hIL-12を用いた1つまたは複数のV_LおよびV_H cDNAライブラリーのスクリーニング（実施例1に記載のファージディスプレイ技術など）によって選択することができる。ヒトV_LおよびV_H cDNAライブラリーのスクリーニングにより、一連の抗IL-12抗体をまず同定し、本明細書中で「Joe 9」（「Joe 9野生型」）という抗体をさらなる展開のために選択した。Joe 9は、比較的低親和性のヒトIL-12抗体（例えば、約0.1秒⁻¹のK_{off}）であるが、hIL-12の特異的結合および検出に有用である。Joe 9抗体の親和性を、重鎖および軽鎖CDRの変異誘発の誘導、「混合および適合」ならびにさらに変異させた軽鎖および重鎖可変部パネルの作製によって改良し、hIL-12の親和性が増加した多数のさらなる抗hIL-12抗体を誘導した（実施例1、表2（添付物Aを参照のこと））、および図1A～図Dの配列アラインメントを参照のこと）。

10

【0103】

これらの抗体のうち、本明細書中でY61というヒト抗hIL-12抗体は、有意な結合親和性の改良を示した（例えば、約2×10⁻⁴ sec⁻¹のK_{off}）。Y61抗hIL-12抗体を、重鎖および軽鎖CDR内の特異的アミノ酸残基のそれぞれの変異によってさらなる親和性成熟について選択した。Y61のアミノ酸残基を、好ましい選択的変異誘発位置、接触および/または過剰変異位置を占めるアミノ酸残基に基づいた部位特異的変異（選択的変異誘発アプローチ）について選択した。重鎖および軽鎖CDR中の選択した位置での置換のまとめを、図2A～図2Hに示す。Y61の軽鎖CDR2の第50位でのGlyからTyrへの置換およびY61の軽鎖CDR3の第94位でのGlyからTyrへの置換により、本発明の好ましい組換え中和抗体（本明細書中でJ695という）を得た。

20

【0104】

Joe 9野生型からJ695までの系列における本発明の抗IL-12抗体パネルの重鎖および軽鎖可変部のアミノ酸配列アラインメントを、図1A～図1Dに示す。これらの配列アラインメントにより、Joe 9野生型からJ695までの系列におけるhIL-12に結合する本発明の抗体の好ましい重鎖および軽鎖可変部のコンセンサス配列ならびにCDR3、CDR2、およびCDR1のコンセンサス配列の同定が可能となった。さらに、図2A～図2HにまとめたY61変異誘発分析により、良好なhIL-12結合特性を未だ保持するY61由来の修飾を有する配列を含むY61からJ695までの系列におけるhIL-12に結合する重鎖および軽鎖可変領域のコンセンサス配列ならびにhIL-12に結合するCDR3、CDR2、およびCDR1のコンセンサス配列の同定が可能となった。添付の配列表における配列決定によって同定された本発明の好ましいCDR、V_H、およびV_L配列（コンセンサス配列を含む）を、以下にまとめる。

30

【0105】

【表1】

40

配列番号	抗体鎖	領域	配列
1	コンセンサス Joe 9 to J695	CDR H3	(H/S) - G - S - (H/Y) - D - (N/T/Y)
2	コンセンサス	CDR L3	Q - (S/T) - Y - (D/E) - (S/R/K) - (S/G/Y) -

	Joe 9 to J695		(L/F/T/S) - (R/S/T/W/H) - (G/P) - (S/T/A/L) - (R/S/M/T/L) - (V/I/T/M/L)
3	コンセンサス Joe 9 to J695	CDR H2	F-I-R-Y-D-G-S-N-K-Y-Y-A-D-S-V-K-G
4	コンセンサス Joe 9 to J695	CDR L2	(G/Y) - N - (D/S) - (Q/N) - R - P - S
5	コンセンサス Joe 9 to J695	CDR H1	F-T-F-S - (S/E) - Y-G-M-H
6	コンセンサス Joe 9 to J695	CDR L1	(S/T) - G - (G/S) - (R/S) - S - N - I - (G/V) - (S/A) - (N/G/Y) - (T/D) - V - (K/H)
7	コンセンサス Joe 9 to J695	VH	(全VH配列, 配列表参照)
8	コンセンサス Joe 9 to J695	VL	(全VH配列, 配列表参照)
9	コンセンサス Y61 to J695	CDR H3	H - (G/V/C/H) - (S/T) - (H/T/V/R/I) - (D/S) - (N/K/A/T/S/F/W/H)
10	コンセンサス Y61 to J695	CDR L3	Q-S-Y - (D/S) - (Xaa) - (G/D/Q/L/F/R/H/N/Y) - T-H-P-A-L-L
11	コンセンサス Y61 to J695	CDR H2	(F/T/Y) - I - (R/A) - Y - (D/S/E/A) - (G/R) - S - (Xaa) - K - (Y/E) - Y-A-D-S-V-K-G
12	コンセンサス Y61 to J695	CDR L2	(G/Y/S/T/N/Q) - N-D-Q-R-P-S
13	コンセンサス Y61 to J695	CDR H1	F-T-F - (Xaa) - (Xaa) - (Y/H) - (G/M/A/N/S) - M-H
14	コンセンサス Y61 to J695	CDR L1	S-G-G-R-S-N-I-G - (S/C/R/N/D/T) - (N/M/I) - (T/Y/D/H/K/P) - V-K
15	コンセンサス Y61 to J695	VH	(全VH配列, 配列表参照)
16	コンセンサス Y61 to J695	VL	(全VH配列, 配列表参照)
17	Y61	CDR H3	H-G-S-H-D-N
18	Y61	CDR L3	Q-S-Y-D-R-G-T-H-P-A-L-L
19	Y61	CDR H2	F-I-R-Y-D-G-S-N-K-Y-Y-A-D-S-V-K-G
20	Y61	CDR L2	G-N-D-Q-R-P-S
21	Y61	CDR H1	F-T-F-S-S-Y-G-M-H
22	Y61	CDR L1	S-G-G-R-S-N-I-G-S-N-T-V-K

10

20

30

40

23	Y61	VH	(全VH配列, 配列表参照)
24	Y61	VL	(全VH配列, 配列表参照)
25	J695	CDR H3	H-G-S-H-D-N
26	J695	CDR L3	Q-S-Y-D-R-Y-T-H-P-A-L-L
27	J695	CDR H2	F-I-R-Y-D-G-S-N-K-Y-Y-A-D-S-V-K-G
28	J695	CDR L2	Y-N-D-Q-R-P-S
29	J695	CDR H1	F-T-F-S-S-Y-G-M-H
30	J695	CDR L1	S-G-S-R-S-N-I-G-S-N-T-V-K
31	J695	VH	(全VH配列, 配列表参照)
32	J695	VL	(全VH配列, 配列表参照)

10

K_dおよびK_{off}速度を測定するために、J o e 9の親和性成熟から作製した抗体を、表面プラスモン共鳴分析によって機能的に特徴づけた。約 0.1 s^{-1} ~約 10^{-5} s^{-1} の範囲内のK_{off}、より好ましくは $1 \times 10^{-4}\text{ s}^{-1}$ ~ $1 \times 10^{-5}\text{ s}^{-1}$ 以下のK_{off}を有する一連の抗体を作製した。実施例3に記載のように、抗体を、フィトヘマグルチニン(PHA)芽細胞増殖の阻害能力について*in vitro*で特徴づけた。約 $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ ~約 $1 \times 10^{-11}\text{ M}$ の範囲内、より好ましくは約 $1 \times 10^{-10}\text{ M}$ ~約 $1 \times 10^{-11}\text{ M}$ 以下のIC₅₀を有する一連の抗体を作製した。

20

【0106】

したがって、1つの態様では、本発明は、ヒトIL-12に結合し、表面プラスモン共鳴で測定したところ 0.1 s^{-1} 以下のk_{off}速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*フィトヘマグルチニン芽細胞増殖アッセイ(PHAアッセイ)において $1 \times 10^{-6}\text{ M}$ 以下のIC₅₀でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。好ましい実施形態では、表面プラスモン共鳴で測定したところ $1 \times 10^{-2}\text{ s}^{-1}$ 以下のk_{off}速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-7}\text{ M}$ 以下のIC₅₀でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。より好ましい実施形態では、表面プラスモン共鳴で測定したところ $1 \times 10^{-3}\text{ s}^{-1}$ 以下のk_{off}速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-8}\text{ M}$ 以下のIC₅₀でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。より好ましい実施形態では、表面プラスモン共鳴で測定したところ $1 \times 10^{-4}\text{ s}^{-1}$ 以下のk_{off}速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-9}\text{ M}$ 以下のIC₅₀でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。さらにより好ましい実施形態では、表面プラスモン共鳴で測定したところ $1 \times 10^{-5}\text{ s}^{-1}$ 以下のk_{off}速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-10}\text{ M}$ 以下のIC₅₀でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。さらにより好ましい実施形態では、表面プラスモン共鳴で測定したところ $1 \times 10^{-5}\text{ s}^{-1}$ 以下のk_{off}速度定数でヒトIL-12から解離するか、*in vitro*PHAアッセイにおいて $1 \times 10^{-11}\text{ M}$ 以下のIC₅₀でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害する、請求項9に記載の単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

30

40

50

【0107】

IL-12抗体の解離速度定数(K_{off})を、表面プラズモン共鳴によって同定することができる(実施例5を参照のこと)。全般に、表面プラズモン共鳴分析によって、BIAcoreシステム(Pharmacia Biosensor、Piscataway、NJ)を使用した、表面プラズモン共鳴(SPR)によるリガンド(バイオセンサーマトリックス上に固定された組換えヒトIL-12抗体)と分析物(溶液中の抗体)との間の実時間で結合相互作用を測定する。表面プラズモン分析を、分析物(バイオセンサーマトリックス上の抗体)の固定およびリガンド(溶液中の組換えIL-12)の提示によっても行うことができる。IL-12抗体またはその抗原結合部分の中和活性を、いくつかの適切なin vitroアッセイの1つまたは複数を用いて評価することができる(実施例3)。

10

【0108】

抗体重鎖および軽鎖CDRは、抗体の抗原との結合特異性/親和性に重要な役割を果たすことが当該分野で周知である。したがって、本発明は、Joe 9の軽鎖および重鎖CDRを有するヒト抗体ならびに抗体の結合特異性/親和性を改良するように修飾されているCDRを有する他の抗体を含む。実施例1に示すように、軽鎖および重鎖CDRに対する一連の修飾により、ヒト抗hIL-12抗体が親和性成熟される。ヒトIL-12に結合するJoe 9野生型からJ695までの範囲の一連のヒト抗体の重鎖および軽鎖可変部アミノ酸配列アラインメントを、図1A~図1Dに示す。抗体のCDRについてのコンセンサス配列モチーフを、配列アラインメント(上記の表にまとめたように)から同定することができる。例えば、Joe 9からJ695までの系列のVH CDR3についてのコンセンサスモチーフは、アミノ酸配列(H/S)-G-S-(H/Y)-D-(N/T/Y)(配列番号1)(配列番号7に示したコンセンサスHCVRの95位~102位の位置のアミノ酸を含む)を含む。VL CDR3についてのコンセンサスモチーフは、アミノ酸配列Q-(S/T)-Y-(D/E)-(S/R/K)-(S/G/Y)-(L/F/T/S)-(R/S/T/W/H)-(G/P)-(S/T/A/L)-(R/S/M/T/L-V/I/T/M/L)(配列番号2)(配列番号8に示したコンセンサスLCVRの89位~97位の位置のアミノ酸を含む)を含む。

20

【0109】

したがって、別の態様では、本発明は、以下の特徴：

30

- a) in vitro PHAアッセイにおいて 1×10^{-6} M以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
- b) 配列番号1のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3を有し、
- c) 配列番号2のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【0110】

好ましい実施形態では、抗体は、アミノ酸配列F-I-R-Y-D-G-S-N-K-Y-Y-A-D-S-V-K-G(配列番号3)(配列番号7のアミノ酸配列を含むHCVRの50位~65位の位置のアミノ酸を含む)をさらに含み、アミノ酸配列(G/Y)-N-(D/S)-(Q/N)-R-P-S(配列番号4)(配列番号8のアミノ酸配列を含むLCVRの50位~65位の位置のアミノ酸を含む)をさらに含む。

40

【0111】

別の好ましい実施形態では、抗体は、アミノ酸配列F-T-F-S-(S/E)-Y-G-M-H(配列番号5)(配列番号7のアミノ酸配列を含むHCVRの27位~35位の位置のアミノ酸を含む)をさらに含み、アミノ酸配列(S/T)-G-(G/S)-(r/S)-S-N-I-(G/V)-(S/A)-(N/G/Y)-(T/D)-V-(K/H)(配列番号6)(配列番号8のアミノ酸配列を含むLCVRの24位~34位の位置のアミノ酸を含む)をさらに含む。

【0112】

さらに別の好ましい実施形態では、本発明の抗体は、配列番号7のアミノ酸配列を含むH

50

C V R および配列番号 8 のアミノ酸配列を含む L C V R を含む。

【 0 1 1 3 】

さらなるコンセンサスモチーフを、J 6 9 5 抗体を誘導する Y 6 1 について行った変異分析に基づいて同定することができる（図 2 A ~ 図 2 H にまとめる）。図 2 A ~ 図 2 H に示したグラフによって示されたように、Y 6 1 の重鎖および軽鎖 C D R の一定の残基は、抗体の h I L - 1 2 の結合特性を有意に減少させることなく置換を行うことができた。例えば、20 個の異なるアミノ酸残基での C D R H 1 中の第 30 位での各置換により、抗体の K_{off} 速度は有意に減少せず、これは、この位置で種々の異なるアミノ酸残基を置換することができることを示す。したがって、変異分析（すなわち、他のアミノ酸残基での置換が可能な Y 6 1 内の位置）に基づいて、コンセンサスモチーフを同定した。重鎖および軽鎖 C D R 3 のコンセンサスモチーフをそれぞれ配列番号 9 および 10 に示し、重鎖および軽鎖 C D R 2 のコンセンサスモチーフをそれぞれ配列番号 11 および 12 に示し、重鎖および軽鎖 C D R 1 のコンセンサスモチーフをそれぞれ配列番号 13 および 14 に示す。V H および V L 領域のコンセンサスモチーフを、それぞれ配列番号 15 および 16 に示す。

10

【 0 1 1 4 】

したがって、1つの態様では、本発明は、以下の特徴：

- a) *in vitro* P H A アッセイにおいて 1×10^{-9} M 以下の $I C_{50}$ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
- b) 配列番号 9 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 を有し、
- c) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

20

【 0 1 1 5 】

好ましい実施形態では、抗体は、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 および配列番号 12 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 をさらに含む。

【 0 1 1 6 】

別の好ましい実施形態では、抗体は、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 および配列番号 14 のアミノ酸配列を含む L H C D R 1 をさらに含む。

【 0 1 1 7 】

さらに好ましい実施形態では、本発明の抗体は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む H C V R および配列番号 16 のアミノ酸配列を含む L C V R を含む。

30

【 0 1 1 8 】

本発明の好ましい抗体であるヒト抗 h I L - 1 2 抗体 Y 6 1 を、C D R 3 の P C R 変異誘発によって J o e 9 野生型の親和性成熟によって作製した（実施例 1 に記載）。Y 6 1 は、表面プラスモン共鳴および *in vitro* 中和アッセイで同定された改良特異性 / 結合親和性を有していた。Y 6 1 の重鎖および軽鎖 C D R 3 をそれぞれ配列番号 17 および 18 に示し、Y 6 1 の重鎖および軽鎖 C D R 2 をそれぞれ配列番号 19 および 20 に示し、Y 6 1 の重鎖および軽鎖 C D R 3 をそれぞれ配列番号 21 および 22 に示す。Y 6 1 の V H は配列番号 23 のアミノ酸配列を有し、Y 6 1 の L H は配列番号 24 のアミノ酸配列を有する（これらの配列はまた、J o e 9 と整列させて図 1 A ~ 図 1 D に示されている）。

40

【 0 1 1 9 】

- したがって、別の態様では、本発明は、a) *in vitro* P H A アッセイにおいて 1×10^{-9} M 以下の $I C_{50}$ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
- b) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 を有し、
 - c) 配列番号 18 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

【 0 1 2 0 】

好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 19 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 および配列番号 20 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 をさら

50

に有する。

【0121】

別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号21のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1および配列番号22のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1をさらに有する。

【0122】

さらに別の好ましい実施形態では、配列番号23のアミノ酸配列を含む重鎖可変部および配列番号24のアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

【0123】

ある実施形態では、全長抗体は、重鎖定常部(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、およびIgE定常部など)およびKabata(Kabat, E. A. et al., 1991, 「免疫学上目的のタンパク質配列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)」、第5版、米国保健福祉省、NIH発行番号91-3242)に記載の任意のアロタイプ変異体を含む。好ましくは、抗体重鎖定常部は、IgG1重鎖定常部である。あるいは、抗体の一部は、Fabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、または短鎖Fvフラグメントであり得る。

【0124】

抗体パネルを作製するためのY61の各残基の修飾を、図2A~図2Hに示す。各抗体の特異性/結合親和性を、表面プラスモン共鳴および/またはin vitro中和アッセイによって同定した。

【0125】

したがって、別の態様では、本発明は、a) in vitro PHAアッセイにおいて 1×10^{-9} M以下のIC₅₀でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害するか、b) 配列番号404~配列番号469からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR3を有するか、c) 配列番号534~配列番号579からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

【0126】

好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号335~配列番号403からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR2または配列番号506~配列番号533からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2を有する。

【0127】

別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号288~配列番号334からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖CDR1または配列番号470~配列番号505からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1を有する。

【0128】

さらに別の好ましい実施形態では、配列番号23のアミノ酸配列を含む重鎖可変部および配列番号24のアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を含む単離ヒト抗体またはその抗原結合部分。

【0129】

ある実施形態では、重鎖定常部(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、およびIgE定常部など)およびKabata(Kabat, E. A. et al., 1991, 「免疫学上目的のタンパク質配列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)」、第5版、米国保健福祉省、NIH発行番号91-3242)に記載の任意のアロタイプの変異体を含む全長抗体。好ましくは、抗体重鎖定常部は、IgG1重鎖定常部である。あるいは、抗体の一

10

20

30

40

50

部は、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、または短鎖 F v フラグメントであり得る。

【 0 1 3 0 】

本発明の特に好ましい組換えられた中和抗体である J 6 9 5 を、抗体 Y 6 1 の接触および過剰変異アミノ酸残基の部位特異的変異誘発によって作製した（実施例 2 におよび以下の第 I I 節に記載）。J 6 9 5 は、軽鎖 C D R 2 の第 5 0 位での G l y から T y r への置換および軽鎖 C D R 3 の第 9 4 位での G l y から T y r への置換という点で Y 6 1 と異なる。J 6 9 5 の重鎖および軽鎖 C D R 3 をそれぞれ配列番号 2 5 および 2 6 に示し、J 6 9 5 の重鎖および軽鎖 C D R 2 をそれぞれ配列番号 2 7 および 2 8 に示し、J 6 9 5 の重鎖および軽鎖 C D R 3 をそれぞれ配列番号 2 9 および 3 0 に示す。J 6 9 5 の V H は配列番号 3 1 のアミノ酸配列を有し、J 6 9 5 の L H は配列番号 3 2 のアミノ酸配列を有する（これらの配列はまた、J o e 9 と整列させて図 1 A ~ 図 1 D に示されている）。10

【 0 1 3 1 】

したがって、別の態様では、本発明は、a) i n v i t r o P H A アッセイにおいて 1×10^{-9} M 以下の I C₅₀ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
b) 配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 3 を有し、
c) 配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 3 を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

【 0 1 3 2 】

好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 2 7 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 2 および配列番号 2 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 2 を有する。20

【 0 1 3 3 】

別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含む重鎖 C D R 1 および配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖 C D R 1 を有する。

【 0 1 3 4 】

さらに別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変部および配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有する。30

【 0 1 3 5 】

ある実施形態では、全長抗体は、重鎖定常部 (I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g M、I g A、および I g E 定常部など) および K a b a t (K a b a t, E. A. e t a l., 1991, 「免疫学上目的のタンパク質配列 (S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t) 」、第 5 版、米国保健福祉省、N I H 発行番号 9 1 - 3 2 4 2) に記載の任意のアロタイプの変異体を含む。好ましくは、抗体重鎖定常部は、I g G 1 重鎖定常部である。あるいは、抗体の一部は、F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、または短鎖 F v フラグメントであり得る。

【 0 1 3 6 】

本発明のさらなる抗 I L - 1 2 抗体を得るために、J o e 9 から J 6 9 5 までの系列または Y 6 1 から J 6 9 5 までの系列由来の抗体の C D R 3、C D R 2、および C D R 1 の好ましいコンセンサス配列におけるさらなる変異を作製することができる。このような修飾法を、標準的な分子生物学技術 (P C R 変異誘発、軽鎖および / または重鎖 C D R 中の各接触または過剰変異アミノ酸残基の目標化、その後の本明細書中に記載の修飾抗体の速度および機能的分析 (例えば、実施例 3 に記載の中和アッセイおよび実施例 5 に記載の B I A コア分析) など) を用いて行うことができる。40

【 0 1 3 7 】

したがって、別の態様では、本発明は、a) i n v i t r o P H A アッセイにおいて 1×10^{-6} M 以下の I C₅₀ でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、50

b) 配列番号1のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、および配列番号5のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置または過剰変異位置に1つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号1のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号3のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、および配列番号5のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1を含む抗体より10倍以下高い k_{off} 速度を有し、

c) 配列番号2のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3、配列番号4のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、および配列番号6のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置または過剰変異位置で1つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号2のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR4、配列番号3のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、および配列番号6のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1を含む抗体より10倍以下高い k_{off} 速度を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分の特徴とする。

【0138】

別の態様では、本発明は、a) *in vitro* PHAアッセイにおいて 1×10^{-9} M以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、

b) 配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号11のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、および配列番号13のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置で1つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号9のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号11のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、および配列番号13のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1を含む抗体より10倍以下高い k_{off} 速度を有し、

c) 配列番号10のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3、配列番号12のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、および配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置で1つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号10のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3、配列番号12のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、および配列番号14のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1を含む抗体より10倍以下高い k_{off} 速度を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分の特徴とする。

【0139】

当業者はまた、本発明の抗体（例えば、Y61またはJ695）のCDR領域に対するさらなる変異を作製して本発明のさらなる抗IL-12を得ることができることを認識する。このような変異法を、上記の標準的な分子生物学的技術を使用して行うことができる。修飾抗体の機能的および速度分析を、それぞれ実施例3および実施例5に記載のように行うことができる。J695を同定するY61の各残基の修飾を、図2A～図2Hに示し、実施例2で説明する。

【0140】

したがって、別の態様では、本発明は、a) *in vitro* PHAアッセイにおいて 1×10^{-9} M以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、

b) 配列番号17のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置で1つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号17のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号19のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1を含む抗体より10倍以下高い k_{off} 速度を有し、

c) 配列番号18のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3、配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、および配列番号22のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置で1つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号18のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR4、配列番号20のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、および配列番号22のアミノ酸配列

を含む軽鎖CDR1を含む抗体より10倍以下高い k_{off} 速度を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

【0141】

別の態様では、本発明は、a) *in vitro* PHAアッセイにおいて 1×10^{-9} M以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、

b) 配列番号25のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号27のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、および配列番号29のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置または過剰変異位置で1つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号25のアミノ酸配列を含む重鎖CDR3、配列番号27のアミノ酸配列を含む重鎖CDR2、および配列番号29のアミノ酸配列を含む重鎖CDR1を含む抗体より10倍以下高い k_{off} 速度を有し、

c) 配列番号26のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3、配列番号28のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、および配列番号30のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1、または好ましい選択的変異誘発位置または過剰変異位置で1つまたは複数のアミノ酸置換を有するその変異体を含み、前記変異体が配列番号26のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR3、配列番号28のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR2、および配列番号30のアミノ酸配列を含む軽鎖CDR1を含む抗体より10倍以下高い k_{off} 速度を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

【0142】

さらに別の実施形態では、本発明は、ヒトIL-12ならびにヒヒIL-12、マーモセットIL-12、チンパンジーIL-12、カニクイザルIL-12、およびアカゲザルIL-12からなる群から選択される少なくとも1つのさらなる霊長類IL-12の活性を中和するがマウスIL-12の活性を中和しない、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を提供する。

【0143】

II. 組換えヒト抗体の選択

本発明の組換えヒト抗体を、ヒトリンパ球由来のmRNAから調製したヒトVLおよびVH cDNAを使用して調製した組換え組み合わせ抗体ライブラリー（好ましくはscFvファージディスプレイライブラリー）のスクリーニングによって単離することができる。このようなライブラリーの調製法およびスクリーニング法は、当業者に既知である。市販のファージディスプレイライブラリー作製用キット（例えば、Pharmacia組換えファージ抗体系、カタログ番号27-9400-01およびStratagene SurfZAPTM ファージディスプレイキット、カタログ番号240612）に加えて、抗体ディスプレイライブラリーの作製およびスクリーニングに特に利用することができる方法および試薬の例は、例えば、Kang et al. のPCT公開番号WO 92/18619; Winter et al. のPCT公開番号WO 92/20791; Breitling et al. のPCT公開番号WO 93/01288; McCafferty et al. のPCT公開番号WO 92/01047; Garrard et al. のPCT公開番号WO 92/09690; Fuchs et al.、1991、Bio/Technology、9、1370~1372; Hay et al.、1992、Hum Antibod. Hybridomas、3、81~85; Huse et al.、1989、Science、246、1275~1281; McCafferty et al.、Nature、1990、348、552~554、Griffiths et al.、1993、EMBO J.、12、725~734; Hawkins et al.、1992、J. Mol. Biol.、226、889~896; Clackson et al.、1991、Nature、352、624~628; Gram et al.、1992、PNAS、89、3576~3580; Garrard et al.、1991、Bio/Technology、9、1373~1377; Hoogenboom et al.、1991、Nuc. Acid Res.、19、4133~4137; およびBarbas et al.、1991、PNA

S、88、7978～7982に見出すことができる。

【0144】

本方法で使用した抗体ライブラリーは、ヒトVLおよびVH cDNAから調製したscFvライブラリーであることが好ましい。IL-12に対する結合活性を有するヒト重鎖および軽鎖配列を選択するために、抗原として組換えヒトIL-12を用いてscFv抗体ライブラリーをスクリーニングすることが好ましい。IL-12のp35サブユニットまたはp70ヘテロ二量体に特異的な抗体を選択するために、過剰な遊離p40サブユニットの存在下でスクリーニングアッセイを行った。実施例1に記載のように、サブユニットの優先度を、例えばミクロフリケット滴定によって同定することができる。

【0145】

一旦最初のヒトVLおよびVHセグメントが選択されると、好ましいVL/VH対の組み合わせを選択するために「混合および適合」実験を行い、IL-12結合について選択されたVLおよびVHセグメントの異なる対をスクリーニングする。さらに、hIL-12結合の親和性および/または低い解離速度定数をさらに改良するために、好ましいVL/VH対のVLおよびVHセグメントを、天然の免疫応答中の抗体の親和性成熟を担うin vivo体細胞変異プロセスに類似のプロセスで無作為に（好ましくは、VHおよび/またはVLのCDR3領域内で）変異することができる。このin vitro親和性成熟を、それぞれVH CDR3またはVL CDR3に相補的なPCRプライマー（このプライマーは、得られるPCR産物がVHおよび/またはVL CDR3領域に無作為変異が導入されているVHおよびVLセグメントをコードするように一定の位置で4個のヌクレオチド塩基の無作為な混合物で「スパイク」されている）を用いたVHおよびVL領域の増幅によって行うことができる。これらの無作為に変異させたVHおよびVLセグメントを、hIL-12への結合について再選択および再スクリーニングすることができる。IL-12結合について高い親和性および低い分離速度を示す配列を選択することができる。表2（添付物Aを参照のこと）は、in vitro親和性成熟の結果として結合特異性/親和性の変化を示す抗体を示す。

【0146】

組換え免疫グロブリンディスプレイライブラリーからの本発明の抗hIL-12抗体の選択、単離、およびスクリーニング後、選択された抗体をコードする核酸を、ファージ粒子から（例えば、ファージゲノムから）回収し、標準的な組換えDNA技術によって他の発現ベクターにサブクローン化する。所望ならば、本発明の他の抗体形態を作製するために、核酸をさらに操作することができる（さらなる定常部などのさらなる免疫グロブリンドメインをコードする核酸に結合する核酸）。組換えライブラリーのスクリーニングによって単離された組換えヒト抗体を発現させるために、抗体をコードするDNAを、組換え発現ベクターにクローン化して、哺乳動物宿主細胞に導入する（以下の第IV節にさらに詳述）。

【0147】

ファージディスプレイ技術およびCDR領域の無作為または部位特異的変異誘発によって選択された抗体の親和性成熟によるヒトIL-12結合抗体の選択法を、実施例1にさらに詳述する。

【0148】

実施例1に記載のように、ヒトVLおよびVH cDNAライブラリーのスクリーニングによって、一連の抗IL-12抗体を同定し、Joe 9抗体をさらなる展開のために選択した。Joe 9の重鎖可変領域とVBASEデータベース由来の重鎖生殖系列配列との比較により、Joe 9がCOS-3生殖系列配列と類似することが明らかとなった。COS-3は、生殖系列配列のVH3ファミリーに属する。

【0149】

VH3ファミリーは、ヌクレオチド配列相同性に基づいてVH1～VH7の7つのファミリーに分類されるヒトVH生殖系列レパートリーの一部である（Tomlinson et al., 1992, J. Mol. Biol., 227, 776～798およびCoo

10

20

30

40

50

k et al., 1995, Immunology Today, 16, 237~242)。V_H3ファミリーは、最も多数のメンバーを含み、生殖系列レパートリーに最も寄与する。任意の所与のヒトV_H3生殖系列抗体配列について、V_H3ファミリー内のアミノ酸配列同一性は高い（例えば、Tomlinson et al., 1992, J. Mol. Biol., 227, 776~798およびCook et al., 1995, Immunology Today, 16, 237~242を参照のこと）。V_H3ファミリーの任意の2つの生殖系列V_H配列間のアミノ酸同一性範囲は、約100個のV_H残基中69~98個の残基で変化する（すなわち、任意の2つの生殖系列V_H配列間で69~98%のアミノ酸配列相同性）。ほとんどの生殖系列配列について、少なくとも80個以上の同一のアミノ酸残基が存在する（すなわち、少なくとも80%のアミノ酸配列相補性）。V_H3ファミリーメンバー間の高い程度のアミノ酸配列相同性によって、V_H鎖のCDRおよびフレームワーク領域中の重要な部位に存在する一定のアミノ酸残基が存在する。これらのアミノ酸残基は、CDRに構造的特徴を付与する。

【0150】

抗体構造の研究により、CDRの高次構造を、CDRおよびフレームワーク領域中の一定の位置を占める重要なアミノ酸残基に基づいて、標準CDR構造のファミリーに分類することができることが示されている。したがって、同一の重要なアミノ酸残基を有する標準構造を有する異なる抗体中の類似の局所的CDR高次構造が存在する（Chothia et al., 1987, J. Mol. Biol., 1996, 901~917およびChothia et al., 1989, Nature, 342, 877~883）。V_H3ファミリー内に、CDR1およびCDR2標準構造について重要な部位にアミノ酸残基の同一性が保存されている（Chothia et al., 1987, J. Mol. Biol., 1996, 227, 799~817）。

【0151】

COS-3生殖系列V_H遺伝子は、V_H3ファミリーメンバーであり、3~30（DP-49）生殖系列V_H対立遺伝子の変異体である。COS-3は、Joe 9 V_Hアミノ酸配列と5つの位置のみで異なる。Joe 9 V_HとCOS-3との間およびJoe 9 V_Hと他のV_H3ファミリーメンバーとの間の高度なアミノ酸配列相同性はまた、高度なCDR構造の相同性を付与する（Chothia et al., 1987, J. Mol. Biol., 1996, 901~917; Chothia et al., 1987, J. Mol. Biol., 1996, 901~917; およびChothia et al., 1989, Nature, 342, 877~883）。

【0152】

当業者は、Joe 9 とのアミノ酸配列および標準構造の高い類似性に基づいて、他のV_H3ファミリーメンバーを使用してヒトIL-12に結合する抗体を作製することができることを認識する。これを、例えば、鎖シャフリング技術による適切なV_Lの選択（Winter et al., 1994, Annual Rev. Immunol., 12, 433~55）または本発明の抗体由来のCDRを含む齧歯類または他のヒト抗体由来のCDRのV_H3ファミリーフレームワークへの移植によって行うことができる。

【0153】

ヒトV_λ生殖系列レパートリーは、ヌクレオチド配列相同性に基づいて10ファミリーに分類される（Williams et al., 1996, J. Mol. Biol., 264, 220~232）。Joe 9の軽鎖可変領域とVBASEデータベースから選択された軽鎖生殖系列配列との比較によって、Joe 9はDPL8_λ生殖系列に類似することが明らかとなった。Joe 9 V_Lは、DPL8配列とフレームワーク位置のみが異なり、他のV_λ1ファミリーメンバーのフレームワーク配列と相同性が高い。Joe 9 とのアミノ酸配列および標準構造の高い類似性に基づいて、他のV_λ1ファミリーメンバーを使用してヒトIL-12に結合する抗体を作製することができる。これを、例えば、鎖シャフリング技術による適切なV_Lの選択（Winter et al., 前出）または本発明の抗体由来のCDRを含む齧歯類または他のヒト抗体由来のCDRのV_λ1ファ

ミリーフレームワークへの移植によって行うことができる。

【 0 1 5 4 】

本発明の方法は、生殖系列配列の V_H 3 ファミリーメンバー由来の重鎖可変部および生殖系列配列の V_L 1 ファミリーメンバー由来の軽鎖可変部を含むことが意図される。さらに、当業者は、任意の V_H 3 ファミリー重鎖配列メンバーを任意の V_L 1 ファミリー軽鎖配列と組み合わせることができることを認識する。

【 0 1 5 5 】

当業者はまた、生殖系列のアミノ酸配列を変化させる DNA 配列多形が集団（例えば、ヒト集団）内に存在し得ることを認識する。このような生殖系列配列中の遺伝的多形性は、天然の対立遺伝子の変異によって、集団内の個体間に存在し得る。このような天然の対立遺伝子の変異により、典型的には、遺伝子のヌクレオチド配列の 1 ~ 5 % が変異し得る。天然の対立遺伝子変異の結果である任意のおよび全てのこのようなヌクレオチド変異および得られた生殖系列配列中のアミノ酸多形は、本発明の範囲内であることが意図される。

【 0 1 5 6 】

したがって、1つの態様では、本発明は、以下の特徴：

a) ヒト IL - 12 に結合し、表面プラスモン共鳴で測定したところ 0.1 s^{-1} の k_{off} 速度定数でヒト IL - 12 から解離するか、*in vitro* フィトヘマグルチニン芽細胞増殖アッセイ（PHA アッセイ）において $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、

b) V_H 3 生殖系列ファミリーメンバーから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変部を有し、前記重鎖可変部は接触または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基との変異を有し、

c) V_L 1 生殖系列ファミリーメンバーから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有し、前記軽鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基との変異を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

【 0 1 5 7 】

好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、重鎖 CDR 3 中に変異を有する。

【 0 1 5 8 】

別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、軽鎖 CDR 3 中に変異を有する。

【 0 1 5 9 】

別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、重鎖 CDR 2 中に変異を有する。

【 0 1 6 0 】

別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、軽鎖 CDR 2 中に変異を有する。

【 0 1 6 1 】

別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、重鎖 CDR 1 中に変異を有する。

【 0 1 6 2 】

別の好ましい実施形態では、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分は、軽鎖 CDR 1 中に変異を有する。

【 0 1 6 3 】

当業者は、 V_H 3 生殖系列ファミリーメンバー間および軽鎖 V_L 1 生殖系列ファミリーメンバー間の高いアミノ酸配列の類似性に基づいて、生殖系列配列の変異によりヒト IL - 12 に結合するさらなる抗体を得ることができることを認識する。表 1（添付物 A を参照のこと）は、 V_H 3 ファミリーメンバーの生殖系列配列を示し、ファミリーメンバー内に有意な配列相同性を示す。表 1 はまた、 V_L 1 ファミリーメンバーの生殖系列配列を示す

。比較のために、J o e 9 の重鎖および軽鎖配列を示す（例えば J o e 9 における変異）。生殖系列配列の V_H 3 または V_λ 1 ファミリーメンバーへの変異を、例えば、本発明の抗体中で作製した同一のアミノ酸位置で作製することができる。このような修飾法を、標準的な分子生物学技術（PCR 変異誘発、軽鎖および/または重鎖 CDR 中の各接触または過剰変異アミノ酸残基の標的化、その後の本明細書中に記載の修飾抗体の速度および機能的分析（例えば、実施例 3 に記載の中和アッセイおよび実施例 5 に記載の B I A コア分析）など）を用いて行うことができる。

【0164】

したがって、1つの態様では、本発明は、以下の特徴：

- a) 配列番号 595 ~ 667 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変部を有し、前記重鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基との変異を有し、
- b) 配列番号 669 ~ 675 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有し、前記軽鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基との変異を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

10

【0165】

当業者は、J o e 9 と C O S - 3 重鎖生殖系列配列との間および J o e 9 と D P L 8 λ 生殖系列配列との間の高いアミノ酸配列の類似性に基づいて、これらの生殖系列配列の CDR 領域への変異によりヒト I L - 12 に結合するさらなる抗体を得ることができることを認識する。このような修飾法を、上記の標準的な分子生物学技術を用いて行うことができる。

20

【0166】

したがって、1つの態様では、本発明は、以下の特徴：

- a) ヒト I L - 12 に結合し、表面プラスモン共鳴で測定したところ 0.1 s^{-1} 以下の k_{off} 速度定数でヒト I L - 12 から解離するか、*in vitro* フィトヘマグルチニン芽細胞増殖アッセイ（PHA アッセイ）において $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
- b) C O S - 3 生殖系列アミノ酸配列を含む重鎖可変部を有し、前記重鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基との変異を有し、
- c) D P L 8 生殖系列アミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有し、前記軽鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基との変異を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

30

【0167】

軽鎖および重鎖可変領域中の CDR およびフレームワーク領域中に重要な部位を示す一定のアミノ酸残基により、これらの領域に構造的特徴が付与される。特に、CDR 2 および CDR 1 領域を、標準構造分類に供する。ファミリーメンバー間のアミノ酸配列の相同性が高いので、これらの標準構造の特徴は、ファミリーメンバー間に存在する。当業者は、これらの標準構造を付与するアミノ酸残基での修飾により、I L - 12 に結合するさらなる抗体が得られることを認識する。上記の標準的な分子生物学的技術を用いて修飾を行うことができる。

40

【0168】

したがって、1つの態様では、本発明は、以下の特徴：

- a) ヒト I L - 12 に結合し、表面プラスモン共鳴で測定したところ 0.1 s^{-1} 以下の k_{off} 速度定数でヒト I L - 12 から解離するか、*in vitro* フィトヘマグルチニン芽細胞増殖アッセイ（PHA アッセイ）において $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でフィトヘマグルチニン芽細胞増殖を阻害し、
- b) V H 3 生殖系列ファミリーメンバーから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変部を有し、前記重鎖可変部は他の V H 3 生殖系列ファミリーメンバー由来の CDR 2 に構造的

50

に類似したCDR2および他のVH3生殖系列ファミリーメンバー由来のCDR1に構造的に類似したCDR1を含み、前記重鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基との変異を有し、

c) V λ 1生殖系列ファミリーメンバーから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変部を有し、前記軽鎖可変部は他のV λ 1生殖系列ファミリーメンバー由来のCDR2に構造的に類似したCDR2および他のV λ 1生殖系列ファミリーメンバー由来のCDR1に構造的に類似したCDR1を含み、前記軽鎖可変部は好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過剰変異位置での活性を向上させるアミノ酸残基との変異を有する、単離ヒト抗体またはその抗原結合部分を特徴とする。

【0169】

本発明の組換えヒト抗体は、VBASEデータベースから選択されたヒト生殖系列免疫グロブリン配列である可変部および定常部を有する。組換えヒト抗体への変異（例えば、無作為変異誘発またはPCR変異誘発による）により、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸が得られる。また、ヒトドナー由来の組換え抗体ライブラリーは、B細胞の発達の間にかかる体細胞変異の正常な工程による対応する生殖系列配列と異なる抗体配列を含む。PCR増幅によって得られた「生殖系列」配列が真の生殖系列構成由来のフレームワーク領域中の異なるアミノ酸（すなわち、真の生殖系列配列と比較して異なる増幅配列）をコードする場合、これらのアミノ酸の相違を真の生殖系列配列に戻すように変化させる（すなわち、フレームワーク残基の生殖系列構成への「復帰突然変異」）ことが望ましいことに留意すべきである。したがって、本発明は、任意選択的に復帰突然変異工程を含み得る。これを行うために、最初に生殖系列によってコードされる軽鎖および重鎖のアミノ酸配列（例として、VBASEデータベースに見出される）を、変異した免疫グロブリン重鎖および軽鎖フレームワークアミノ酸配列と比較して、最も密接な生殖系列配列と異なる変異免疫グロブリンフレームワーク配列中のアミノ酸残基を同定する。次いで、どのヌクレオチドを変化させるべきであるかどうかを決定するために、変異免疫グロブリン配列の適切なヌクレオチドを、遺伝コードを用いて生殖系列配列に対応するように復帰変異させる。変異免疫グロブリンフレームワーク配列の変異誘発を、標準的な方法（PCR媒介変異誘発（PCR産物が変異を含むように変異ヌクレオチドをPCRプライマーに組み込む）または部位特異的変異誘発など）によって行う。復帰突然変異の候補として同定された各アミノ酸の役割を抗原結合における直接的または間接的役割について調査すべきであり、ヒト抗体の任意の所望の特徴に影響を与える変異後に見出されるいかなるアミノ酸も最終ヒト抗体に含まれるべきではない（例として、選択的変異誘発アプローチによって同定された活性を向上させるアミノ酸を復帰突然変異に供さない）。変異誘発に起因する抗体の特徴の同定アッセイには、ELISA、競合ELISA、*in vitro*および*in vivo*中和アッセイ、および/または種々の供給源（ヒト、霊長類、および/または他の種を含む）由来の組織片を用いた免疫組織化学（例えば、実施例3を参照のこと）を含み得る。

【0170】

復帰突然変異に供されるアミノ酸数を最小化するために、第2の生殖系列配列が本発明のヒト抗体配列の少なくとも10個、好ましくは20個のアミノ酸と問題の両アミノ酸部位で同一であり、かつ共直線性である場合、最も密接な生殖系列配列と異なるが第2の生殖系列配列中の対応するアミノ酸に同一であると認められたアミノ酸位置を存続させ得る。これにより、本発明のヒト抗体で治療された対象中の専門的抗原提示細胞により免疫系に提示された任意のエピトープは外来でなく、自己抗原（すなわち、第2の生殖系列配列によってコードされる免疫グロブリン）とは同一であることを確実にするであろう。復帰突然変異は、抗体最適化の任意の段階で起こり得る。好ましくは、復帰突然変異は、選択的変異誘発アプローチの直前または直後に起こる。より好ましくは、復帰突然変異は、選択的変異誘発アプローチの直前に起こる。

【0171】

III. 好ましい選択的変異誘発位置、接触位置および/または過剰変異位置に対する修飾

典型的には、親和性が改善された抗体の選択は、上記の第 I I 節に記載されているようにファージディスプレイ法を使用して行うことができる。これは、C D R 残基の組合せをランダムに変異させて、異なる配列の抗体を含む大きなライブラリーを作製することによって達成することができる。しかし、これらの選択法が機能するためには、抗体抗原反応が、より大きな親和性を有する抗体の抗原に対する優先的な結合が、時間経過にわたって可能にする平衡になるようにならなければならない。平衡を達成させるための選択条件は、ファージディスプレイ法が、達成された特定の親和性レベル（すなわち、抗体 Y 6 1 の親和性レベル）を得る際に、選択された抗 I L - 1 2 抗体の親和性を改善するために使用された場合、（おそらくは、抗原とファージ粒子との間でのさらなる非特異的な相互作用のために）決定することができない。従って、さらにより大きな親和性を有する抗体は、ファージディスプレイ法によって選択することができない。このため、少なくともある種の抗体または抗原の場合、ファージディスプレイ法は、大きく改善された結合特異性 / 親和性を有する抗体を選択するその能力に限界がある。従って、抗体のファージディスプレイ親和性成熟化を必要としない選択的変異誘発法と名付けられた方法が、このような限界を克服するために確立されており、本発明により提供される。この選択的変異誘発法は、ファージディスプレイシステムを使用する限界を克服するために開発されたが、この方法はまたファージディスプレイシステムとともに使用できることに留意しなければならない。さらに、選択的変異誘発法は、任意の抗体の活性を改善するために使用することができる。

10

【 0 1 7 2 】

20

抗体の活性（例えば、親和性または中和活性）を改善するために、理想的には、重鎖および軽鎖の両方におけるすべての C D R 位置をすべての他の可能なアミノ酸残基に変異させることが考えられる。しかし、平均して 7 0 個の C D R 位置が抗体内に存在するために、そのような方法は、非常に時間がかかり、かつ手間のかかるものである。従って、本発明の方法は、重鎖および / または軽鎖の C D R において特定の選択された残基のみを変異させることによって抗体の活性を改善することができる。さらに、本発明の方法は、抗体の他の望ましい性質に影響を及ぼすことなく抗体の活性を改善することができる。

【 0 1 7 3 】

抗体可変領域のどのアミノ酸残基が抗原と接触しているかを決定することは、一次配列または可変領域内のその位置に基づいて正確に予測することができない。それにもかかわらず、種々の特異性を有する抗体に由来する配列の K a b a t らによって行われた配列比較により、様々な C D R が、抗体間で著しく異なる可変領域内の局所領域として同定された（K a b a t ら（1971）、Ann. N Y Acad. Sci. 190 : 382 ~ 393 ; K a b a t , E . A . ら（1991）、Sequences of Protein s of Immunological Interest、第5版、米国保健社会福祉省、N I H 刊行物番号 9 1 - 3 2 4 2 ）。構造的な研究により、抗原結合表面が、C D R に存在するアミノ酸残基によって形成されることが明らかにされている。C D R の外側に位置する他のアミノ酸残基もまた、構造的役割を果たしていること、または抗原結合に直接関わっていることが知られている。従って、それぞれの抗原 - 抗体ペアについて、C D R 内または C D R 外に存在するアミノ酸残基が重要であり得る。

30

40

【 0 1 7 4 】

T o m l i s o n らによる配列比較研究により、体細胞変異の頻発部位である多数の位置が、重鎖および軽鎖の C D R 1 および C D R 2 において、そして κ 鎖 C D R 3 の一部において同定された（T o m l i s o n ら（1996）、J . M o l . B i o l . 256 : 813 ~ 817 ）。特に、H 3 1、H 3 1 B、H 3 3、H 3 3 B、H 5 2 B、H 5 6、H 5 8、L 3 0、L 3 1、L 3 1 A、L 5 0、L 5 3、L 9 1、L 9 2、L 9 3 および L 9 4 の位置が体細胞変異の頻発部位として同定された。しかし、この分析は、重要な重鎖の C D R 3 領域、および抗体結合部位の中心に位置することが知られ、そして抗原との重要な相互作用を潜在的にもたらす軽鎖 C D R 3 の選択が含まれていない。さらに、T o m l i s o n らは、体細胞の多様性のみから抗原結合における特定のアミノ酸の役割は必ずしも

50

予測されないことを提案し、そして抗原と接触する保存されたアミノ酸残基、および抗原と接触しない種々のアミノ酸残基を示唆している。この結論は、抗体親和性に対する体細胞変異の役割に関する変異研究によってさらに裏付けられている (Sharon (1990)、PNAS、87:4814~7)。高親和性の抗 p - アゾフェニルアルソナート (Ars) 抗体における 19 個の体細胞変異が、その対応する生殖細胞残基と同時に置換された。これにより、活性が 200 分の 1 に低下した生殖細胞型の抗 Ars 抗体が作製された。抗 Ars 抗体の完全な親和性は、19 個の体細胞変異のうちの 3 つのみを元に戻すことによって回復させることができる。このことは、抗原結合活性に寄与していない多くの体細胞変異が可能であり得ることを示している。

【0175】

10

この結果は、抗体多様性自身の性質によって一部が説明され得る。未成熟な B 細胞は、多数の自己抗原または非自己抗原を認識する低親和性の抗体を最初に産生し得る。さらに、抗体は、自己反応性を生じさせ得る配列変化を親和性成熟化の途中で受けることがある。そのような低親和性抗体の過変異は、自己反応性の破棄 (「ネガティブ選択」) をもたらし、外来抗原に対する親和性を増大させるために役立ち得る。従って、非常に多数の抗体の一次構造データを分析することにより、(1) 望ましくない抗原に対する親和性を低下させるプロセスに対する親和性成熟化プロセスにおける体細胞の過変異部位の役割、または (2) 特定のアミノ酸が特異的な抗原 - 抗体ペアの性質にどのように寄与しているか、のいずれかを予測する方法は得られない。

【0176】

20

抗原認識における特定のアミノ酸残基の役割を明らかにする他の試みが、抗原抗体複合体の多数の結晶構造を分析することによって行われた (MacCallum ら (1996)、J. Mol. Biol. 262:732~745)。CDR 内および CDR 外に存在する位置の潜在的な役割が示された。26 個の分析された構造のうち 10 個を越える構造において抗原結合に関与する CDR 内の位置は、重鎖内の H31、H33、H50、H52、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98 および H100、ならびに軽鎖内の L30A、L32、L91、L92、L93、L94、L96 を含んでいた。しかし、著者らは、これらおよび他の構造データを使用する抗原接触部の予測は接触位置を過大または過少に予測し得ることを認めた。これにより、異なる方法が種々の抗原に対して適用され得なければならないという考えに至った。

30

【0177】

Pini らは、抗体の親和性を迅速に増大させるために、大きなファージディスプレイライブラリーにおいて抗体 CDR 配列内の多数の残基をランダム化することを記載している (Pini ら (1998)、J. Biol. Chem. 273:21769~21776)。しかし、Pini らにより議論された高親和性抗体は、合計で 8 カ所の位置に変異を有していたが、どの変化が抗体の親和性を改善するために絶対的に必要とされるかに関する還元的分析は、必要とされる最小数のアミノ酸について試験しなければならない可能な組合せが非常に多いために実施可能になっていない。

【0178】

さらに、多数の残基をランダム化することにより、抗体の他の所望する性質は必ずしも維持され得ない。抗体の望ましい性質または特性は当分野では認識されており、これには、例えば、非交差反応性 (例えば、他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性) の維持、およびヒト生殖系列の免疫グロブリン配列に近い抗体配列の維持、中和能の改善が含まれる。他の望ましい性質または特性には、種間反応性を維持する能力、エピトープ特異性を維持する能力、および哺乳動物細胞におけるタンパク質の高発現レベルを維持する能力が挙げられる。これらの望ましい性質または特性は、ELISA、競合的 ELISA、in vitro 中和アッセイおよび in vivo 中和アッセイ (例えば、実施例 3 を参照のこと)、ヒト、霊長類または必要とされ得る場合には他の供給源を含む種々の供給源に由来する組織切片を用いた免疫組織化学、および一過性発現または安定発現を使用する哺乳動物細胞における発現に対する研究 (これらに限定されない) を含む当分野で認識

40

50

されている技術を使用して観測または測定することができる。

【 0 1 7 9 】

さらに、P i n i らの方法は、親和性を改善するために実際に必要とされる最小数よりも多くの変化が導入されることがあり、そしてヒト対象における抗体誘発抗ヒト抗体 (H A M A) 形成をもたらす得る。

さらに、随所に議論されているように、本明細書中で明らかにされているファージディスプレイ、またはリボソームディスプレイを含む他の関連する方法は、抗体と抗原との間におけるある種の親和性に達する際には適切に機能しないことがあり、そして平衡に達するために必要とされる条件は、他のファージ成分またはリボソーム成分と抗原との相互作用を含むさらなる相互作用のために合理的な時間枠で確立することができない。

10

【 0 1 8 0 】

当業者は、上記に議論された参考の教示から、抗体多様性の起源に関する注目される科学的情報を少しずつ集めることができる。しかし、本発明は、特異的な抗原 - 抗体ペアの抗体親和性を、抗体の他の関連する特徴または望ましい特性を維持しながら増大させる方法を提供する。これは、抗原結合性を含む特定の抗体に関する多数の種々の特性が付与されるという望ましさを考慮する場合には特に重要である。

【 0 1 8 1 】

出発抗体が、保持しなければならない望ましい性質または特性を有する場合、選択的変異誘発法は、抗体の活性を改善しながら、これらの望ましい性質を維持させるための最良の方法であり得る。例えば、Y 6 1 の変異誘発において、その目的は、h I L - 1 2 に対する親和性を増大させることであり、そして所望する性質を維持しながら抗体の中和能を改善することであった。Y 6 1 の所望される性質には下記が含まれる：(1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、(2) 細かいエピトープ特異性の維持、すなわち、p 4 0 エピトープを、好ましくは p 7 0 (p 4 0 / p 3 5) ヘテロダイマーの状況下で認識し、それにより、遊離している可溶性 p 4 0 からの結合妨害を防止すること；および(3) その個々の生殖系列の免疫グロブリン配列にできる限り近い重鎖アミノ酸配列および軽鎖アミノ酸配列を有する抗体の生成。

20

【 0 1 8 2 】

1 つの実施形態において、本発明の方法は、抗体の望ましい性質または特性を維持し、同時にその親和性および / または中和能を改善するための方法としての選択的変異誘発法を提供する。用語「選択的変異誘発法」は、上記に定義されている通りであり、選択されたアミノ酸残基を個々に変異させる方法を含む。変異させるアミノ酸残基は、好ましい選択的変異誘発位置から最初に選択され、次いで接触位置から選択され、次いで過変異位置から選択され得る。個々の選択された位置は少なくとも 2 つの他のアミノ酸残基に変異させることができ、そして抗体の所望する性質と抗体活性における改善との両方に対する変異の影響が明らかにされる。

30

【 0 1 8 3 】

この選択変異誘発法は下記の工程を含む：

候補位置を、1) 好ましい選択的変異誘発位置；2) 接触位置；3) 過変異位置の順で選択して、その位置を抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域における位置の場所 (C D R 1 よりも C D R 2 が好ましく、C D R 2 よりも C D R 3 が好ましい) に基づいて評価する工程；

40

活性増強アミノ酸残基を決定するために、候補の好ましい選択的変異誘発位置、過変異位置および / または接触位置を、評価した順にすべての可能な他のアミノ酸残基に個々に変異させ、そして抗体の活性について個々の変異の影響を分析する工程；

必要な場合には、個々の活性増強アミノ酸残基の段階的な組合せを行い、抗体の活性に対する様々な組合せの影響を分析する工程；活性増強アミノ酸残基を有する変異型抗体を選択して、その免疫原能に関してアミノ酸置換の存在位置および正体に基づいて変異型抗体を評価する工程。最も大きな評価付けが、生殖系列データベースに記載されている可変領域配列にほぼ一致するアミノ酸配列を含む変異型抗体、あるいは他のヒト抗体に匹敵し得

50

るアミノ酸配列を有する変異型抗体に与えられる。低い評価付けが、生殖系列配列または他のヒト抗体の配列のいずれかにおいて稀にしか見出されないアミノ酸置換を含有する変異型抗体に与えられる。最も低い評価付けが、生殖系列配列または他のヒト抗体の配列において見出されないアミノ酸置換を有する変異型抗体に与えられる。上記に示されているように、CDR3内に存在する活性増強アミノ酸残基を少なくとも1つ含む変異型抗体はCDR2よりも好ましく、CDR2はCDR1よりも好ましい。重鎖可変領域のCDRは、軽鎖可変領域のCDRよりも好ましい。

【0184】

変異型抗体はまた、例えば、その対応する元の抗体と比較した場合、活性の改善について調べることができる。変異型抗体の活性の改善は、例えば、中和アッセイによって、あるいは表面プラズモン共鳴分析（実施例3を参照のこと）による結合特異性／親和性によって測定することができる。好ましくは、活性の改善は、元の抗体よりも少なくとも2倍～20倍大きくなり得る。活性の改善は、元の抗体よりも少なくとも「 x_1 」倍～「 x_2 」倍大きくなり得るが、この場合、「 x_1 」および「 x_2 」は、2～20の間および2～20を含む整数であり、定められた範囲内の様々な範囲（例えば2～15、例えば5～10）を含む。

10

【0185】

活性増強アミノ酸残基を有する変異型抗体はまた、少なくとも1つの他の望ましい性質が変異後に保持されているかどうかを明らかにするために調べることができる。例えば、抗hIL-12抗体を用いて、（1）他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、（2）エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70（p40/p35）ヘテロダイマーの状況下で認識し、それにより、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること；および（3）その個々の生殖系列の免疫グロブリン配列にできる限り近い重鎖アミノ酸配列および軽鎖アミノ酸配列を有する抗体の生成について、そして生殖系列配列との差の数に基づいて、どれがヒト免疫応答を引き出す可能性が最も低いかを決定するために調べられる。同じ観察を、望ましい性質または特性の保持が生じているかどうかを明らかにするために、2つ以上の活性増強アミノ酸残基、例えば、少なくとも2つまたは少なくとも3つの活性増強アミノ酸残基を有する抗体について行うことができる。

20

【0186】

Y61の変異誘発における「選択的変異誘発法」の使用例が下記に記載されている。H31S→E、L50→YまたはL94G→Yのそれぞれの変異は、抗体の中和活性をそれぞれ改善した。しかし、混合クローンを調べた場合、H31S→E+L50→Y+L94G→Yの混合クローンの活性は、L50→Y+L94G→Y（J965）と同じくらいにすぎなかった。従って、CDR1の31位における生殖系列アミノ酸残基をSerからGluに変化させることは、Y61を越えるJ965の改善された活性には必要なかった。従って、選択的変異誘発法により、最終的な活性に寄与し、それにより最終的な抗体の免疫原能を低下させ、かつ抗体の他の所望する性質を維持する変化の最小数が確認された。

30

【0187】

選択的変異誘発法によって得られるVHおよびVLをコードする単離されたDNAは、第IV節に記載されているように、全長の抗体鎖遺伝子に、Fabフラグメント遺伝子に、またはscFV遺伝子に変換することができる。選択的変異誘発法によって得られるVH領域およびVL領域を発現させるために、重鎖および軽鎖をコードする発現ベクターを、第IV節に詳しく記載されているように様々な宿主細胞にトランスフェクションすることができる。好ましい宿主細胞には、原核生物宿主細胞（例えば、大腸菌）または真核生物宿主細胞（例えば、酵母細胞、例えば、S.cerevisiae）のいずれかが含まれる。最も好ましい真核生物宿主細胞は、第IV節に詳しく記載される哺乳動物宿主細胞である。

40

【0188】

選択的変異誘発法は、他の手段による抗体の事前の親和性成熟化を伴うことなく改善され

50

た活性を有する抗体の産生方法を提供する。選択的変異誘発法は、活性が改善され、かつ復帰変異にさらされた抗体の産生方法を提供する。選択的変異誘発法はまた、親和性が成熟した抗体の活性を改善する方法を提供する。

【0189】

当業者は、選択的変異誘発法が、当分野で知られている標準的な抗体操作技術において使用できることを認識している。例として、CDRグラフト化抗体、キメラ抗体、scFVフラグメント、全長抗体のFabフラグメント、および他の供給源（例えば、トランスジェニックマウス）に由来するヒト抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0190】

抗体の迅速で大規模な変異分析には、リボソームディスプレイ技術を使用する *in vitro* での転写および翻訳が含まれる（例えば、Hanesら（1997）*Proc. Natl. Acad. Sci.* 94:4937~4942; Dall'Acquaら（1998）*Curr. Opin. Struct. Biol.* 8:443~450; Heら（1997）*Nucleic Acid Res.* 25:5132~5134; ならびに米国特許第5,643,768号および同第5,658,754号（ともにKawasaki）を参照のこと）。選択的変異誘発法はまた、リボソームディスプレイ技術を使用して選択することができる改善された活性を有する抗体の産生方法を提供する。

【0191】

本発明の方法において、抗体またはその抗原結合部分は、HCVRおよび/またはLCVRのCDRにおいて個々の位置を変化させることによってさらに改変される。このような改変はファージディスプレイ抗体において行うことができるが、この方法は、細菌発現系、酵母発現系または哺乳動物細胞発現系などの他のタイプの宿主系において発現される抗体を用いて実施され得るという点で好都合である。改変のために選択されるCDR内の個々の位置は、接触位置および/または過変異位置である位置に基づく。

【0192】

好ましい接触位置および過変異位置は、本明細書中に定義されているが、表3（付録A参照）に示されており、本発明の方法によるその改変は実施例2に詳しく記載される。好ましい接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96からなる群から選択される。好ましい過変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53およびL93からなる群から選択される。より好ましいアミノ酸残基（これは「好ましい選択的変異誘発位置」と呼ばれる）は、接触位置および過変異位置の両方であり、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94からなる群から選択される。特に好ましい接触位置は、L50およびL94からなる群から選択される。

好ましい活性増強アミノ酸残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96からなる群から選択される位置に存在するアミノ酸残基と置換される。より好ましい活性増強アミノ酸残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94の位置に存在するアミノ酸残基と置換される。特に、好ましい活性増強アミノ酸残基は、L50およびL94からなる群から選択される位置に存在するアミノ酸残基と置換される。

【0193】

一般に、本発明の方法は、目的とする元の抗体の重鎖もしくは軽鎖のCDRまたはその抗原結合部分の内部における特に好ましい選択的変異誘発位置、接触位置および/または過変異位置を選択すること、活性増強アミノ酸残基の発現を同定するために、そのような個々

10

20

30

40

50

の位置を（例えば、改変された抗体の「ミニライブラリー」を作製するために変異誘発オリゴヌクレオチドを使用する遺伝子手段によって）ランダムに変異させるか、または位置を特定の所望するアミノ酸に変異させること、および改変された抗体を（例えば、非ファージディスプレイ宿主系において）精製すること、抗原に対する改変された抗体の活性を（例えば、B I A c o r e 分析による k_{off} 速度を測定することによって）測定すること、必要な場合には他の C D R 位置についてこれらの工程を繰り返すこと、および改善された活性を有することが明らかにされた個々の変異を組み合わせること、およびこの組合せにより、元の抗体またはその抗原結合部分よりもさらに大きな活性（例えば、親和性または中和能）を有する抗体が得られるかどうかを調べることを含む。

【0194】

従って、1つの実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して改善された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

- a) 元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；
- b) 相補性決定領域 (C D R) 内の、1) 好ましい選択的変異誘発位置、2) 接触位置、または3) 過変異位置を変異のためにこの順で選択し、それにより、選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を同定すること；
- c) 前記の選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製すること；
- d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること；
- e) 必要な場合には、少なくとも1つの他の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置について工程 a) ~ d) を繰り返すこと；
- f) 改善された活性を有することが明らかにされた個々の変異を元の抗体またはその抗原結合部分において組み合わせて、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；および
- g) 混合抗体またはその抗原結合部分の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること

を含む方法を提供する。好ましくは、選択された抗体（1つまたは2つ以上）は、上記に記載されているように、元の抗体の少なくとも1つの望ましい特性または性質を失っていないか、または元の抗体の少なくとも1つの望ましい特性または性質を保持している改善された活性を有する。そのような望ましい特性または性質は、当分野で認識されている技術を使用して当業者によって測定または観察され得る。

【0195】

好ましい接触位置は、H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4 および L 9 6 からなる群から選択される。好ましい過変異位置は、H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 5 2、H 5 6、H 5 8、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 5 3 および L 9 3 からなる群から選択される。より好ましい選択的変異誘発位置は、H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 5 2、H 5 6、H 5 8、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 5 0、L 9 1、L 9 2、L 9 3 および L 9 4 からなる群から選択される。特に好ましい接触位置は、L 5 0 および L 9 4 からなる群から選択される。

【0196】

別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して改善された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

- a) 元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；
- b) 相補性決定領域 (C D R) 内の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異

位置を変異のために選択すること；

c) 前記の選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製すること；

d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e) 必要な場合には、少なくとも1つの他の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置について工程a)～d)を繰り返すこと；

f) 改善された活性を有することが明らかにされた2つの個々の活性増強アミノ酸残基を元の抗体またはその抗原結合部分において組み合わせて、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；および

g) 2つの活性増強アミノ酸残基を有する混合抗体またはその抗原結合部分の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること

を含む方法を提供する。

【0197】

好ましい接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96からなる群から選択される。好ましい過変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53およびL93からなる群から選択される。より好ましい選択的変異誘発位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93およびL94からなる群から選択される。特に好ましい接触位置は、L50およびL94からなる群から選択される。

【0198】

別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して改善された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a) 元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

b) 相補性決定領域(CDR)内の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を変異のために選択すること；

c) 前記の選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製すること；

d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e) 必要な場合には、少なくとも1つの他の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置について工程a)～d)を繰り返すこと；

f) 改善された活性を有することが明らかにされた3つの個々の活性増強アミノ酸残基を元の抗体またはその抗原結合部分において組み合わせて、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；および

g) 2つの活性増強アミノ酸残基を有する混合抗体またはその抗原結合部分活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること

を含む方法を提供する。

【0199】

好ましくは、活性増強アミノ酸残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96からなる群から選択される位置に存在するアミノ酸残基と置換される。

【 0 2 0 0 】

個々の選択された位置を変異誘発させた後、変異クローンは、どのアミノ酸残基がそれぞれのクローンにおいて選択された位置に導入されているかを同定するために配列決定することができる。少数のクローン（例えば、約 2 4 個）が配列決定のために選択され得るが、これにより 1 0 個 ~ 1 5 個の重複しない抗体が統計学的に得られるはずであり、これに対して、より多くの数のクローン（例えば、6 0 個を越える）が、選択された位置にすべての可能な置換を有する抗体を確実に同定するために配列決定され得る。

【 0 2 0 1 】

1 つの実施形態において、重鎖および / または軽鎖の C D R 3 領域内の接触位置および / または過変異位置が変異誘発のために最初に選択される。しかし、ファージディスプレイ選択による C D R 3 領域のランダム変異誘発によって既に *i n v i t r o* で親和性の成熟化が生じた抗体の場合には、重鎖および / または軽鎖の C D R 1 内または C D R 2 内の接触位置および / または過変異位置を最初に選択することが好ましいと考えられる。

10

【 0 2 0 2 】

より好ましい実施形態において、重鎖および / または軽鎖の C D R 3 領域内の好ましい選択的変異誘発位置が変異誘発のために最初に選択される。しかし、ファージディスプレイ選択による C D R 3 領域のランダム変異誘発によって既に *i n v i t r o* で親和性の成熟化が生じた抗体の場合には、重鎖および / または軽鎖の C D R 1 内または C D R 2 内の好ましい選択的変異誘発位置を最初に選択することが好ましいと考えられる。

【 0 2 0 3 】

別の実施形態において、選択的変異誘発法による選択された抗体の最適化が、下記のように連続的に行われる：H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 5 2、H 5 6、H 5 8、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 5 0、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4 からなる群から選択される好ましい選択的変異誘発位置が、それぞれが少なくとも 2 つの他のアミノ酸（好ましくは、5 個 ~ 1 4 個の他のアミノ酸）に最初に変異させられ、得られた抗体は、増大した親和性、中和能について（そして可能であれば、本明細書中で議論されている少なくとも 1 つの他の保持された特性または性質についても）特徴付けが行われる。1 つの好ましい選択的変異誘発位置の変異により、親和性または中和能が全くかまたは十分に増大しない場合、そして好ましい選択的変異誘発位置においてアミノ酸を置換する多数の活性増強アミノ酸を組合せることによってさえも、目標とする活性（親和性および / または中和能を含む）を満たす混合抗体が得られない場合には、さらなるアミノ酸残基が、選択的変異誘発のために、H 3 5、H 5 0、H 5 3、H 5 4、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、L 3 0 A および L 9 6 からなる群から選択され、それぞれが少なくとも 2 つの他のアミノ酸（好ましくは、5 個 ~ 1 4 個の他のアミノ酸）に変異させられ、そして得られた抗体は、増大した親和性、中和能について（そして可能であれば、本明細書中で議論されている少なくとも 1 つの他の保持された特性または性質についても）特徴付けが行われる。

20

30

【 0 2 0 4 】

H 3 5、H 5 0、H 5 3、H 5 4、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、L 3 0 A および L 9 6 からなる群から選択される 1 個のアミノ酸残基の変異により、活性（親和性および / または中和能を含む）が全くかまたは十分に増大しない場合、そしてそのような位置においてアミノ酸を置換する多数の活性増強アミノ酸を組合せることによってさえも、目標とする活性（親和性および / または目標中和能を含む）を満たす混合抗体が得られない場合には、さらなるアミノ酸残基が、選択的変異誘発のために、H 3 3 B、H 5 2 B、L 3 1 A からなる群から選択され、それぞれが少なくとも 2 つの他のアミノ酸（好ましくは、5 個 ~ 1 4 個の他のアミノ酸）に変異させられ、そして得られた抗体は、増大した親和性、中和能について（そして可能であれば、本明細書中で議論されている少なくとも 1 つの他の保持されている特性または性質についても）特徴付けが行われる。

40

【 0 2 0 5 】

連続した選択的変異誘発法は、所望する活性（親和性および中和能を含む）を有する抗体が同定されると、上記に概略された任意の工程で終了してもよいことを理解しなければな

50

らない。予め選択された位置の変異誘発により、活性増強アミノ酸残基が同定され、しかし混合抗体が、活性（親和性および中和能を含む）について示された目標を依然として満たさない場合、および／または同定された活性増強アミノ酸もまた他の所望する特性に影響を及ぼし、従って同定された活性増強アミノ酸が受け入れられない場合には、残ったCDR残基を変異誘発に供することができる（第IV節を参照のこと）。

【0206】

本発明の方法は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善して、所定の目標とする活性（例えば、所定の親和性および／もしくは中和能、ならびに／または所望する性質もしくは特性）を得るために使用することができる。

【0207】

従って、本発明は、所定の目標とする活性を得るために抗体またはその抗原結合部分の活性を改善する方法であって、

- a) 元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；
- b) H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94からなる群から選択される好ましい選択的変異誘発位置を選択すること；
- c) 選択された選択的変異誘発位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、これにより変異抗体またはその抗原結合部分の第1の集団を作製すること；
- d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記第1の集団の活性を評価して、1個の選択的変異誘発位置の変異により、所定の目標とする活性または部分的な目標とする活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られているかどうかを明らかにすること；
- e) 改善された活性を有することが明らかにされた個々の変異を段階的な様式で元の抗体またはその抗原結合部分において組み合わせて、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；
- f) 混合抗体またはその抗原結合部分の活性を評価して、混合抗体またはその抗原結合部分が所定の目標とする活性または部分的な目標とする活性を有するかどうかを明らかにすること；
- g) 工程d)またはf)により、所定の目標とする活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られない場合、または部分的な活性のみを有する抗体が得られる場合には、H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30AおよびL96からなる群から選択されるさらなるアミノ酸残基を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の第2の集団を作製すること；
- h) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記第2の集団の活性を評価して、H35、H50、H53、H54、H95、H96、H97、H98、L30AおよびL96からなる群から選択される1個のアミノ酸残基の変異により、所定の目標とする活性または部分的な活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られているかどうかを明らかにすること；
- i) 改善された活性を有することが明らかにされた工程g)の個々の変異を段階的な様式で元の抗体またはその抗原結合部分において組み合わせて、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；
- j) 混合抗体またはその抗原結合部分の活性を評価して、混合抗体またはその抗原結合部分が所定の目標とする活性または部分的な目標とする活性を有するかどうかを明らかにすること；
- k) 工程h)またはj)により、所定の目標とする活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られない場合、または部分的な活性のみを有する抗体が得られる場合には、H33B、H52BおよびL31Aからなる群から選択されるさらなるアミノ酸残基を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の第3の集団を作製すること；
- l) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記第3の集団の活性を評価して、H33B、H52BおよびL31Aからなる群から選択される1個のアミノ酸残基の変異により、所定

10

20

30

40

50

の目標とする活性または部分的な活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られたかどうかを明らかにすること；

m) 改善された活性を有することが明らかにされた工程 k) の個々の変異を段階的な様式で元の抗体またはその抗原結合部分において組み合わせ、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；

n) 混合抗体またはその抗原結合部分の活性を評価して、混合抗体またはその抗原結合部分が所定の目標とする活性を有するかどうかを明らかにし、それにより、所定の目標とする活性を有する抗体またはその抗原結合部分を作製することを含む方法を提供する。

【0208】

多数の変異誘発方法を使用することができ、これには、PCRアセンブリー、Kunkel (dut - ung -) およびチオホスファート (Amersham Sculptor キット) オリゴヌクレオチド特異的変異誘発が含まれる。

10

【0209】

広範囲の宿主発現系を、変異抗体を発現させるために使用することができ、これには、細菌発現系、酵母発現系、バキュロウイルス発現系および哺乳動物発現系（ならびにファージディスプレイ発現系）が含まれる。好適な細菌発現ベクターの例として、pUC119 (Sfi) が挙げられる。他の抗体発現系が、当分野では知られており、かつ/または下記の第IV節に記載されている。

【0210】

本発明の方法によって作製された改変抗体またはその抗原結合部分は、選択のためにファージディスプレイ法に頼ることなく同定することができる。従って、本発明の方法は、ファージディスプレイシステムにおける選択によって得られたが、その活性をファージディスプレイシステムにおける変異誘発によってさらに改善することができない元の組換え抗体またはその抗原結合部分の活性を改善することに関して特に好都合である。

20

【0211】

従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の親和性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して改善された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a) ファージディスプレイシステムにおける選択によって得られたが、その活性を前記ファージディスプレイシステムにおける変異誘発によってさらに改善することができない元の組換え抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

30

b) 相補性決定領域 (CDR) 内の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を変異のために選択し、それにより、選択された接触位置または過変異位置を同定すること；

c) 前記の選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製し、そして前記集団を非ファージディスプレイシステムにおいて発現させること；

d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること；

40

e) 必要な場合には、少なくとも1つの他の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置について工程 b) ~ d) を繰り返すこと；

f) 改善された活性を有することが明らかにされた個々の変異を元の抗体またはその抗原結合部分において組み合わせ、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；および

e) 混合抗体またはその抗原結合部分の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること

を含む方法を提供する。

【0212】

好ましい接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H

50

52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96からなる群から選択される。好ましい過変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53およびL93からなる群から選択される。より好ましい選択的変異誘発位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93およびL94からなる群から選択される。特に好ましい接触位置は、L50およびL94からなる群から選択される。

【0213】

利用可能な方法の場合、増大した結合親和性および中和能を有し、同時に上記で議論されているような抗体の他の性質または特性を保持した抗体を得ることは不可能であるか、または極めて手間のかかることである。しかし、本発明の方法は、そのような抗体を容易に同定することができる。本発明の方法に供される抗体は任意の供給源から得ることができる。

10

【0214】

従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して、改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの性質または特性が保持されている抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

- a) 元の組換え抗体またはその抗原結合部分を提供すること；
 - b) 相補性決定領域(CDR)内の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を変異のために選択し、それにより、選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を同定すること；
 - c) 前記の選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製し、そして前記集団を適切な発現系において発現させること；
 - d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；
 - e) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団を、抗体において保持されなければならない少なくとも1つの他の性質または特性について元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること
- を含む方法を提供する。

20

30

【0215】

好ましい実施形態において、接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96からなる群から選択され、そして他の特性は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2)エプिटープ認識の維持、すなわち、p40エプिटープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3)生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

40

【0216】

別の好ましい実施形態において、過変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53およびL93からなる群から選択され、そして他の特性は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2)エプिटープ認識の維持、すなわち、p40エプिटープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3)生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

50

【0217】

より好ましい実施形態において、選択的変異誘発のための残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94からなる群からの選択的変異誘発位置から選択され、そして他の特性は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2)エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3)生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0218】

より好ましい実施形態において、接触位置は、L50およびL94からなる群から選択され、そして他の特性は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2)エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3)生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0219】

従って、特定の抗原に対する抗体の親和性を改善しなければならない場合、しかし、ファージディスプレイ法(またはリボソームディスプレイを含む関連した系)がもはや適用することができず、そして他の望ましい性質または特性を保持しなければならない場合に、本発明の方法を使用することができる。従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して、改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの性質または特性が保持されている抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a)ファージディスプレイシステムにおける選択によって得られたが、その活性を前記ファージディスプレイシステムにおける変異誘発によってさらに改善することができない元の組換え抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

b)相補性決定領域(CDR)内の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を変異のために選択し、それにより、選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を同定すること；

c)前記の選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製し、そして前記集団を非ファージディスプレイシステムにおいて発現させること；

d)変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e)元の抗体またはその抗原結合部分に対して、改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの性質または特性が保持されている抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を、保持されなければならない少なくとも1つの他の性質または特性について元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること；

f)必要な場合には、工程a)~e)を、少なくとも1つの他の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置について繰り返すこと；

g)改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの性質または特性が保持されたことが明らかにされた少なくとも2つの個々の活性増強アミノ酸残基を元の抗体またはその抗原結合部分において組み合わせ、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；および

h)混合抗体またはその抗原結合部分の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること

を含む方法を提供する。

【0220】

好ましい実施形態において、接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96からなる群の好ましい選択的変異誘発位置から選択され、そして他の特性は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2)エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3)生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0221】

10

別の好ましい実施形態において、過変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53およびL93からなる群からの好ましい選択的変異誘発位置から選択され、そして他の特性は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2)エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3)生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0222】

より好ましい実施形態において、選択的変異誘発のための残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94からなる群からの好ましい選択的変異誘発位置から選択され、そして他の特性は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2)エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3)生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

20

【0223】

より好ましい実施形態において、接触位置は、L50およびL94からなる群から選択され、そして他の特性は、1)他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2)エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3)生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

30

【0224】

別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して、改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの性質または特性が保持されている抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a)ファージディスプレイシステムにおける選択によって得られたが、その活性を前記ファージディスプレイシステムにおける変異誘発によってさらに改善することができない元の組換え抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

40

b)相補性決定領域(CDR)内の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を変異のために選択し、それにより、選択された接触位置または過変異位置を同定すること；

c)前記の選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製し、そして前記集団を非ファージディスプレイシステムにおいて発現させること；

d)変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

50

e) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団を、保持されなければならない少なくとも1つの他の性質または特性について元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること；

を含む方法を提供する。

【0225】

好ましい実施形態において、接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96からなる群から選択され、そして他の特性は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

10

【0226】

別の好ましい実施形態において、過変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53およびL93からなる群から選択され、そして他の特性は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

20

【0227】

より好ましい実施形態において、選択的変異誘発のための残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94からなる群から選択され、そして他の特性は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

30

【0228】

より好ましい実施形態において、接触位置は、L50およびL94からなる群から選択され、そして他の特性は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0229】

別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して、改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの性質または特性が保持されている抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

40

a) ファージディスプレイシステムにおける選択によって得られたが、その活性を前記ファージディスプレイシステムにおける変異誘発によってさらに改善することができない元の組換え抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

b) 相補性決定領域(CDR)内の好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を変異のために選択し、それにより、選択された接触位置または過変異位置を同定すること；

c) 前記の選択された好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合

50

部分の集団を作製し、そして前記集団を非ファージディスプレイシステムにおいて発現させること；

d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e) 元の抗体またはその抗原結合部分に対して、改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの性質または特性が保持されている抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団を、保持されなければならない少なくとも1つの他の性質または特性について元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること；

f) 必要な場合には、工程 a) ~ e) を、少なくとも1つの他の選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置について繰り返すこと；

g) 改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの性質または特性が保持されたことが明らかにされた少なくとも2つの個々の活性増強アミノ酸残基を元の抗体またはその抗原結合部分において組み合わせ、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；および
h) 混合抗体またはその抗原結合部分の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること

を含む方法を提供する。

【0230】

好ましい実施形態において、接触位置は、H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96からなる群から選択され、そして他の特性は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0231】

別の好ましい実施形態において、過変異位置は、H30、H31、H31B、H32、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L53およびL93からなる群から選択され、そして他の特性は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0232】

より好ましい実施形態において、選択的変異誘発のための残基は、H30、H31、H31B、H32、H33、H52、H56、H58、L30、L31、L32、L50、L91、L92、L93、L94からなる群から選択され、そして他の特性は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0233】

より好ましい実施形態において、接触位置は、L50およびL94からなる群から選択され、そして他の特性は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶性p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0234】

10

20

30

40

50

IV. 他のCDR残基の改変

最後には、所与の抗体抗原ペアにおけるすべてのCDR残基が、活性増強アミノ酸残基として必要であり、かつ/または抗原に対する結合のために、直接的または間接的に必要であり、および/または抗体の他の望ましい性質もしくは特性の保持のために必要であるいずれかの手段により同定される。そのようなCDR残基は「好ましい選択的変異誘発位置」として示される。特定の状況では、そのような好ましい選択的変異誘発残基はまた、抗体と抗原との同時結晶化および分子モデル化を含む他の手段によって同定できることに留意しなければならない。

【0235】

上記に記載されている好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置に注目して活性増強アミノ酸を同定する好ましい試みが検討し尽された場合、またはさらなる改善が必要とされる場合には、残ったCDR残基を下記に記載されているように改変することができる。抗体は、上記に議論されている実施形態に従って任意の1つまたは2つ以上の接触位置または過変異位置において既に改変されていてもよいが、さらなる改善が必要とされ得ることを理解しなければならない。従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して改善された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a) 元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

b) H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96とは異なる相補性決定領域(CDR)内のアミノ酸残基を変異のために選択すること；

c) 前記の選択された位置を、例えば、少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより、変異抗体、または変異抗体もしくはその抗原結合部分の集団を作製すること；

d) 前記変異抗体の活性、または変異抗体もしくはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e) 前記変異抗体、または変異抗体もしくはその抗原結合部分の前記集団を、少なくとも1つの他の性質または特性における変化について元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること

を含む方法を提供する。

【0236】

好ましくは、他の特性または性質は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶型p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0237】

1個の残基の変異誘発が十分でない場合、他の残基を含めることができる。従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して改善された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a) 元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

b) H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96とは異なる相補性決定領域(CDR)内のアミノ酸残基を変異のた

めに選択すること；

c) 前記の選択された位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製すること；

d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e) 工程b)で選択された位置、またはH30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96における位置のいずれでもない少なくとも1つの他のCDR位置について工程b)～d)を繰り返すこと；

f) 改善された活性を有することが明らかにされた少なくとも2つの個々の活性増強アミノ酸残基を元の抗体またはその抗原結合部分において組合せて、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；および

g) 2つの活性増強アミノ酸残基を有する混合抗体またはその抗原結合部分の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価することを含む方法を提供する。

【0238】

上記に記載されている接触位置または過変異位置に注目して活性増強アミノ酸を同定する好ましい試みが検討し尽された場合、またはさらなる改善が必要とされ、そして問題とする抗体が変異誘発およびファージディスプレイ（または関連したリボソームディスプレイ）法によってさらに最適化できない場合には、残ったCDR残基を下記に記載されているように改変することができる。抗体は、上記に議論されている実施形態に従って任意の1つまたは2つ以上の好ましい変異誘発位置、接触位置または過変異位置において既に改変されていてもよいが、さらなる改善が必要とされ得ることを理解しなければならない。

【0239】

従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して改善された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a) ファージディスプレイシステムにおける選択によって得られたが、その活性を前記ファージディスプレイシステムにおける変異誘発によってさらに改善できない元の組換え抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

b) H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94とは異なる相補性決定領域(CDR)内のアミノ酸残基を変異のために選択すること；

c) 前記の選択された接触位置または過変異位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製し、そして前記集団を非ファージディスプレイシステムにおいて発現させること；

d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団を、少なくとも1つの他の性質または特性における変化について元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価することを含む方法を提供する。

【0240】

好ましくは、他の特性または性質は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶型p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【 0 2 4 1 】

1個の変異誘発が抗体の親和性を増大させるために十分でない場合には、他の残基を変異誘発に含めることができる。従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して改善された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a) ファージディスプレイシステムにおける選択によって得られたが、その活性を前記ファージディスプレイシステムにおける変異誘発によってさらに改善することができない元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

b) H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4 および L 9 6 とは異なる相補性決定領域 (C D R) 内のアミノ酸残基を変異のために選択すること；

c) 前記の選択された位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製し、そして非ファージディスプレイシステムにおいて発現させること；

d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e) 工程 b) で選択された位置、または H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4 における位置のいずれでもない少なくとも1つの他の位置について工程 b) ~ d) を繰り返すこと；

f) 改善された活性を有することが明らかにされた少なくとも2つの個々の活性増強アミノ酸残基を元の抗体またはその抗原結合部分において組合せて、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；および

g) 2つの活性増強アミノ酸残基を有する混合抗体またはその抗原結合部分の活性および他の性質または特性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価することを含む方法を提供する。

【 0 2 4 2 】

好ましくは、他の特性または性質は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p 4 0 エピトープを、好ましくは p 7 0 p 4 0 / p 3 5 ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶型 p 4 0 からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【 0 2 4 3 】

記載されている好ましい選択的変異誘発位置、接触位置または過変異位置に注目して活性増強アミノ酸を同定する好ましい試みを徹底的に検討することができるか、あるいはさらなる改善が必要とされ得るが、抗体の他の性質または特性を保持することが重要である。

【 0 2 4 4 】

従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を、他の特性に影響を及ぼすことなく改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して、改善された活性を有し、かつ他の性質または特性が保持されている抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a) 元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

b) H 3 0、H 3 1、H 3 1 B、H 3 2、H 3 3、H 3 5、H 5 0、H 5 2、H 5 2 A、H 5 3、H 5 4、H 5 6、H 5 8、H 9 5、H 9 6、H 9 7、H 9 8、H 1 0 1、L 3 0、L 3 1、L 3 2、L 3 4、L 5 0、L 5 2、L 5 3、L 5 5、L 9 1、L 9 2、L 9 3、L 9 4 および L 9 6 とは異なる相補性決定領域 (C D R) 内のアミノ酸残基を変異のために選択すること；

c) 前記の選択された位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製すること；
 d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；
 e) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団を、元の抗体またはその抗原結合部分に対して、少なくとも1つの他の性質または特性における変化について評価することを含む方法を提供する。

【0245】

好ましくは、他の特性または性質は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40 エピトープを、好ましくは p70 p40 / p35 ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶型 p40 からの結合妨害を防止すること、および / または 3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0246】

1 残基の変異誘発が十分でない場合には、他の残基を含めることができる。従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して、改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの他の性質または特性が保持されている抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a) 元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；
 b) H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94 および L96 とは異なる相補性決定領域 (CDR) 内のアミノ酸残基を変異のために選択すること；

c) 前記の選択された位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製すること；

d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団を、元の抗体またはその抗原結合部分に対して、少なくとも1つの他の性質または特性における変化について評価すること

e) 工程 b) で選択された位置、または H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94 および L96 における位置のいずれでもない少なくとも1つの他の CDR 位置について工程 b) ~ e) を繰り返すこと；

f) 改善された活性を有することが明らかにされ、かつ少なくとも1つの他の性質または特性に影響を及ぼさない少なくとも2つの個々の活性増強アミノ酸残基を元の抗体またはその抗原結合部分において組合せて、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；
 および

g) 2つの活性増強アミノ酸残基を有する混合抗体またはその抗原結合部分の活性および少なくとも1つの他の性質または特性の保持を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること

を含む方法を提供する。

【0247】

好ましい選択的変異誘発位置、接触残基および過変異残基の変異誘発は、抗体の親和性を十分に増大させることができず、従って変異誘発およびファージディスプレイ法 (または関連するリボソームディスプレイ法) はもはや有用ではあり得ず、そして抗体の少なくとも1つの他の特性または性質は保持されなければならない。

【0248】

従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の親和性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して改善された活性を有する抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a) ファージディスプレイシステムにおける選択によって得られたが、その活性を前記ファージディスプレイシステムにおける変異誘発によってさらに改善することができない元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

b) H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96とは異なる相補性決定領域(CDR)内のアミノ酸残基を変異のために選択すること；

c) 前記の選択された位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製し、そして非ファージディスプレイシステムにおいて発現させること；

d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団を、元の抗体またはその抗原結合部分に対して、少なくとも1つの他の性質または特性における変化について評価することを含む方法を提供する。

【0249】

好ましくは、他の特性または性質は、1) 他のタンパク質またはヒト組織との非交差反応性の維持、2) エピトープ認識の維持、すなわち、p40エピトープを、好ましくはp70p40/p35ヘテロダイマーの状況下で認識して、遊離している可溶型p40からの結合妨害を防止すること、および/または3) 生殖系列の免疫グロブリン配列に類似した抗体を生成することから選択される。

【0250】

1残基の変異誘発が十分でない場合には、他の残基を含めることができる。従って、別の実施形態において、本発明は、抗体またはその抗原結合部分の活性を改善するための方法であって、元の抗体またはその抗原結合部分に対して、改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの他の特性または性質が保持されている抗体またはその抗原結合部分が得られるまで、

a) ファージディスプレイシステムにおける選択によって得られたが、その活性を前記ファージディスプレイシステムにおける変異誘発によってさらに改善することができない元の抗体またはその抗原結合部分を提供すること；

b) H30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96とは異なる相補性決定領域(CDR)内のアミノ酸残基を変異のために選択すること；

c) 前記の選択された位置を少なくとも2つの他のアミノ酸残基に個々に変異させ、それにより変異抗体またはその抗原結合部分の集団を作製し、そして非ファージディスプレイシステムにおいて発現させること；

d) 変異抗体またはその抗原結合部分の前記集団の活性および少なくとも1つの他の性質または特性の保持を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価し、それにより活性増強アミノ酸残基を同定すること；

e) 工程b)で選択された位置、またはH30、H31、H31B、H32、H33、H35、H50、H52、H52A、H53、H54、H56、H58、H95、H96、H97、H98、H101、L30、L31、L32、L34、L50、L52、L53、L55、L91、L92、L93、L94およびL96における位置のいずれでもない少なくとも1つの他のCDR位置について工程b)~d)を繰り返すこと；

f) 改善された活性を有し、かつ少なくとも1つの他の性質または特性に影響を及ぼさないことが明らかにされた少なくとも2つの個々の活性増強アミノ酸残基を元の抗体またはその抗原結合部分において組合せて、混合抗体またはその抗原結合部分を作製すること；および

g) 2つの活性増強アミノ酸残基を有する混合抗体またはその抗原結合部分の活性および少なくとも1つの性質または特性の保持を元の抗体またはその抗原結合部分に対して評価すること

を含む方法を提供する。

【0251】

V. 抗体の発現

本発明の抗体または抗体の一部は、免疫グロブリンの軽鎖遺伝子および重鎖遺伝子の宿主細胞における組換え発現によって調製することができる。抗体を組換え発現させるために、宿主細胞は、抗体の免疫グロブリン軽鎖および免疫グロブリン重鎖をコードするDNAフラグメントを有する1つまたは2つ以上の組換え発現ベクターでトランスフェクションされ、その結果、軽鎖および重鎖が宿主細胞において発現され、好ましくは宿主細胞が培養される培地に分泌され、そしてそのような培地から抗体を回収することができる。標準的な組換えDNA方法論を使用して、抗体の重鎖遺伝子および軽鎖遺伝子が得られ、これらの遺伝子が組換え発現ベクターに組み込まれ、そしてベクターが宿主細胞に導入される。そのような方法論は、例えば、Sambrook、FritschおよびManiatis (編)、Molecular Cloning; A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor、N.Y. (1989); Ausubel, F.M. (編)、Current Protocols in Molecular Biology、Greene Publishing Associates (1989); および米国特許第4,816,397号(Bossら)に記載されている。

【0252】

Joe9wt抗体またはJoe9wt関連抗体の重鎖可変領域をコードするDNAフラグメントを得るために、ヒトIL-12に特異的な抗体が、第II節に記載されているように、ヒトライブラリーからスクリーニングされ、そして変異させられた。Joe9wtまたはJoe9wt関連のVHセグメントおよびVLセグメントをコードするDNAフラグメントが一旦得られると、これらの配列の変異誘発が、PCR部位特異的変異誘発(PCR産物が変異を含有するように変異ヌクレオチドがPCRプライマーに取り込まれているPCR媒介変異誘発)または他の部位特異的な変異誘発法などの標準的な方法によって行われる。望ましい一定レベルの活性および結合特異性/親和性を示したヒトIL-12抗体、例えばJ695は、標準的な組換えDNA技術によって、例えば、可変領域遺伝子を全長の抗体鎖遺伝子またはFabフラグメント遺伝子またはscFv遺伝子に変換するためにさらに操作された。これらの操作において、VLまたはVHをコードするDNAフラグメントは、抗体定常領域または柔軟なリンカーなどの別のタンパク質をコードする別のDNAフラグメントに機能的に連結される。これに関連して使用されている用語「機能的に連結される」は、2つのDNAフラグメントによってコードされるアミノ酸配列の読み枠が合い続けるように2つのDNAフラグメントが結合されることを意味するものである。

【0253】

VH領域をコードする単離されたDNAは、VHをコードするDNAを、重鎖の定常領域(CH1、CH2およびCH3)をコードする別のDNA分子に機能的に連結することによって全長の重鎖遺伝子に変換することができる。ヒトの重鎖定常領域遺伝子の配列は当分野では知られている(例えば、Kabatt, E.A. 他(1991)、Sequences of Proteins of Immunological Interest、第5版、米国保健社会福祉省、NIH刊行物番号91-3242を参照のこと)。また、これらの領域を含むDNAフラグメントは標準的なPCR増幅によって得ることができ

10

20

30

40

50

る。重鎖定常領域は、Kabat (Kabat, E. A. 他 (1991)、Sequences of Proteins of Immunological Interest、第5版、米国保健社会福祉省、NIH刊行物番号91-3242)に記載されているように、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgMまたはIgDの定常領域およびその任意のアロタイプ変化体であり得るが、最も好ましくはIgG1またはIgG4の定常領域である。Fabフラグメントの重鎖遺伝子の場合、VHをコードするDNAは、重鎖CH1定常領域のみをコードする別のDNA分子に機能的に連結することができる。

【0254】

VL領域をコードする単離されたDNAは、VLをコードするDNAを、軽鎖定常領域CLをコードする別のDNA分子に機能的に連結することによって全長の軽鎖遺伝子(ならびにFab軽鎖遺伝子)に変換することができる。ヒトの軽鎖定常領域遺伝子の配列は当分野では知られている(例えば、Kabat, E. A. ら (1991)、Sequences of Proteins of Immunological Interest、第5版、米国保健社会福祉省、NIH刊行物番号91-3242を参照のこと)。また、これらの領域を含むDNAフラグメントは標準的なPCR増幅によって得ることができる。軽鎖定常領域は、κ定常領域またはλ定常領域であり得るが、最も好ましくはλ定常領域である。

【0255】

scFv遺伝子を作製するために、VHおよびVLをコードするDNAフラグメントは、VH配列およびVL配列が、柔軟なリンカーにより結合されたVL領域およびVH領域を有する連続した単一鎖タンパク質として発現され得るように、柔軟なリンカー、例えば、アミノ酸配列(Gly₄-Ser)₃をコードする別のフラグメントに機能的に連結される(例えば、Birdら (1988)、Science、242:423~426; Hustonら (1988)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、85:5879~5883; McCaffertyら、Nature (1990)、348:552~554を参照のこと)。

【0256】

本発明の抗体または抗体の一部を発現させるために、上記に記載されているようにして得られた部分長または全長の軽鎖および重鎖をコードするDNAは、それらの遺伝子が転写制御配列および翻訳制御配列に機能的に連結されるように発現ベクターに挿入される。これに関連して、用語「機能的に連結される」は、ベクター内の転写制御配列および翻訳制御配列が抗体遺伝子の転写および翻訳を調節するその意図された機能を果たすように抗体遺伝子がベクター内に連結されることを意味するものとする。発現ベクターおよび発現制御配列は、使用される発現宿主細胞と適合するように選ばれる。抗体軽鎖遺伝子および抗体重鎖遺伝子は別々のベクターに挿入することができる。あるいは、より典型的には、両方の遺伝子は同じ発現ベクターに挿入される。抗体遺伝子は、標準的な方法(例えば、抗体遺伝子フラグメントとベクターにおける相補的な制限部位の連結、または制限部位が存在しない場合には平滑端連結)によって発現ベクターに挿入される。J695またはJ695関連の軽鎖配列または重鎖配列を挿入する前に、発現ベクターは抗体の定常領域配列を既に有していてもよい。例えば、J695またはJ695関連のVH配列およびVL配列を全長の抗体遺伝子に変換する1つの方法は、そのような配列を、重鎖定常領域および軽鎖定常領域をそれぞれ既にコードする発現ベクターに、VHセグメントがベクター内のCHセグメントに機能的に連結され、かつVLセグメントがベクター内のCLセグメントに機能的に連結されるように挿入することである。さらにはあるいは代替として、組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を容易にするシグナルペプチドをコードすることができる。抗体鎖遺伝子は、シグナルペプチドが、抗体鎖遺伝子のアミノ末端に読み枠を合わせて連結されるようにベクターにクローニングすることができる。シグナルペプチドは、免疫グロブリンのシグナルペプチドまたは異種のシグナルペプチド(すなわち、免疫グロブリンでないタンパク質に由来するシグナルペプチド)であり得る。

【0257】

抗体鎖遺伝子に加えて、本発明の組換え発現ベクターは、抗体鎖遺伝子の宿主細胞における発現を制御する調節配列を有する。用語「調節配列」は、抗体鎖遺伝子の転写または翻訳を制御するプロモーター、エンハンサーおよび他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むものとする。そのような調節配列は、例えば、Goeddel; Gene Expression Technology (Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA, 1990年)に記載されている。調節配列の選択を含む発現ベクターの設計は、形質転換される宿主細胞の選択、所望するタンパク質の発現レベルなどのような要因に依存し得ることを当業者は理解している。哺乳動物宿主細胞での発現に好ましい調節配列には、哺乳動物細胞での高レベルのタンパク質発現をもたらすウイルスエレメントが含まれ、例えば、サイトメガロウイルス(CMV)に由来するプロモーターおよび/またはエンハンサー(CMVプロモーター/エンハンサーなど)、シミアンウイルス40(SV40)に由来するプロモーターおよび/またはエンハンサー(SV40プロモーター/エンハンサーなど)、アデノウイルスに由来するプロモーターおよび/またはエンハンサー（例えば、アデノウイルス主要後期プロモーター(AdMLP)）、およびポリオーマに由来するプロモーターおよび/またはエンハンサーなどが挙げられる。ウイルスの調節エレメントのさらなる説明およびその配列については、例えば、米国特許第5,168,062号(Stinski)、米国特許第4,510,245号(Bellら)、および米国特許第4,968,615号(Schaffnerら)、米国特許第5,464,758号(Bujardら)および米国特許第5,654,168号(Bujardら)を参照のこと。

10

20

【0258】

抗体鎖遺伝子および調節配列に加えて、本発明の組換え発現ベクターは、宿主細胞におけるベクターの複製を調節する配列（例えば、複製起点）および選択マーカー遺伝子などのさらなる配列を含むことができる。選択マーカー遺伝子は、ベクターが導入されている宿主細胞の選択を容易にする（例えば、米国特許第4,399,216号、同第4,634,665号および同第5,179,017号、これらはすべてAxelらによる）を参照のこと）。例えば、典型的には、選択マーカー遺伝子は、G418、ヒグロマイシンまたはメトトレキサートなどの薬物に対する耐性を、ベクターが導入されている宿主細胞に付与する。好ましい選択マーカー遺伝子には、ジヒドロ葉酸レダクターゼ(DHFR)遺伝子（メトトレキサートによる選択/増幅とともにdhfr^r宿主細胞において使用される）、およびneo遺伝子（G418選択の場合）が含まれる。

30

【0259】

軽鎖および重鎖を発現させる場合、軽鎖および重鎖をコードする発現ベクター（1つまたは2つ以上）は標準的な方法で宿主細胞にトランスフェクションされる。用語「トランスフェクション」の様々な形態は、原核生物または真核生物の宿主細胞に外来DNAを導入するために広く使用されている広範囲の技術、例えば、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈殿、DEAE-デキストラントランスフェクションなどの技術を包含するものとする。本発明の抗体を原核生物宿主細胞または真核生物宿主細胞のいずれかで発現させることは理論的には可能であるが、真核生物細胞（最も好ましくは哺乳動物宿主細胞）における抗体の発現が最も好ましい。これは、そのような真核生物細胞（特に、哺乳動物細胞）は、正しく折り畳まれた免疫学的に活性な抗体を組み立てて分泌する可能性が原核生物細胞よりも大きいからである。本発明の組換え抗体を発現させるために好ましい哺乳動物宿主細胞には、チャイニーズハムスター卵巣(CHO細胞)（例えば、R.J.KaufmanおよびP.A.Sharp(1982)、Mol.Biol.159:601~621に記載されているようにDHFR選択マーカーとともに使用される、UrlaubおよびChasin、(1980)Proc.Natl.Acad.Sci.USA、77:4216~4220に記載されたdhfr^rCHO細胞を含む）、NS0ミエローマ細胞、COS細胞、およびSP2細胞が含まれる。抗体遺伝子をコードする組換え発現

40

50

ベクターが哺乳動物宿主細胞に導入された場合、抗体は、宿主細胞における抗体の発現、より好ましくは、宿主細胞が増殖している培養培地への抗体の分泌を可能にするのに十分な期間にわたって宿主細胞を培養することによって産生される。抗体は、標準的なタンパク質精製法を使用して培養培地から回収することができる。

【0260】

宿主細胞はまた、F a bフラグメントまたはs c F v分子などの完全な抗体の一部を産生させるために使用することができる。上記手順における様々な変化は本発明の範囲に含まれることが理解される。例えば、宿主細胞を、本発明の抗体の軽鎖または重鎖の（両方ではなく）いずれかをコードするDNAでトランスフェクションすることが望ましい。組換えDNA技術はまた、h I L - 12への結合に対して必要でない軽鎖および重鎖の一方または両方をコードするDNAの一部またはすべてを除くために使用することもできる。そのような短縮型DNA分子から発現された分子もまた、本発明の抗体によって包含される。さらに、1つの重鎖および1つの軽鎖が本発明の抗体であり、それ以外の重鎖および軽鎖がh I L - 12以外の抗原に対して特異的である二官能性抗体を、標準的な化学的架橋法により本発明の抗体を別の抗体に架橋することによって作製することができる。

10

【0261】

本発明の抗体またはその抗原結合部分の組換え発現に好ましい系において、抗体重鎖および抗体軽鎖の両方をコードする組換え発現ベクターが、リン酸カルシウム媒介トランスフェクションによってd h f r⁺ C H O細胞に導入される。組換え発現ベクター内において、抗体重鎖遺伝子および抗体軽鎖遺伝子はそれぞれ、遺伝子の高レベルの転写をもたらすエンハンサー/プロモーター調節エレメント（例えば、S V 40、C M V、アデノウイルスなどに由来し、例えば、C M Vエンハンサー/A d M L Pプロモーターの調節エレメント、またはS V 40エンハンサー/A d M L Pプロモーターの調節エレメント）に機能的に連結される。組換え発現ベクターはまた、ベクターでトランスフェクションされたC H O細胞の選択を、メトトレキサートによる選択/増幅を使用して可能にするD H F R遺伝子を有する。選択された形質転換体の宿主細胞は、抗体の重鎖および軽鎖が発現されるように培養され、そして完全な抗体が培養培地から回収される。標準的な分子生物学的技術を使用して、組換え発現ベクターが調製され、宿主細胞がトランスフェクションされ、形質転換体を選択され、宿主細胞が培養され、そして抗体が培養培地から回収される。本発明の抗体またはその抗原結合部分を、ヒト免疫グロブリン遺伝子に関して遺伝子組換えである動物（例えば、マウス）において発現させることができる（例えば、T a y l o r , L . D . ら（1992）、N u c l . A c i d s R e s . 20:6287~6295を参照のこと）。植物細胞もまた、本発明の抗体またはその抗原結合部分を発現するトランスジェニック植物を作製するために改変することができる。

20

30

【0262】

上記を考慮すれば、本発明の別の態様は、本発明の抗体または抗体の一部を組換え発現させるために使用され得る核酸、ベクターおよび宿主細胞の組成物に関する。好ましくは、本発明は、J 695のC D Rをコードするか、あるいはJ 695の完全な重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域をコードする単離された核酸を特徴とする。従って、1つの実施形態において、本発明は、配列番号25のアミノ酸配列を含むJ 695の重鎖C D R 3をコードする抗体重鎖可変領域をコードする単離された核酸を特徴とする。好ましくは、抗体重鎖可変領域をコードする核酸は、配列番号27のアミノ酸配列を含むJ 695重鎖C D R 2をさらにコードする。より好ましくは、抗体重鎖可変領域をコードする核酸は、配列番号29のアミノ酸配列を含むJ 695重鎖C D R 1をさらにコードする。さらにより好ましくは、単離された核酸は、配列番号31のアミノ酸配列（J 695の全V H領域）を含む抗体重鎖可変領域をコードする。

40

【0263】

他の実施形態において、本発明は、配列番号26のアミノ酸配列を含むJ 695軽鎖C D R 3をコードする抗体軽鎖可変領域をコードする単離された核酸を特徴とする。好ましくは、抗体軽鎖可変領域をコードする核酸は、配列番号28のアミノ酸配列を含むJ 695

50

軽鎖 C D R 2 をさらにコードする。より好ましくは、抗体軽鎖可変領域をコードする核酸は、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む J 6 9 5 軽鎖 C D R 1 をさらにコードする。さらにより好ましくは、単離された核酸は、配列番号 32 のアミノ酸配列 (J 6 9 5 の全 V L 領域) を含む抗体軽鎖可変領域をコードする。

【 0 2 6 4 】

本発明はまた、抗体重鎖および抗体軽鎖の両方をコードする組換え発現ベクターを提供する。例えば、1つの実施形態において、本発明は、

a) 配列番号 31 のアミノ酸配列を含む可変領域を有する抗体重鎖 ; および

b) 配列番号 32 のアミノ酸配列を含む可変領域を有する抗体軽鎖

をコードする組換え発現ベクターを提供する。

10

【 0 2 6 5 】

本発明はまた、本発明の組換え発現ベクターの1つまたは2つ以上が導入されている宿主細胞を提供する。好ましくは、宿主細胞は哺乳動物宿主細胞であり、より好ましくは、宿主細胞は C H O 細胞、N S O 細胞または C O S 細胞である。なおさらに、本発明は、本発明の組換えヒト抗体を、本発明の組換えヒト抗体が合成されるまで本発明の宿主細胞を好適な培養培地で培養することによって合成する方法を提供する。この方法は、組換えヒト抗体を培養培地から単離することをさらに含むことができる。

【 0 2 6 6 】

V I . 薬学的組成物および薬学的投与

本発明の抗体および抗体の一部は、患者への投与に好適な薬学的組成物に配合することができる。典型的には、薬学的組成物は、本発明の抗体または抗体の一部と、薬学的に許容可能なキャリアとを含む。本明細書中で使用されている「薬学的に許容可能なキャリア」には、生理学的に適合し得る任意のすべての溶媒、分散媒体、コーティング剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などが含まれる。薬学的に許容可能なキャリアの例には、水、生理食塩水、リン酸塩緩衝化生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなどの1つまたは2つ以上、ならびにそれらの組合せが含まれる。多くの場合、等張剤、例えば、糖類、マンニトールなどのポリアルコール、ソルビトールまたは塩化ナトリウムを組成物に含めることは好ましい。薬学的に許容可能なキャリアはさらに、抗体または抗体の一部の保存寿命または有効性を高める、湿潤化剤または乳化剤、保存剤または緩衝剤などの補助物質を微量含むことができる。

20

30

【 0 2 6 7 】

本発明の抗体および抗体の一部は、非経口投与に好適な薬学的組成物に配合することができる。好ましくは、抗体または抗体の一部は、0 . 1 m g / m l ~ 2 5 0 m g / m l の抗体を含む注射可能な溶液として調製される。注射可能な溶液は、フリントガラスまたはアンバー色のバイアル、アンプルあるいは充填済みシリンジにおける液体投薬形態または凍結乾燥投薬形態のいずれかから構成され得る。緩衝剤は、p H が 5 . 0 ~ 7 . 0 (最適には p H 6 . 0) である L - ヒスチジン (1 m M ~ 5 0 m M) 、最適には 5 m M ~ 1 0 m M であり得る。他の好適な緩衝剤には、コハク酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウムまたはリン酸カリウムが含まれるが、これらに限定されない。塩化ナトリウムが、溶液の毒性を改変するために、0 m M ~ 3 0 0 m M の濃度 (最適には、液体投薬形態の場合には 1 5 0 m M) で使用され得る。凍結保護剤、主として 0 % ~ 1 0 % のスクロース (最適には 0 . 5 % ~ 1 . 0 %) を凍結乾燥投薬形態の場合には含めることができる。他の好適な凍結保護剤には、トレハロースおよびラクトースが含まれる。増量剤、主として 1 % ~ 1 0 % のマンニトール (最適には 2 % ~ 4 %) を凍結乾燥投薬形態の場合には含めることができる。安定化剤、主として 1 m M ~ 5 0 m M の L - メチオニン (最適には 5 m M ~ 1 0 m M) を液体投薬形態または凍結乾燥投薬形態の両方において使用することができる。他の好適な増量剤には、グリセリン、アルギニンが含まれ、好適な増量剤は 0 % ~ 0 . 0 5 % のポリソルベート - 8 0 (最適には 0 . 0 0 5 % ~ 0 . 0 1 %) として含まれ得る。さらなる界面活性剤には、ポリソルベート 2 0 界面活性剤および B R I J 界面活性剤が含まれるが、これらに限定されない。

40

50

【0268】

好ましい実施形態において、薬学的組成物は抗体を約 $0.01 \text{ mg/kg} \sim 10 \text{ mg/kg}$ の投薬量で含む。抗体のより好ましい投薬量には、隔週毎に投与される場合には 1 mg/kg が含まれ、あるいは毎週投与される場合には 0.3 mg/kg が含まれる。

【0269】

本発明の組成物は様々な形態であり得る。これらには、例えば、液体、半固体および固体の形態が含まれ、例えば、液体溶液剤（例えば、注射可能な溶液剤および注入可能な溶液剤）、分散剤または懸濁剤、錠剤、ピル剤、粉末剤、リポソーム剤および坐薬などが含まれる。好ましい形態は、意図される投与様式および治療の適用に依存する。典型的な好ましい組成物は、他の抗体を用いてヒトの受動免疫化のために使用される組成物に類似する組成物などの注射可能な溶液剤または注入可能な溶液剤の形態である。好ましい投与様式は、非経口的（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内）である。好ましい実施形態において、抗体は静脈内への注入または注射によって投与される。別の好ましい実施形態において、抗体は筋肉内注射または皮下注射によって投与される。

【0270】

治療用組成物は、典型的には、製造条件および保存条件で無菌で安定でなければならない。組成物は、大きな薬物濃度に対して好適な溶液剤、マイクロエマルション剤、分散剤、リポソーム剤または他の指示された構造体として配合することができる。無菌の注射可能な溶液剤は、必要量の活性化合物（すなわち、抗体または抗体の一部）を適切な溶媒に、必要な場合には上記に列記された成分の1つまたは組合せとともに配合し、その後、ろ過滅菌することによって調製することができる。一般に、分散剤は、活性化合物を、分散媒体基剤と、上記に列記された成分に由来する必要とされる他の成分とを含有する無菌のビヒクルに配合することによって調製される。無菌の注射可能な溶液剤を調製するための無菌の凍結乾燥粉末の場合、好ましい調製方法は、有効成分と、事前に無菌ろ過されたその溶液に由来するその任意のさらなる所望成分との粉末を作製する真空乾燥および噴霧乾燥である。溶液の適正な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング剤を使用することによって、分散剤の場合には必要とされる粒子サイズを維持することによって、そして界面活性剤を使用することによって維持され得る。注射可能な組成物の持続した吸収が、吸収を遅延させる剤、例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチンを組成物に含ませることによってもたらされ得る。

【0271】

本発明の抗体および抗体の一部は、当分野で知られている様々な方法で投与することができるが、多くの治療的適用の場合、好ましい投与経路/様式は、皮下注射、静脈内注射または静脈内注入である。当業者は理解しているように、投与経路および/または投与様式は、所望する結果に依存して変化する。ある種の実施形態において、活性化合物は、インプラント、経皮パッチおよびマイクロカプセル化送達システムを含む制御放出配合物などの、迅速な放出から化合物を保護するキャリアとともに調製することができる。生分解性の生体適合性ポリマー、例えば、エチレンビニルアセタート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸などを使用することができる。そのような配合物を調製するための多くの方法が特許化され、あるいは当業者には一般に知られている。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems (J. R. Robinson 編、Marcel Dekker, Inc., New York, 1978) を参照のこと。

【0272】

ある種の実施形態において、本発明の抗体または抗体の一部は、例えば、不活性な希釈剤または吸収可能な食用キャリアとともに経口投与することができる。化合物（および所望する場合には他の成分）はまた、硬殻ゼラチンカプセルまたは軟殻ゼラチンカプセルに充填することができ、あるいは錠剤に圧縮成型することができ、あるいは患者の食事に直接加えることができる。経口的な治療投与の場合、化合物は、賦形剤とともに配合され、そして摂取可能な錠剤、頬錠剤、トローチ剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁剤、シロツ

ブ剤、カシエ剤などの形態で 사용할 ことができる。本発明の化合物を非経口投与以外で投与するためには、化合物をその不活化を防止する物質でコーティングすること、または化合物をその不活化を防止する物質とともに同時投与することが必要であり得る。

【 0 2 7 3 】

補助的な活性化化合物もまた組成物に配合することができる。ある種の実施形態において、本発明の抗体または抗体の一部は、IL - 1 2 活性が有害である疾患を処置するために有用である 1 つまたは 2 つ以上のさらなる治療剤とともに同時に配合され、かつ / または同時に投与される。例えば、本発明の抗 IL - 1 2 抗体またはその抗体の一は、他の標的と結合する 1 つまたは 2 つ以上のさらなる抗体（例えば、他のサイトカインと結合する抗体、または細胞表面分子と結合する抗体）とともに同時に配合され、かつ / または同時に投与され得る。さらに、本発明の 1 つまたは 2 つ以上の抗体は 2 つ以上の上記の治療剤との組合せで使用する ことができる。そのような組合せ治療は、投与された治療剤のより少ない投薬量を都合良く利用することができ、従って、様々な単独療法に伴う考えられる毒性または合併症を避ける ことができる。本発明の抗体が組合せ療法の一部として使用された場合、抗体が単独で患者に投与されるときよりも少ない用量の抗体が望ましいと考えられると当業者は理解している（例えば、所望する治療効果を達成するために、相乗的な治療効果が、より少ない用量の抗体の使用を可能にする組合せ療法の使用によって達成され得る）。

【 0 2 7 4 】

インターロイキン 1 2 は、様々な免疫因子および炎症性因子を含む様々な疾患に伴う病理学において重要な役割を果たしている。このような疾患を下記に挙げるが、それらに限定されない：慢性関節リウマチ、変形性関節症、若年性慢性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性エリテマトーデス、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インスリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー疾患、乾癬、硬皮性皮膚炎、アトピー性皮膚炎、移植片対宿主病、臓器移植拒絶反応、臓器移植に伴う急性または慢性の免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、汎発性血管内凝固、川崎病、グレーブズ病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ヴェーゲナー肉芽腫症、ヘノッホ - スエーンライン紫斑病、腎臓の顕微鏡的脈管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生虫病、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、発作、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、散在性の I 型多腺性欠損症および I I 型多腺性欠損症、シュミット症候群、成人（急性）呼吸窮迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、セロネガティブ関節症、関節症、ライター病、乾癬性関節症、潰瘍性大腸炎性関節症、腸性滑膜炎、クラミジア菌、エルシニア菌およびサルモネラ菌が関連する関節症、脊椎関節症、アテローム性疾患 / アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状 I g A 病、自己免疫性溶血性貧血、クームズ陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳炎 / ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、突発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全病症候群、後天性免疫不全関連疾患、C 型肝炎、分類不能型免疫不全（分類不能型低ガンマグロブリン血症）、拡張型心筋症、雌性不妊症、卵巣不全、早期の卵巣不全、線維性肺疾患、突発性線維性肺炎、後炎症性間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織疾患に関連する間質性肺疾患、混合型結合組織疾患に関連する肺疾患、全身性硬化症に関連する間質性肺疾患、慢性関節リウマチに関連する間質性肺疾患、全身性エリテマトーデスに関連する肺疾患、皮膚筋炎 / 多発性筋症に関連する肺疾患、シェーグレン病に関連する肺疾患、強直性脊椎炎に関連する肺疾患、血管炎性散在性肺疾患、ヘモジデリン沈着症に関連する肺疾患、薬物誘導の間質性肺疾患、放射線線維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後の間質性肺疾患、痛風、自己免疫性肝炎、1 型自己免疫性肝炎（古典的な自己免疫性肝炎またはルポイド肝炎）、2 型自己免疫性肝炎（抗 L K M 抗体肝炎）、自己免疫媒介の低血糖症、黒色表皮肥厚症を伴う B 型インスリン耐性、上皮小体低下

10

20

30

40

50

症、臓器移植に伴う急性免疫疾患、臓器移植に伴う慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎疾患（NOS）、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的脈管炎、ライム病、円盤状エリテマトーデス、雄性不妊症（特発性またはNOS）、精子自己免疫性、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、インスリン依存性糖尿病、交感性眼炎、結合組織疾患に対して二次的な肺性高血圧症、グッドパスチャー症候群、多発性動脈炎の肺発現、急性リウマチ熱、リウマチ様脊椎炎、スティル病、全身性硬化症、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫性自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液浮腫、水晶体近因性ブドウ膜炎、原発性の脈管炎および白斑。本発明のヒト抗体および抗体の一部は、リウマチ様脊椎炎、アレルギー、自己免疫性糖尿病、自己免疫性ブドウ膜炎を含む自己免疫疾患を処置するために、特に、炎症を伴う自己免疫疾患を処置するために使用することができる。

10

【0275】

好ましくは、本発明の抗体またはその抗原結合部分は、第V I I 節にさらに詳しく記載されているように、慢性関節リウマチ、クローン病、多発性硬化症、インスリン依存性糖尿病および乾癬を処置するために使用される。

【0276】

本発明のヒト抗体または抗体の一部は、自己免疫性疾患および炎症性疾患の処置において有用な1つまたは2つ以上のさらなる治療剤とともに投与することができる。

【0277】

本発明の抗体またはその抗原結合部分は、そのような疾患を処置するために、単独で、あるいは組み合わせて使用することができる。本発明の抗体またはその抗原結合部分は、単独で、あるいはさらなる薬剤、例えば治療剤と組合せて使用できることを理解しなければならない。そのようなさらなる薬剤は、意図された目的のために当業者によって選択される。例えば、さらなる治療剤は、本発明の抗体によって処置される疾患または状態を処置するために有用であるとして当分野で認識されている治療剤であり得る。さらなる薬剤はまた、有益な属性を治療組成物に付与する薬剤であり、例えば、組成物の粘性をもたらす薬剤であり得る。

20

【0278】

本発明に含まれ得る組合せ物は、意図された目的に関して有用であるそのような組合せ物であることをさらに理解しなければならない。下記に示される薬剤は例示目的のためであり、限定することを意図していない。本発明の一部である組合せ物は、本発明の抗体、および下記の列記から選択される少なくとも1つのさらなる薬剤であり得る。本発明の組合せ物はまた、形成された組成物がその意図された機能を発揮し得るように組合せがなされている場合には2つ以上のさらなる薬剤、例えば、2つまたは3つのさらなる薬剤を含むことができる。

30

【0279】

好ましい組合せ物は、イブプロフェンのような薬物を含む、NSAIDsと呼ばれることもある非ステロイド性抗炎症薬である。他の好ましい組合せ物は、プレドニソロンを含むコルチコステロイド類である；本発明の抗IL-12抗体と組み合わせて患者を処置した場合、必要とされるステロイド用量を徐々に減らすことによってステロイド使用のよく知られた副作用を低下させることができ、あるいは除去することさえできる。本発明の抗体または抗体の一部と組み合わせることができる慢性関節リウマチに対する治療剤の非限定的な実施例を下記に挙げる：サイトカイン抑制抗炎症薬（CSAID）；他のヒトサイトカインまたは成長因子（例えば、TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-CSFおよびPDGF）に対する抗体またはアンタゴニスト。本発明の抗体またはその抗原結合部分は、CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD45、CD69、CD80（B7.1）、CD86（B7.2）、CD90またはそれらのリガンド（CD154（gp39またはCD40L）を含む）などの細胞表面分子に対する抗体と

40

50

組み合わせることができる。

【0280】

治療薬の好ましい組合せは、様々な点で自己免疫及びその後の炎症カスケードに干渉する；好ましい例は、キメラ、ヒューマニズ又はヒトTNF抗体、D2E7（1996年2月9日出願の米国特許出願番号第08/599,226号）、cA2（RemicadeTM）、CDP571、抗TNF抗体断片（例えばCDP870）、及び可溶性p55又はp75 TNFレセプタのようなTNF拮抗物質、それらの誘導体（p75 TNF RIgG（EnbrelTM）又はp55 TNF RIgG（Lenercept）、可溶性IL-13レセプタ（sIL-13）、そしてTNF α 変換酵素（TACE）阻害因子も含む；同様にIL-1阻害因子（例えばVx740のようなインターロイキン-1-変換酵素阻害因子、又はIL-IRA等）も同じ理由から有効と考えられる。他の好ましい組合せは、インターロイキン11、抗P7s及びp-セレクチン糖タンパクリガンド（PSGL）を含む。さらにもう1つの好ましい組合せは、IL-12機能と平行して、依存して又は協力して作用しうる、自己免疫応答の他のキープレイヤーである；特に好ましいのは、IL-18抗体又は可溶性IL-18レセプタを含むIL-18拮抗物質、あるいはIL-18結合タンパクである。IL-12とIL-18はオーバーラップするが異なる機能を持つことが示されており、両者に対する拮抗物質の組合せが最も有効であると考えられる。さらにもう1つの好ましい組合せは、非枯渇性（non-depleting）抗CD4阻害因子である。さらなる他の好ましい組合せは、抗体、可溶性レセプタ又は拮抗性リガンドを含む共同刺激経路、CD80（B7.1）又はCD86（B7.2）を包

10

20

【0281】

本発明の抗体、又はその抗原結合部分は、メトトレキセート、6-MP、アザチオプリン、スルファサラジン、メサラジン、オルサラジクロロキニン/ヒドロキシクロロキン、ペニシラミン、金チオマレート（筋肉内及び経口）、アザチオプリン、コルヒチン、コルチコステロイド（経口、吸入及び局所注入）、 β -2アドレナリン作動性レセプタ様物質（サルブタモール、テルブタリン、サルメテロール）、キサンチン（テオフィリン、アミノフィリン）、クロモグリケート、ネドクロミル、ケトティフェン、イプラトロピウム及びオキシトロピウム、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノレートモフェチル、レフルノミド、NSAID、例えばイブプロフェン、プレドニゾロンのような

コルチコステロイド、ホスホジエステラーゼ阻害因子、アデノシン作用物質、抗血栓薬、補体阻害因子、アドレナリン作動薬、TNF α 又はIL-1（例えばIRAK、NIK、IKK、p38又はMAPキナーゼ阻害因子）のような前炎症性サイトカインによりシグナル伝達に干渉する物質、IL-1 β 変換酵素阻害因子（例えばVx740）、抗P7s、p-セレクチン糖タンパクリガンド（PSGL）、TNF α 変換酵素（TACE）阻害因子、キナーゼ阻害因子のようなT細胞シグナル伝達阻害因子、メタロプロテイナーゼ阻害因子、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害因子、可溶性サイトカインレセプタ及びその誘導体（例えば可溶性p55又はp75 TNFレセプタ及びその誘導体、P75 TNF RIgG（EnbrelTM）又はp55 TNF RIgG（Lenercept）、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R、可溶性IL-13レセプタ（sIL-13）、及び抗炎症性サイトカイン（例えばIL-4、IL-10、IL-11、IL-13及びTGF β ）のような物質とも組み合わせることができる。好ましい組合せは、メトトレキセート又はレフルノミド、そして中等度又は重度の慢性関節リウマチの症例ではシクロスポリンを含む。

30

40

【0282】

本発明の抗体又は抗体部分と組み合わせることができる炎症性腸疾患のための治療薬の非制限的な例は次のものを含む：ブデノシド；表皮成長因子；コルチコステロイド；シクロスポリン、スルファサラジン；アミノサリシレート；6-メルカプトプリン；アザチオプリン；メトロニダゾール；リボオキシゲナーゼ阻害因子；メサラミン；オルサラジン；バルサラジド；抗酸化薬；トロンプキサン阻害因子；IL-1レセプタ拮抗物質；抗IL-

50

1 β モノクローナル抗体；抗IL-6モノクローナル抗体；成長因子；エラスターゼ阻害因子；ピリジニル-イミダゾール化合物；他のヒトサイトカイン又は成長因子に対する抗体又は拮抗物質、例えばTNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF、及びPDGF。本発明の抗体又はその抗原結合部分は、CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90又はそれらのリガンドのような細胞表面分子に対する抗体と組み合わせることができる。本発明の抗体又はその抗原結合部分はまた、メトトレキセート、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノレートモフェチル、レフルノミド、NSAID、例えばイブプロフェン、プレドニゾロンのようなコルチコステロイド、ホスホジエステラーゼ阻害因子、アデノシン作用物質、抗血栓薬、補体阻害因子、アドレナリン作動薬、TNF α 又はIL-1（例えばIRAK、NIK、IKK、p38又はMAPキナーゼ阻害因子）のような前炎症性サイトカインによりシグナル伝達に干渉する物質、IL-1 β 変換酵素阻害因子（例えばVx740）、抗P7s、p-セレクチン糖タンパクリガンド（PSGL）、TNF α 変換酵素阻害因子、キナーゼ阻害因子のようなT細胞シグナル伝達阻害因子、メタロプロテイナーゼ阻害因子、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害因子、可溶性サイトカインレセプタ及びその誘導体（例えば可溶性p55又はp75 TNFレセプタ、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R、可溶性IL-13レセプタ（sIL-13））、及び抗炎症性サイトカイン（例えばIL-4、IL-10、IL-11、IL-13及びTGF β ）のような物質とも組み合わせることができる。

【0283】

抗体又は抗原結合部分と組み合わせることができるクローン病のための治療薬の好ましい例は次のものを含む：TNF拮抗物質、例えば抗TNF抗体、D2E7（1996年2月9日出願の米国特許出願番号第08/599,226号）、cA2（RemicadeTM）、CDP571、抗TNF抗体断片（例えばCDP870）、TNFR-Ig構築物（p75TNFR IgG（EnbrelTM）及びp55TNFR IgG（Lenercept））、抗P7s、p-セレクチン糖タンパクリガンド（PSGL）、可溶性IL-13レセプタ（sIL-13）、及びPDE4阻害因子。本発明の抗体又はその抗原結合部分は、コルチコステロイド、例えばブデノシド及びデキサメタゾンと組み合わせることができる。本発明の抗体又はその抗原結合部分はまた、スルファサラジン、5-アミノサリチル酸及びオルサラジン、及びIL-1のような前炎症性サイトカインの合成又は作用に干渉する物質、例えばIL-1 β 変換酵素阻害因子（例えばVx740）及びIL-1raのような物質と組み合わせることもできる。本発明の抗体又はその抗原結合部分はまた、T細胞シグナル伝達阻害因子、例えばチロシンキナーゼ阻害因子、6-メルカプトプリンと共に使用することもできる。本発明の抗体又はその抗原結合部分はIL-11と組み合わせることができる。

【0284】

本発明の抗体又は抗体部分と組み合わせることができる多発性硬化症のための治療薬の非制限的な例は次のものを含む：コルチコステロイド；プレドニゾロン；メチルプレドニゾロン；アザチオプリン；シクロホスファミド；シクロスポリン；メトトレキセート；4-アミノピリジン；チザニジン；インターフェロン- β 1a（Avonex；Biogen）；インターフェロン- β 1b（Betaseron；Chiron/Berlex）；コポリマー1（Cop-1；Copaxone；Teva Pharmaceutical Industries, Inc.）；高圧酸素；静脈内免疫グロブリン；クラブリピン；TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF、及びPDGF。本発明の抗体又はその抗原結合部分は、CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80、CD86、CD90又はそれらのリガンドのような細胞表面分子に対する抗体と組み合わせることができる。本発明の

10

20

30

40

50

抗体又はその抗原結合部分はまた、メトトレキセート、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノレートモフェチル、レフルノミド、NSAID、例えばイブプロフェン、プレドニゾロンのようなコルチコステロイド、ホスホジエステラーゼ阻害因子、アデノシン作用物質、抗血栓薬、補体阻害因子、アドレナリン作動薬、TNF α 又はIL-1（例えばIRAK、NIK、IKK、p38又はMAPキナーゼ阻害因子）のような前炎症性サイトカインによりシグナル伝達に干渉する物質、IL-1 β 変換酵素阻害因子（例えばVx740）、抗P7s、p-セレクチン糖タンパクリガンド（PSGL）、TACE阻害因子、キナーゼ阻害因子のようなT細胞シグナル伝達阻害因子、メタロプロテイナーゼ阻害因子、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害因子、可溶性サイトカインレセプタ及びその誘導体（例えば可溶性p55又はp75 TNFレセプタ、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R、可溶性IL-13レセプタ（sIL-13））、及び抗炎症性サイトカイン（例えばIL-4、IL-10、IL-13及びTGF β ）のような物質とも組み合わせることができる。

10

【0285】

当該抗体又は抗体部分と組み合わせることができる多発性硬化症のための治療薬の好ましい例は、インターフェロン- β 、例えばIFN β 1a及びIFN- β 1b；コパキソン、コルチコステロイド、IL-1阻害因子、TNF阻害因子、及びCD40リガンド及びCD80に対する抗体を含む。

【0286】

20

本発明の製薬組成物は、本発明の抗体又は抗体部分の「治療上の有効量」又は「予防上の有効量」を含みうる。「治療上の有効量」は、所望する治療成績を達成するための、必要な用量と期間での有効量をさす。抗体又は抗体部分の治療上の有効量は、個体の疾患状態、年齢、性別及び体重、ならびに抗体又は抗体部分が個体において所望する応答を誘発する能力のような因子に従って変化しうる。治療上の有効量はまた、抗体又は抗体部分の治療上の有益な作用が毒性又は有害作用に勝る量である。「予防上の有効量」は、所望する予防成績を達成するための、必要な用量と期間での有効量をさす。典型的には、予防用量は疾患の発症前又は疾患の早期に被験者において使用されるので、予防上の有効量は治療上の有効量よりも低いであろう。

【0287】

30

用量レジメンは至適所望応答（例えば治療又は予防応答）を提供するように調節することができる。例えば、単回のボースで投与するか、経時的に数回の分割用量を投与するか、又は治療状況の緊急性によって求められるように比例的に減少又は増加することができる。投与の容易さと用量の均一性のために投与単位形態の非経口組成物を製剤することは特に好都合である。ここで使用するとき投与単位形態は、治療する哺乳類被験者の単位投与として適した物理的に分離したユニットを指す；各々のユニットは、必要な製薬担体と結合して所望する治療効果を生じるように計算された、あらかじめ定められた量の活性化化合物を含む。本発明の投与ユニット形態についての規格は、（a）活性化化合物の独自特性と達成すべき特定の治療又は予防効果、及び（b）個体における感受性の治療のためにそのような活性化化合物を調合する技術に固有の制限によって決定され、それらに直接依存する。

40

【0288】

本発明の抗体又は抗体部分の治療上又は予防上の有効量の例示としての非制限的な範囲、0.01 - 20 mg/kg、より好ましくは1 - 10 mg/kg、さらにより好ましくは0.3 - 1 mg/kgである。用量の数値は、軽減すべき状態の種類と重症度によって変化しうることに留意しなければならない。さらに、個々の被験者について、個体の必要性及び組成物の投与を行う又は投与を監視する者の専門的判断に従って時間の経過と共に個々の用量レジメンを調節すべきであること、またここに示す用量範囲は単なる例示であり、特許請求される組成物の範囲又は実施を制限することを意図しないことは明白である。

【0289】

50

V I I . 本発明の抗体の使用

h I L - 1 2 に結合する能力を考慮すると、本発明の抗 h I L - 1 2 抗体又はその部分は、酵素結合イムノソルベント検定法 (E L I S A)、放射免疫測定法 (R I A) 又は免疫組織化学のような従来の免疫測定法を使用して、h I L - 1 2 を検出する (例えば血清又は血漿のような生物学的サンプルにおいて) ために使用できる。本発明は、生物学的サンプルを本発明の抗体又は抗体部分に接触させ、h I L - 1 2 に結合した抗体 (又は抗体部分) 又は結合していない抗体 (又は抗体部分) のいずれかを検出し、それによって生物学的サンプル中の h I L - 1 2 を検出することを含む、生物学的サンプルにおいて h I L - 1 2 を検出するための方法を提供する。結合又は非結合抗体の検出を容易にするために、検出可能な物質で抗体を直接又は間接的に標識する。適当な検出可能物質は、種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光材料、及び放射性物質を含む。適当な酵素の例は、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ、又はアセチルコリンエステラーゼを含む; 適当な補欠分子族複合体の例は、ストレプトアビジン/ビオチン及びアビジン/ビオチンを含む; 適当な蛍光物質の例は、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリド又はフィコエリトリンを含む; 発光材料の例はルミノールを含む; そして適当な放射性物質の例は、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 又は ^3H を含む。

【 0 2 9 0 】

抗体を標識する代わりに、検出可能な物質で標識した r h I L - 1 2 標準と標識していない抗 h I L - 1 2 抗体を使用する競合免疫測定法により、h I L - 1 2 を生物学的液体中で検定することができる。このアッセイでは、生物学的サンプル、標識 r h I L - 1 2 標準及び抗 h I L - 1 2 抗体を一緒にして、非標識抗体に結合した標識 r h I L - 1 2 標準の量を測定する。生物学的サンプル中の h I L - 1 2 の量は、抗 h I L - 1 2 抗体に結合した標識 r h I L - 1 2 標準の量に反比例する。

【 0 2 9 1 】

本発明の Y 6 1 及び J 6 9 5 抗体もヒト以外の種から、特に霊長類から I L - 1 2 を検出するために使用できる。例えば、Y 6 1 は、カニクイザル (c y n o m o l g u s) ザル及びアカゲザルにおいて I L - 1 2 を検出するために使用できる。J 6 9 5 は、カニクイザルザル、アカゲザル及びヒヒにおいて I L - 1 2 を検出するために使用できる。しかし、いずれの抗体もマウスあるいはラットの I L - 1 2 とは交叉反応しない (実施例 3、F 項参照)。

【 0 2 9 2 】

本発明の抗体及び抗体部分は、i n v i t r o (実施例 3 参照) 及び i n v i v o (実施例 4 参照) で h I L - 1 2 活性を中和することができる。従って、本発明の抗体及び抗体部分は、例えば h I L - 1 2 を含む細胞培養において、本発明の抗体が交叉反応する I L - 1 2 を持つヒト被験者あるいは他の哺乳類被験者 (例えばヒヒ、カニクイザル及びアカゲザルのような霊長類) において、I L - 1 2 活性を阻害するために使用することができる。好ましい実施形態では、本発明は、ヒト I L - 1 2、及びヒヒ I L - 1 2、マルモセット (キヌザル) I L - 1 2、チンパンジー I L - 1 2、カニクイザル I L - 1 2 及びアカゲザル I L - 1 2 から成る群から選択される少なくとも 1 つのさらなる霊長類 I L - 1 2 の活性を中和するが、マウス I L - 1 2 の活性は中和しない、単離されたヒト抗体又はその抗原結合部分を提供する。例えば、h I L - 1 2 を含む又は含むことが疑われる細胞培養において、本発明の抗体又は抗体部分を細胞培地に加えて、培地中の h I L - 1 2 活性を阻害することができる。

【 0 2 9 3 】

もう 1 つの実施形態では、本発明は、I L - 1 2 活性が有害である疾患に罹病している被験者において I L - 1 2 活性を抑制するための方法を提供する。I L - 1 2 は極めて多様な疾患の病態生理に関係づけられてきた (W i n d h a g e n ら (1 9 9 5) J . E x p . M e d . 1 8 2 : 1 9 8 5 - 1 9 9 6 ; M o r i t a ら (1 9 9 8) A r t h r i t i

10

20

30

40

50

s and Rheumatism 41:306-314; Buchtla (1996) Clin. Exp. Immunol. 103:347-367; Faisla (1994) J. Interferon Res. 14:235-238; Parronchi (1997) Am. J. Path. 150:823-832; Monteleone (1997) Gastroenterology 112:1169-1178、及び Berrebi (1998) Am. J. Path. 152:667-672; Parronchi (1997) Am. J. Path. 150:823-832)。本発明は、そのような疾患に罹病している被験者においてIL-12活性を抑制するための方法を提供し、かかる方法は、被験者においてIL-12活性が抑制されるように本発明の抗体又は抗体部分を被験者に投与することを含む。好ましくは、IL-12はヒトIL-12であり、被験者はヒト被験者である。その代わりに、被験者は、本発明の抗体と交叉反応するIL-12を発現する哺乳類でもありうる。さらに被験者は、hIL-12を導入された(hIL-12の投与によって又はhIL-12トランスジーンが発現によって)哺乳類でもありうる。本発明の抗体は治療のためにヒト被験者に投与することができる(下記でさらに論じる)。さらに、本発明の抗体は、獣医学的目的のため又はヒト疾患の動物モデルとして、抗体と交叉反応するIL-12を発現するヒト以外の哺乳類に投与することができる。後者に関しては、そのような動物モデルは本発明の抗体の治療効果を評価するために有用であると考えられる(例えば用量の試験及び投与の時間的経過)。

【0294】

ここで使用するとき、「IL-12活性が有害である疾患」の語句は、疾患に罹病している被験者におけるIL-12の存在が、疾患の病態生理の原因である又は疾患の悪化に寄与する因子であることが示されているか若しくは疑われる疾病及び他の障害を含むことが意図されている。従って、IL-12活性が有害である疾患は、IL-12活性の抑制が疾患の症状及び/又は進行を軽減することが期待される疾患である。そのような疾患は、例えば、上述したような抗IL-12抗体を用いて検出することができる、疾患に罹病している被験者の生体液中のIL-12の濃度上昇(例えば被験者の血清、血漿、滑液等におけるIL-12の濃度上昇)によって明らかにされうる。IL-12活性が有害である疾患の数多くの例が存在する。1つの実施形態では、当該抗体又はその抗原結合部分は、ここで述べる疾病又は障害を治療するために使用できる。もう1つの実施形態では、当該抗体又はその抗原結合部分は、ここで述べる疾病又は障害を治療するための薬剤の製造のために使用できる。いくつかの非制限的特定疾患の治療における本発明の抗体及び抗体部分の使用を下記でさらに論じる：

A. 慢性関節リウマチ

インターロイキン-12は、慢性関節リウマチのような炎症性疾患において役割を果たすことが示唆されてきた。誘導性IL-12 p40メッセージが慢性関節リウマチ患者からの滑液において検出され、IL-12が慢性関節リウマチ患者の滑液中に存在することが示された(例えば、Morita (1998) Arthritis and Rheumatism 41:306-314参照)。IL-12陽性細胞が慢性関節リウマチ滑膜の下内層に存在することが認められた。本発明のヒト抗体及び抗体部分は、例えば、慢性関節リウマチ、若年性関節リウマチ、ライム関節炎、リウマチ様脊椎炎、変形性関節症及び痛風性関節炎を治療するために使用できる。典型的には、当該抗体又は抗体部分は全身的に投与されるが、一部の疾患については抗体又は抗体部分の局所投与が有益であると考えられる。本発明の抗体又は抗体部分は、自己免疫疾患の治療において有用な1つ又はそれ以上の追加治療薬と共に投与することもできる。

【0295】

慢性関節リウマチのためのコラーゲン誘発の関節炎(CIA)マウスモデルにおいて、関節炎に先立って抗IL-12 mAb(ラット抗マウスIL-12モノクローナル抗体、C17.15)でマウスを処置すると、発症が強く抑制され、疾患の発生率と重症度が低下した。関節炎発症後早期に抗IL-12 mAbで処置すると重症度が低下したが、疾患の発症後、より後期に抗IL-12 mAbでマウスを処置した場合には、ごくわずかし

患の重症度に作用を及ぼさなかった。

【0296】

B．クローン病

インターロイキン - 12 は、炎症性腸疾患であるクローン病においても役割を果たす。クローン病の患者の腸粘膜では I F N - γ 及び I L - 12 の発現上昇が起こる（例えば F a i s ら（1994）J．Interferon Res．14：235 - 238；P a r r o n c h i ら（1997）Amer．J．Pathol．150：823 - 832；M o n t e l e o n e ら（1997）Gastroenterology 112：1169 - 1178；B e r r e b i ら（1998）Amer．J．Pathol．152：667 - 672 参照）。抗 I L - 12 抗体は、大腸炎のマウスモデル、例えば T N B S 誘発大腸炎の I L - 2 ノックアウトマウスにおいて、また最近では I L - 10 ノックアウトマウスにおいて疾患を抑制することが示された。それ故、本発明の抗体及び抗体部分は炎症性腸疾患の治療において使用することができる。

10

【0297】

C．多発性硬化症

インターロイキン - 12 は、多発性硬化症の鍵となるメディエータとして示唆されてきた。誘導性 I L - 12 p 40 メッセージ又は I L - 12 自体の発現を多発性硬化症の患者の病巣において明らかにすることができる（W i n d h a g e n ら（1995）J．Exp．Med．182：1985 - 1996、D r u l o v i c ら（1997）J．Neuro l．Sci．147：145 - 150）。多発性硬化症の慢性進行性患者は I L - 12 の高い循環レベルを有している。多発性硬化症の患者からの T 細胞と抗原呈示細胞（A P C）を検討すると、T h 1 型免疫応答を導く進行性多発性硬化症の基礎として、自己永続系の免疫相互作用が明らかになった。T 細胞からの I N F - γ の分泌上昇が A P C による I L - 12 産生の上昇を導き、それが T h 1 型免疫の活性化と疾患の慢性状態へと導くサイクルを永続化させた（B a l a s h o v ら（1997）Proc．Nat l．Acad．Sci．94：599 - 603）。多発性硬化症における I L - 12 の役割は、多発性硬化症のマウス及びラットの実験的アレルギー性脳脊髄炎（E A E）モデルを使用して検討されてきた。マウスにおける多発性硬化症の再発性 - 弛張性 E A E モデルにおいて、抗 I L - 12 m A b による前処置は麻痺を遅延させ、臨床スコアを低下させた。麻痺のピーク時又はその後の寛解期に抗 I L - 12 m A b で処置すると、臨床スコアを低下させた。従って、本発明の抗体又はその抗原結合部分は、ヒトにおける多発性硬化症に関連する症状を軽減するのに役立つと考えられる。

20

30

【0298】

D．インスリン依存性糖尿病

インターロイキン - 12 は、インスリン依存性糖尿病（I D D M）の重要なメディエータとして示唆されてきた。I D D M は I L - 12 の投与により N O D マウスにおいて誘発され、抗 I L - 12 抗体は I D D M の養子免疫伝達モデルにおいて保護的であった。早期発症の I D D M 患者はしばしば、ある程度の残存膵島細胞機能が維持される、いわゆる「ハネムーン期間」を経験する。これらの残存膵島細胞はインスリンを産生し、投与されるインスリンよりも良好に血中グルコースレベルを調節する。抗 I L - 12 抗体でこれらの早期発症患者を治療することは、膵島細胞のさらなる破壊を予防し、それによってインスリンの内因性ソースを維持すると考えられる。

40

【0299】

E．乾癬

インターロイキン - 12 は乾癬の鍵となるメディエータとして示唆されてきた。乾癬は、T H 1 型サイトカイン発現プロファイルに関連する急性及び慢性皮膚病変を含む。（H a m i d ら（1996）J．Allergy Clin．Immunol．1：225 - 231；T u r k a ら（1995）Mol．Med．1：690 - 699）。罹病ヒト皮膚サンプルにおいて I L - 12 p 35 及び p 40 m R N A が検出された。それ故、本発明の抗体又はその抗原結合部分は、乾癬のような慢性皮膚疾患を軽減するのに役立つと考えら

50

れる。

【0300】

下記の実施例により本発明をさらに説明するが、かかる実施例はいかなる意味においても制限と解釈されるべきではない。本明細書全体を通して引用される、文献参照、発行済特許、及び公開特許願を含めたすべての引用参考文献の内容は、明白に参照してここに組み込まれる。さらに、ここに添付するすべての表（付属物A参照）の内容が参照して組み込まれることは明白であらう。

【0301】

【表2】

表1 Kabatに従ったVH3ファミリーー生殖細胞系アミノ酸配列のナンバリング(比較のためにJ o e 9 V Hが含まれている)

SEQ ID	germline	CDR H1	CDR H2	付属物A
294	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DIYNQ	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
295	DP-29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
296	DP-30	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
297	K13-7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
298	VH026	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
299	DP-31	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
300	DP-32	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
301	DP-33	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
302	VH3-8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
303	Yac-9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
304	DP-38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
305	LSG2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
306	LSG3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
307	LSG4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
308	LSG6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
309	VJ-15	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
310	DP-39	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
311	DP-40	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
312	DP-59	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
313	VJ-16P	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
314	VJ-19P	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
315	VJ-13	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
316	DP-42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
317	DP-44	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
318	DP-45	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
319	DP-47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
320	11m	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
321	11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
322	VH26	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
323	B22e	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
324	B25	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
325	B37	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
326	B43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
327	B48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
328	B52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
329	B54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
330	cos-8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
331	DP-16	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
332	F2M	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
333	F3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
334	F7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
335	nv3005	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
336	P2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
337	DP-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
338	DP-58	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR
339		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS	DYHNS	FTISRDQSKNTLYLOHNSLKRTEDAVYTCAR

10

20

30

40

50

付属物A

表 1 Kabatに従ったVH3ファミリ一生殖細胞系アミノ酸配列の
ナンバリング (比較のためにJ o e 9 VHが含まれている)

SEQ ID NO:	germline VH	CDR H1	CDR H2
600	B1	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	MVRAQAPGKGLEWVA VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
601	B13	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
602	B18	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
603	B26	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
604	B28E	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
605	B29E	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
606	B29H	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
607	B30	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
608	B32H	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
609	CDR-3	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
610	dp-49	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
611	dp-50	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
612	P6	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
613	P9E	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
614	v3-30	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
615	v3-33	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
616	dp-51	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
617	dp-77	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
618	HNG4	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
619	v3-21	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
620	v3-48	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
621	DP-52	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
622	cos-6	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
623	dp-53	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
624	dp-54	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
625	dp-87	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
626	VH3-11	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
627	J0E9 VH	QVQLVQ8GGGVVQPGKSLRLSCAASGFTTS SYGHH	VI...SYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN

10

20

30

40

【 0 3 0 2 】
【 表 3 】

付属物A

表1 Kabatに従ったVH3ファミリー生殖細胞系アミノ酸配列の
ナンバリング (比較のためにJ o e 9 VHが含まれている)

SEQ ID	gene*	VL	CDR L1	CDR L2	CDR L3
MO:					
668	1b	DPL5	OSVLTQPPSV3AAPGQKVTISC	SGSSNIGNNY.VS	WYQQLPGTAPKLLIY
669	1d	DPL4	OSVLTQPPSV3AAPGQKVTISC	SGSSNIGNNT.VN	WYQQLPGTAPKLLIY
670	1c	DPL2	OSVLTQPPSV3AAPGQKVTISC	SGSSNIGSNT.VN	WYQQLPGTAPKLLIY
671	1g	DPL3	OSVLTQPPSV3AAPGQKVTISC	SGSSNIGSNT.VY	WYQQLPGTAPKLLIY
672	1a	DPL1	OSVLTQPPSV3AAPGQKVTISC	SGSSNIGNN.AVN	WYQQLPGTAPKLLIY
673	1f	DPL9	OSVLTQPPSV3AAPGQKVTISC	TGSSNIGAGYDVH	WYQQLPGTAPKLLIY
674	1e	DPL8	OSVLTQPPSV3AAPGQKVTISC	TGSSNIGAGYDVH	WYQQLPGTAPKLLIY
675		JOE9 VL	SVLTQPPSV3AAPGQKVTISC	SGSSNIGSNT.VK	WYQQLPGTAPKLLIY

*Williams, JMB, 1996, 264, 220-232

付属物 A

表 2

クローン	H3 配列番号	H3	L3 配列番号	L3	Kオフ	R Bアッセイ IC50 (M)	PHAアッセイ IC50 (M)	I F N γ IC50 (M)
Joe9 wt	77	SGSYDY	110	QSYDSSLRGSRV	1.00E-01	1.50E-06	1.00E-06	
Joe9 wt IgG1	77	SGSYDY	110	QSYDSSLRGSRV			5.00E-07	
70-1	78	HGSHDN	110	Joe9 wt	1.34 e-2		2.00E-07	
70-1 IgG1	78	HGSHDN	110	Joe9 wt			2.00E-07	
70-2	79	HGSHDN	110	Joe9 wt	3.30E-02		3-5.0E-7	
70-7	80	RRRSNY	110	Joe9 wt	1.29E-01		3-5.0E-7	
70-13	81	SGSI0Y	110	Joe9 wt	7.20E-02		3-5.0E-7	
78-34	77	wt	111	QSYDRGFTGSRV	1.64 e-2	2.00E-07	6.00E-07	
78-25	77	wt	112	QSYDSSLRGSRV	5.00E-02			
78-28	77	wt	112	QSYDSSLRGSRV	4.66E-02			
78-35	77	wt	113	QSYDSSLTGSRV	4.99E-02	4.00E-07		
79-1	77	wt	114	QSYDSSLMGSRV		2.00E-07	6.00E-07	
101-14	79	70-2	111	78-34	7.52E-03			
101-9	79	70-2	113	78-35	8.54E-03			
101-19	81	70-13	111	78-34	4.56E-02			
101-8	81	70-13	111	78-34	1.01E-02			
101-4	81	70-13	113	78-35	9.76E-03			
101-5	81	70-13	113	78-35	4.45E-02			
101-11 (12)	78	70-1	111	78-34	4.5 e-3		3.00E-08	
101-11 IgG1	78	70-1	111	78-34		1.60E-09		
26-1 (2,3)	78	70-1	114	79-1	7.4 e-3		6.00E-08	
136-9	82	HGSHDD	115	QTYDISEGSRV	3.20E-03			
136-10	82	HGSHDD	116	QSYDRGFTGSRV	1.40E-03	2.00E-09		
136-14	83	HGSHDN	117	QTYDRGFTGSRV	1.10E-03	3.00E-10	1.00E-07	
136-15	83	HGSHDN	118	QTYDKGFTGSSV	7.4 e-4	1.00E-10	2.00E-09	
136-15 germline	83	HGSHDN	118	QTYDKGFTGSSV	4.60E-04		6.00E-09	
136-16	83	HGSHDN	119	QSYDRRFTGSRV	6.10E-04	3.00E-10	5.00E-09	
136-17	83	HGSHDN	120	QSYDNNFTGSRV	2.90E-05	2.00E-09	7.00E-09	
136-18	83	HGSHDN	121	QSYDRGFTGSRV	1.10E-03	8.00E-10		
136-21	83	HGSHDN	122	QSYDNGFTGSRV	4.20E-04	2.00E-09		
136-24	83	HGSHDN	123	QSYDNAVASKV	8.90E-04	1.00E-09		

10

20

30

40

付属物A

表2

クローン	H3 配列番号	H3	L3 配列番号	L3	koff	RB assay IC50 (M)	PHA assay IC50 (M)	IFN gamma IC50 (M)
101-11	84	TT HGSHDN HQQG	124	QSYDRGEIGSRV	4.5x10 ⁻³	2x10 ⁻⁹	2.00E-08	
136-15M1	85	AK	124	QSYDRGFTGSRV	1.37x10 ⁻³	8x10 ⁻¹¹	3.00E-09	
149-4	86	S..	124		1.02x10 ⁻³	1.2x10 ⁻¹⁰	3.00E-09	
149-5	87	T	125	QSYDSSLWGTRV	2.73x10 ⁻³	6x10 ⁻¹⁰	2.00E-09	
149-6	84		124		1.13x10 ⁻³	9x10 ⁻¹⁰	3.00E-09	
149-7	84		126	D.....	2.33x10 ⁻³	3x10 ⁻⁹		
149-8	88	K.		...E.....M.	3.54x10 ⁻³	1.8x10 ⁻¹⁰		
149-9	89	K.H.	127	...N....A..	1.43x10 ⁻²	2x10 ⁻¹⁰	4.00E-09	
149-11	90	S..	128		3.73x10 ⁻³	neutralising		
149-12	84				2.22x10 ⁻³	5x10 ⁻¹⁰		
149-13	84					1.5x10 ⁻¹⁰	6.00E-09	
149-14	91	..R.N.						
		TT HGSHDN	124	QSYDRGEIGSRV				
156-1	92	T	126	D.....	5.00E-03			
156-2	93	T	129	R.....				
156-3	93	T	128	...N....A..	9.00E-03			
156-4	93	T	127	...E.....SM.				
156-5	93	T	130	.T..K....S.				
156-6	92		126	D.....	3.00E-03			
156-7	92		129	R.....				
156-8	92		128	...N....A..				
156-9	92		127	...E.....SM.				
156-10	92		130	.T..K....S.				
156-11	94	.K	126	D.....				
156-12	94	.K	129	R.....				
156-13	94	.K	128	...N....A..				
156-14	94	.K	127	...E.....SM.				
156-15	94	.K	130	.T..K....S.				
156-16	93	T	124					
156-17	92		125	...SSLW.T..	6.00E-03			
156-18	93	T	125	...SSLW.T..				

10

20

30

40

付属物A

表2

クローン	H3 配列番号	H3	L3 配列番号	L3	Kオフ	RB アッセイ IC50 (M)	PHA アッセイ IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
	92	TT HGSHDN	124	QSYDRGFTGSRV	2.9x10 ⁻³			
103-1	95	.. Q.R...	124		7.3x10 ⁻⁴	7.00E-11	1.00E-09	
103-2	96	K. R.R...	130	.T..K.....S.	2.5x10 ⁻³			
103-3	97	K	124	D...T..	4.5x10 ⁻⁴			
103-6			131	D...T..	3.7x10 ⁻⁴	1.40E-10	1.00E-09	
103-7	98	D	131	.T..K.....S.	3.3x10 ⁻⁴	6.00E-11	1.50E-09	
103-8	99	K.	130	QSYDRGFTGSMV	6.7 e-4	4.00E-11	1.20E-09	
103-14 & 9	100	KT HGSHDN	132	QTYDKGFTGSSV	5.3 e-4		1.50E-09	
103-8 & 2	100	KT HGSHDN	133	QSYDRGFTGARV	1.6 e-4	8.60E-11	9.00E-10	
103-4	101	TT HGSHDN	134	QSYERGTGARV		8.60E-11		
103-152	101	TT HGSHDN	135	QSYDRGFTGSRVF				
	102	TT SGSVDY	136	FK..	2.35E-03			
170-1	102		137	VSAY..	8.80E-04			
170-2	102		138	L.VTK..	1.11E-03			
170-3	102		139	Y.A....	8.11E-04			
170-4	102		140	K..	5.30E-04			
170-7	102		141	L..F...	4.40E-04			
170-11	102		142	YK..	1.59E-03			
170-13	102		143	L..Y.L.	4.43E-03			
170-15	102		144	DYK..	1.00E-03			
170-19	103	.. H..H.N	145	P.L.	3.89E-03			
170-21	104	.. H..Q.N	146	L.....	5.60E-04			
170-22	102		147	A..W	1.00E-03	2.00E-10		
170-23	103	.. H..H.N	148	Y...	2.80E-04	5.00E-10		
170-24	104	.. H..Q.N	149	P....	1.00E-05			
170-35	105	A..H..Q.N	136	M.S....	2.10E-04			
170-38			150	M.S....	2.79E-03			
170-39		HGSHDN	151	QSYDRDSTGSRVF	4.00E-04	2.00E-10		
170-36	83		152	QSYDSSLRGSRVF	5.00E-04	5.00E-11		
170-25	106	HGSQDT	153					

10

20

30

40

付属物A

表2

クローン	H3 配列番号	H3	L3 配列番号	L3	Kオフ	RB アッセイ IC50 (M)	PHA アッセイ IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
	106	SGSYDY	136	QBYDRGFUGSRVF				
73-B1	107	SGSYDY	154	H...SD.....	3.25E-03	>1E-8		
73-B2	107	SGSYDY	155	H.SES.....	2.07E-03			
73-B6	107	SGSYDY	156	H...NR.....	2.51E-03	>1E-8		
73-C1	107	SGSYDY	157	H...SR.....	2.71E-03	>1E-8		
73-C2	107	SGSYDY	158	...SE.....	3.79E-03			
73-C6	107	SGSYDY	159	...T.....	3.96E-03			
73-D1	107	SGSYDY	160	H...S.....	3.99E-03			
73-D2	107	SGSYDY	161	...T.....	3.56E-03			
73-D4	107	SGSYDY	162	H...TK.....	5.36E-03			
73-D5	107	SGSYDY	163	H.S.S.....	3.57E-03			
73-E3	107	SGSYDY	164	...SD.....	4.98E-03			
73-E6	107	SGSYDY	165	H..ES.....	4.17E-03			
73-F3	107	SGSYDY	166	...APWS.....	7.08E-03			
73-F5	107	SGSYDY	167	...DSD...K..	3.74E-03			
73-G2	107	SGSYDY	168	HTN.S.....	3.98E-03			
73-G3	107	SGSYDY	169	H...TR.....	3.50E-03			
73-G4	107	SGSYDY	170	...MR.....	6.58E-03			
73-G5	107	SGSYDY	171	H.S.SDS.....	6.01E-03			
73-G6	107	SGSYDY	172	...NTD.....	6.30E-03			
73-H2	107	SGSYDY	173	...S.....	5.93E-03			
73-F6	107	SGSYDY	174	H...M.....	5.87E-03			
73-H3	107	SGSYDY	175	H...N.....	6.85E-03			
73-C5	107	SGSYDY	176	H.H..D.....	4.84E-03			
73-B7	108	HGSQDN	177	QSYDSSLRGSRV	2.50E-03	7.00E-09		

10

20

30

40

付属物A

表 2

クローン	H3 配列番号	H3	L3 配列番号	L3	クオフ	RB アッセイ IC50 (M)	PHA アッセイ IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
			136	QBYDRGFTGSRVE				
M2 A2	83	HGSHDN	178	IH.....	4.00E-02			
M2 A4	83	HGSHDN	179	S..P.....	8.49E-03			
M2 A5	83	HGSHDN	180	I.S.....	4.01E-02			
M2 B1	83	HGSHDN	181	S.L.....	7.97E-03			
M2 B3	83	HGSHDN	182	I.M.....	4.60E-02			
M2 B4	83	HGSHDN	183	I.L.....	4.42E-02			
M2 B5	83	HGSHDN	184	S.V.....	8.38E-03			
M2 B6	83	HGSHDN	185	L.A....	2.81E-02			
M2 C2	83	HGSHDN	181	S.L.....	4.85E-02			
M2 C3	83	HGSHDN	186	T.L.....	4.62E-02			
M2 C4	83	HGSHDN	181	S.L.....	8.16E-03			
M2 C5	83	HGSHDN	187	TAL.....	4.71E-02			
M2 D1	83	HGSHDN	188	IR.....	3.71E-02			
M2 D2	83	HGSHDN	189	IRS.....	3.85E-02			
M2 D3	83	HGSHDN	190	NRI.....	3.33E-02			
M2 D4	83	HGSHDN	191	ETS.....	5.81E-02			
M2 D5	83	HGSHDN	192	SSS.....	5.18E-02			
M2 D6	83	HGSHDN	193	S...A....	5.01E-02			
M2 E1	83	HGSHDN	194	..T..K.....S..	5.32E-02			
M2 E2	83	HGSHDN	195	N.....	4.77E-02			
M2 E6	83	HGSHDN	196	T...K....	9.77E-03			
M2 F1	83	HGSHDN	197	SDV.....	6.16E-02			
M2 H5	83	HGSHDN	198	A.....	9.90E-03			

10

20

30

40

付属物A

表 2

クローン	H3 配列番号	H3	L3 配列番号	L3	κ オフ	RB アッセイ IC50 (M)	PHA アッセイ IC50 (M)	I FN γ IC50 (M)
A5	83	HGSHDN	124	QSYDRGFTGSHY	1.12E-03			
A12	83	HGSHDN	199	THPSML	1.43E-03			
A4	83	HGSHDN	200	TTPRPM	1.47E-03			
A6	83	HGSHDN	201	RNPALT	1.87E-03			
A10	83	HGSHDN	202	THPLH	1.87E-03			
A11	83	HGSHDN	203	NSPATV	2.07E-03			
C2	83	HGSHDN	204	TFSPQ	2.23E-03			
A8	83	HGSHDN	205	LNPST	2.37E-03			
B8	83	HGSHDN	206	KSNKHL	2.40E-03			
C6	83	HGSHDN	207	HTAHL	2.42E-03			
A3	83	HGSHDN	208	QPSIT	2.51E-03			
B11	83	HGSHDN	209	YPRNIL	2.95E-03			
B5	83	HGSHDN	210	ITPGLA	3.04E-03			
C10	83	HGSHDN	211	QPHAVL	3.10E-03			
C4	83	HGSHDN	212	NSPIPT	3.23E-03			
C3	83	HGSHDN	213	TNNSE	3.34E-03			
B2	83	HGSHDN	214	S.VDPGPY	3.61E-03			
A2	83	HGSHDN	215	RPRHAL	3.80E-03			
C5	83	HGSHDN	216	PTHPIR	3.91E-03			
A7	83	HGSHDN	217	PHTQPT	3.95E-03			
C9	83	HGSHDN	218	HNNFSP	3.97E-03			
B3	83	HGSHDN	219	PTHLP	4.12E-03			
C8	83	HGSHDN	220	TPSYPT	5.36E-03			
B7	83	HGSHDN	221	S.TSNLLP	5.45E-03			
A1	83	HGSHDN	222	DSNHDL	5.66E-03			
C7	83	HGSHDN	223	LPRLTH	5.83E-03			
C12	83	HGSHDN	224	IPTSYL	5.85E-03			
B10	83	HGSHDN	225	LRVOAP	6.04E-03			
B6	83	HGSHDN	226	LSDSPL	7.58E-03			
A9	83	HGSHDN	227	S.SLRRL	7.98E-03			
B9	83	HGSHDN	228	PARTSP	8.66E-03			
			229	RAHPQ				

10

20

30

40

付属物A

クローン	H3 配列番号	H3	L3 配列番号	L3	K オフ	RB アッセイ IC50 (M)	PHA アッセイ IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
			124	QBDRGTGSRV				
177-D7	83	HGSHDN	230	IQPABI	4.07E-04			
177-G6	83	HGSHDN	231	THPTMI	5.50E-04			
177-D9	83	HGSHDN	232	RIPABT	6.32E-04			
177-C6	83	HGSHDN	233	THPVPA	7.94E-04			
177-H5	83	HGSHDN	234	SBPIPA	1.32E-03			
177-H9	83	HGSHDN	235	THPVPA	1.58E-03			
177-H10	83	HGSHDN	236	THPTMY	3.44E-03			
144-F1	83	HGSHDN	237	HHYTFE	5.80E-04			
43-E3	83	HGSHDN	238	SHPAAE	8.00E-04			
43-E9	83	HGSHDN	239	TIPSIE	8.00E-04			
43-G2	83	HGSHDN	240	SSPAIM	7.00E-04			
43-G3	83	HGSHDN	241	IHENLN	9.00E-04			
31-A6	83	HGSHDN	242	THPNLN	5.00E-04			
31-B5	83	HGSHDN	243	THPSIS	5.00E-04			
			124	QBDRGTGSRV				
Y17	83	HGSHDN	244	QSYDRGSAHMIN	8.90E-05	4.50E-10	>1E-8	
Y19	83	HGSHDN	245	QSYDRGHPAMS	2.26E-04	3.00E-11	>1E-8	
Y38	83	HGSHDN	246	THPSIT	5.08E-04	5.50E-11	2.60E-09	
Y45	83	HGSHDN	247	TDPAIV	6.17E-04	4.00E-11	4.30E-09	
Y61	83	HGSHDN	248	THPALL	2.75E-4	4E-11	1.40E-10	
Y61 IgG	83	HGSHDN	248	THPALL	1.50E-04	1.60E-11	1.30E-10	
Y61 IgG germline	83	HGSHDN	248	THPALL	1.50E-04	1.60E-11	1.30E-10	1.60E-10
Y139	83	HGSHDN	249	SHPALT	5.92E-04	3E-11	4.50E-10	
Y139 IgG1	83	HGSHDN	249	SHPALT			1.00E-09	
Y174	83	HGSHDN	250	TTPAPE	7.55E-04	6E-11	2.00E-09	
Y177	83	HGSHDN	251	SHPTLI	6.61E-04	5E-11	1.00E-09	
A5	83	HGSHDN	252	THPSML	4.50E-04	6.60E-11		
A12	83	HGSHDN	253	TTPRPM	5.57E-04	2.50E-10		
D9	83	HGSHDN	254	RLPAQT	8.21E-04	3.5E-09	>>	
G6	83	HGSHDN	255	THPLTI	5.08E-04	1E-10	1.00E-09	
G6 IgG1	83	HGSHDN	255	THPLTI			1.00E-09	
C6	83	HGSHDN	256	QSYDRGTIPSIT	1.07E-03	3.5E-10	1.00E-08	
Y55	83	HGSHDN	257	QSYDRGTREQHY	1.06E-03	1.40E-10	>1E-8	

表2

10

20

30

40

付属物A

表 2

クローン	H3 配列番号	H3	L3 配列番号	L3	IC50	PHA IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
A4	83	HGSHDN	258	QSYDRGRNPALT	6.30E-04	2.50E-10	
A03	83	HGSHDN	259	QSYDRGTHPLTM	3.04E-04	3.00E-11	4.00E-10
A03 IgG1	83	HGSHDN	260	QSYDRGTHPLTM	3.04 e-4	2.90E-11	3.80E-10
A03 IgG germline	83	HGSHDN	260	QSYDRGTHPLTM	2.50E-04	3.50E-11	1.75E-10
99-B11	83	HGSHDN	261	QSYDSGYTGSRV	5.40E-03		
99-C11	83	HGSHDN	262	QSYDSGFTGSRV	5.70E-03		
99-H4	83	HGSHDN	263	QSYDSRFTGSRV	4.80E-03		
99-E9	83	HGSHDN	262	QSYDSGFTGSRV	5.40E-03		
99-H7	83	HGSHDN	264	QSYPDGTFASRV	3.30E-03		
99-H11	83	HGSHDN	265	QSYSTHMPISRV	4.90E-03		
99-F6	83	HGSHDN	266	QSYDSGFTGSRV	4.90E-03		
99-E7	83	HGSHDN	267	QSYNSYPIISRV	4.80E-03		
99-F8	83	HGSHDN	268	QSYRAPOQV	3.70E-03		
99-F11	83	HGSHDN	262	QSYDSGFTGSRV	5.40E-03		
99-G7	83	HGSHDN	269	QSYLKSRAFASRV	4.80E-03		
99-G11	83	HGSHDN	270	QSYDSRFTGSRV	4.30E-03		
L3.3R3M-B1	83	HGSHDN	124	QSYDRGFTGSRV			
L3.3R3M-B3	83	HGSHDN	271	FTGSMV	5.46E+00		
L3.3R3M-C6	83	HGSHDN	272	FTGSMV	5.51E+00		
L3.3R3M-F9	83	HGSHDN	273	FTGFDG	6.17E+00		
L3.3R3M-G8	83	HGSHDN	274	TAPALS	4.99E+00		
L3.3R3M-H6	83	HGSHDN	275	SYPALR	5.55E+00		
L3.3R3M-H10	83	HGSHDN	276	NWPNSN	5.69E+00		
L3.3R3M-A3	83	HGSHDN	277	TAPSL	5.35E+00		
L3.3R3M-F8	83	HGSHDN	278	FTGSMV	5.37E+00		
L3.3R3M-G1	83	HGSHDN	279	TTPRIR	4.99E+00		
L3.3R3M-G7	83	HGSHDN	280	FTGSMV	4.21E+00		
L3.3R3M-H11	83	HGSHDN	281	FTGSMV	4.24E+00		
	83	HGSHDN	282	MIPALT	3.95E+00		

10

20

30

40

付属物 A

表 2

クローン	H3 配列番号	H3	L3 配列番号	L3	K オフ	RB アッセイ IC50 (M)	PHA アッセイ IC50 (M)	IFN γ IC50 (M)
Y61-L94N	109	CKT HGSHDN	283	QSYDRNTHPALL			8.00E-11	
Y61-L94F	109	CKT HGSHDN	284	QSYDRFTHPALL			6.00E-11	
Y61-L94Y	109	CKT HGSHDN	285	QSYDRYTHPALL		2.00E-11	2.00E-11	
Y61-L94Y IgG	109	CKT HGSHDN	285	QSYDRYTHPALL	1.27E-04	6.00E-11	5.00E-11	4.00E-11
Y61-L50Y	109	CKT HGSHDN	286	QSYDRGTHPALL		2.00E-11		2.00E-11
Y61-L50Y* IgG	109	CKT HGSHDN	286	QSYDRGTHPALL	6.98E-05		2.00E-11	3.00E-11
Y61-L50Y-H31E** IgG	109	CKT HGSHDN	286	QSYDRGTHPALL	2.99E-05		6.00E-11	2.00E-11
Y61-L50Y-H31E- L94Y** IgG	109	CKT HGSHDN	287	QSYDRYTHPALL	4.64E-05		1.00E-11	1.00E-11
J695 (Y61-L94Y- L50Y IgG*)	109	CKT HGSHDN	287	QSYDRYTHPALL	5.14E-05	5.00E-11	1.00E-11	5.00E-12

*CDR L2: L50G to Y

**CDR L2: L50G to Y; CDR H1: H31S to E

【 0 3 0 3 】

【 表 4 】

10

20

30

40

表 3

Kab a t 番号	CDR H1					CDR H2										CDR H3																	
	27	28	29	30	31	32	33	34	35	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65								
Y61 VH	F	T	F	S	S	Y	G	M	H	F	I	R	Y	D	G	S	N	K	Y	A	D	S	V	K	G	H	G	S	H	D	N		
接触位置				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X									X	X	X	X	X			
過突然変異位置				X	X	X				X							X	X															
Kab a t 番号	CDR L1					CDR L2					CDR L3																						
	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	50	51	52	53	54	55	56	59	60	61	62	63	64	65	95	96	97	98	99	100	101	102
Y61 VL	S	G	G	R	S	N	I	G	S	N	T	V	K	G	N	D	Q	R	P	S	Q	S	Y	D	R	G	T	H	P	A	L	L	
接触位置						X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X															
過突然変異位置						X	X	X							X																		

x 接触位置及び／又は過突然変異位置

x

Y 6 1 において変異を生じた接触位置及び／又は過突然変異位置

【 0 3 0 4 】

【 表 5 】

10

20

30

表4：過剰の遊離IL-12p40の存在下での中和アッセイ					
配列番号	クローン	PHA アッセイ IC50 (M) p70:p40 1:0	PHA アッセイ IC50 (M) p70:p40 1:20	PHA アッセイ IC50 (M) p70:p40 1:50	
VH: 47	136-15	2.00E-09	5.00E-09	4.00E-09	
VL: 48					
VH: 51	149-5	6.50E-09	7.00E-09	4.00E-09	
VL: 52					
VH: 53	149-6	9.00E-10	1.00E-09	1.00E-09	
VL: 54					
VH: 84	149-7	3.50E-09	2.50E-09	4.00E-09	
VL: 126					
VH: 23	Y61 IgG	1.80E-10		1.80E-10	
VL: 24					
VH: 65	AO3 IgG1	2.50E-10		2.20E-10	
VL: 66					
VH: 31	J695	1.00E-11		3.50E-11	
VL: 32					

実施例

実施例1：抗IL-12抗体単離

ヒト扁桃 (scFv1と称される)、扁桃と末梢血リンパ球 (PBL) (scFv2と称される)、及び骨髓由来リンパ球 (BMDLと称される) から誘導されるmRNAからのヒトVL及びVH cDNAを使用して調製した3つの別個のファージディスプレイライブラリーをスクリーニングすることによってhIL-12に対する抗体を単離した。ライブラリーの構築と選択のための方法は、Vaughanら (1996) Nature Biotech. 14: 309-314に記述されている。

【0305】

抗原、ヒトIL-12p70サブユニット、ヒトIL-12p40サブユニット、キメラIL-12 (マウスp40/ヒトp35)、マウスIL-12、ビオチニル化ヒトIL-12及びビオチニル化キメラIL-12を使用して、ライブラリーをスクリーニングした。標準的な手順を用いて (Marksら (1991) J. Mol. Biol. 222: 581-597) 抗原をイムノチューブ上に被覆することにより、IL-12特異性抗体を選択した。IL-12又はビオチニル化IL-12を用いてscFvライブラリー2をスクリーニングし、有意の数のIL-12特異性結合剤を生成した。5つの異なるクローン型を選択し、BstN1酵素消化パターンによって測定して、DNA塩基配列決定によ

10

20

30

40

50

て確認した。主要なクローン型は、V H D P 5 8 / V L D P L 1 1、V H D P 7 7 / V L D P K 3 1、V H D P 4 7 / V L 及び V H D P 7 7 / V L D P K 3 1 であり、これらすべてが I L - 1 2 の p 4 0 サブユニットを認識した。

【 0 3 0 6 】

I L - 1 2 p 7 0 による B M D L ライブラリーのスクリーニングは 3 つの異なるクローン型を生じた。これらのうち 2 つは交叉反応性クローンであることが認められた。支配的なクローンを配列決定すると、V H D P 3 5 / V L D P で構成されていた。このクローンは I L - 1 2 の p 4 0 サブユニットを認識する。I L - 1 2 p 7 0 を用いた s c F v ライブラリー 1 のスクリーニングは特異的 I L - 1 2 抗体を生じなかった。

【 0 3 0 7 】

p 4 0 サブユニットではなく、I L - 1 2 の p 7 0 ヘテロダイマー又は p 3 5 サブユニットに選択的に結合する I L - 1 2 抗体を同定するため、結合 s c F v 1 + 2 ライブラリー及び B M D L ライブラリーを使用した。p 7 0 ヘテロダイマー又は p 3 5 サブユニットを認識する I L - 1 2 抗体を選択するため、ファージライブラリーを遊離 p 4 0 の存在下で予備インキュベーションして、選択した。単離したクローンを配列決定すると、9 種類の異なる抗体系列を明らかにした。サブユニットの選択性を「micro-Friguet」滴定によってさらに分析した。s c F v を含む上清を E L I S A においてピオチン捕獲 I L - 1 2 上で滴定し、E D₅₀ を決定した。5 0 % E D を生じる s c F v の濃度を、遊離 p 7 0 又は p 4 0 (阻害因子) の濃度を上昇させながら予備インキュベーションした。ピオチン - I L - 1 2 被覆したプレート上の E L I S A シグナルの低下を測定し、遊離 p 7 0 又は p 4 0 の濃度に対してプロットした。これは、p 7 0 と p 4 0 に関して各々のクローンについての I C₅₀ を提供した。両者のサブユニットについての滴定がオーバーラップする場合は、s c F v は p 4 0 と p 7 0 の両方に結合する。これからの何らかの変位は、p 4 0 に対する p 7 0 の選択性の度合を示す。

【 0 3 0 8 】

B . I L - 1 2 に特異的な抗体系列 (J o e 9) の親和性成熟クローンを、I L - 1 2 レセプタ結合アッセイ (R B A と称する) において I L - 1 2 がそのレセプタに結合するのを阻害する能力に関して試験し、また実施例 3 で述べるように、I L - 1 2 が誘発する、P H A 刺激ヒト芽細胞の増殖を阻害する能力に関して試験した (P H A アッセイ) 。クローン J o e 9 は R B A 及び P H A アッセイの両方で I C₅₀ 値が最も低く、両方のアッセイにおいて I C₅₀ 値は 1×10^{-6} M であった。さらに、J o e 9 の H 鎖可変領域 (V H) は、V B A S E データベースから同定された最も近い生殖細胞系配列、C O S - 3 と比べて最小の変化を有していた。表 1 (付属物 A 参照) は、C O S - 3 がそのメンバーである生殖細胞系配列の V H 3 ファミリー、ならびに生殖細胞系配列の V λ 1 ファミリーのメンバーを示している。それ故、J o e 9 を親和性成熟のために選択した。J o e 9 野生型 (J o e 9 w t) 抗体の V H 及び V L のアミノ酸配列を図 1 A - 1 D に示す。

【 0 3 0 9 】

J o e 9 の親和性を高めるため、H 鎖と L 鎖の両方の相補性決定領域 3 (C D R 3) の様々な突然変異を誘起した。H 鎖 C D R 3 (「 H 3 」 と称する) 又は L 鎖 C D R 3 (「 L 3 」 と称する) のいずれかに特異的な縮重オリゴヌクレオチドを使用し、各々の C D R 3 中平均 3 個の塩基置換 (「スパイク」と称する) で、部位特定 P C R 突然変異導入法によって C D R 3 変異体を作製した。H 鎖 C D R 3 の P C R 突然変異導入は、4 個のヌクレオチドすべてのランダム混合物、

【 0 3 1 0 】

【 化 1 】

5'TGTCCCTTGGCCCCA(G)(T)(A)(G)(T)(C)(A)(T)(A)(G)(C)(T)(C)(C)(C)(A)(C)(T)
GGTCGTACAGTAATA 3' (SEQ ID NO: 580)

を含む縮重 H 鎖オリゴヌクレオチドと、オリゴヌクレオチド p U C リバースタグ

【 0 3 1 1 】

【 化 2 】

GAC ACC TCG ATC AGC GGA TAA CAA TTTCAC ACA GG (SEQ ID NO: 581)

を使用して実施し、H鎖CDR3突然変異体のリストを作製した。親L鎖をJoe9逆
向きオリゴヌクレオチド

【 0 3 1 2 】

【 化 3 】

(5'TGG GGC CAA GGG ACA3' (SEQ ID

NO:582)

10

及びfdteteseq24+21オリゴヌクレオチド

【 0 3 1 3 】

【 化 4 】

(5'-ATT CGT CCT ATA CCG TTC

TAC TTT GTC GTC TTT CCA GAC GTT AGT-3' (SEQ ID NO: 583)

を使用して増幅した。

【 0 3 1 4 】

2つのPCR産物を相補性を用いて、PCR構築反応における2個の断片のアニーリング
を推進し、完全長の組換えscFvライブラリーをpUCリバースタグ（配列番号581
）とfdタグ

20

【 0 3 1 5 】

【 化 5 】

5'-ATT CGT

CCT ATA CCG TTC-3' (SEQ ID NO: 584)

で増幅した。4個のヌクレオチドすべてのランダム混合物、

【 0 3 1 6 】

【 化 6 】

5'GGTCCCAGTTCCGAAGACCCTCGAACC(C)(C)(T)(C)(A)(G)(G)(C)(T)

30

(G)(C)(T)(G)(T)(C)ATATGACTGGCAGTAATAGTCAGC 3' (SEQ ID NO: 585)

を含むL鎖オリゴヌクレオチドと、Joe9逆向きオリゴヌクレオチド

【 0 3 1 7 】

【 化 7 】

5'TGG GGC CAA GGG ACA3' (SEQ ID NO: 586)

を使用してL鎖のPCR突然変異導入を実施し、L鎖CDR3突然変異体のリストを作製
した。親H鎖をpUCリバースタグ（配列番号581）及びHuJH3FORオリゴヌク
レオチド

40

【 0 3 1 8 】

【 化 8 】

5'TGAAGAGACGGTGACCATTGTCCC3' (SEQ ID NO: 587)

で増幅した。2つのPCR産物を相補性を用いて、PCR構築反応における2個の断片の
アニーリングを推進し、完全長の組換えscFvライブラリーをリバースタグ

【 0 3 1 9 】

【 化 9 】

GAC ACC TCG ATC AGC G (SEQ ID NO: 588)

及びHuJλ2-3FOR NOTオリゴヌクレオチド

50

【 0 3 2 0 】

【 化 1 0 】

5'GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG GAC

GGT CAG CTT GGT CCC 3' (SEQ ID NO: 589)

で増幅した。

【 0 3 2 1 】

1 n M ビオチニル化 I L - 1 2 を用いて H 鎖 C D R 3 突然変異体を選択し、遊離 I L - 1 2 又は p 4 0 を 7 n M の濃度で含む P B S 中、室温で 1 時間洗浄した。クローンをファージ E L I S A によって分析し、I L - 1 2 に結合したものを、低密度 I L - 1 2 チップを使用して B I A コア反応速度結合試験において検討した（実施例 5 の B I A コア分析の手順参照）。一般に B I A コア分析は、B I A コアシステム（P h a r m a c i a B i o s e n s o r , P i s c a t a w a y , N J ）を用いて、表面プラスモン共鳴（S P R ）によりリガンド（バイオセンサーマトリックス上に固定された組換えヒト I L - 1 2 ）と分析物（溶液中の抗体）間のリアルタイムの結合相互作用を測定する。このシステムは、デキストランバイオセンサーマトリックス内のタンパク濃度の変化を検出するために S P R の光学特性を利用する。タンパクを既知の濃度でデキストランマトリックスに共有結合させる。デキストランマトリックスを通して抗体を注入すると、注入した抗体と固定されたリガンド間の特異結合によりマトリックスのタンパク濃度が上昇し、S P R シグナルの変化を生じさせる。これらの S P R シグナルの変化を共鳴単位（R U ）として記録し、センサーグラムの y 軸に沿って経時的に表示する。オフ速度（ k_{off} ）、オン速度（ k_{on} ）、結合速度（ K_a ）及び解離速度（ K_d ）定数を測定するため、B I A コア反応速度評価ソフトウェア（2.1 バージョン）を使用した。 k_{off} 速度の改善を示したクローンを中和アッセイによって分析した。中和アッセイは、抗体による I L - 1 2 のレセプタへの結合の障害（R B A アッセイ）、P H A 刺激ヒト芽細胞における I L - 1 2 誘導の増殖の障害（P H A アッセイ）、及びヒト芽細胞による I L - 1 2 誘導のインターフェロン γ 産生の障害（I F N γ アッセイ）を含んだ。H 鎖 C D R 3 のスパイククローン、7 0 - 1 から 7 0 - 1 3 までについての、中和アッセイからの解離速度及び / 又は I C ₅₀ 値の要約を表 2 に示す（付属物 A 参照）。クローン 7 0 - 1 は、親である J o e 9 クローンよりも良好な k_{off} 速度を示し、 2.0×10^{-7} M という最も低い I C ₅₀ 値を有していた。それ故、クローン 7 0 - 1 を完全な I g G 1 への変換のために選択した。

【 0 3 2 2 】

1 n M ビオチン - I L - 1 2 を用いて L 鎖 C D R 3 突然変異体を選択し、7 n M の遊離 p 4 0 を含む P B S で洗浄した。クローンをファージ E L I S A でスクリーニングし、I L - 1 2 に結合したものを、低密度 I L - 1 2 チップを使用して B I A コア結合分析において試験した。親 J o e 9 クローンよりも良好なオフ速度を示したクローンを、I L - 1 2 レセプタ結合の障害又は P H A 芽細胞増殖の障害のいずれかを測定する中和アッセイにおいて試験した。L 鎖 C D R 3 の突然変異体クローン、7 8 - 3 4 から 7 9 - 1 までについての、中和アッセイからの解離速度及び / 又は I C ₅₀ 値の要約を表 2 に示す（付属物 A 参照）。

【 0 3 2 3 】

k_{off} 速度に基づく、クローン 7 8 - 3 4 と 7 8 - 3 5 は親 J o e 9 クローンと比較して改善された k_{off} 速度を示した。これらのクローンの両方を H 鎖突然変異体との組合せ分析のために選択した。

【 0 3 2 4 】

C . 組合せクローン

最良の結合特性を示した突然変異体 L 鎖及び H 鎖クローンを、組合せと s c F v の構築のために使用した。改善された効力特性を持つ突然変異体クローンを、上述したような突然変異を生じた V H 及び V L セグメントの P C R オーバーラップ伸長とプル・スルー（p u l l - t h r o u g h ）によって組み合わせた。表 2（付属物 A 参照）に示すクローン 1

01 - 14 から 26 - 1 まだが、H鎖突然変異体 (70 - 2、70 - 13 及び 70 - 1) と L鎖突然変異体 (78 - 34、78 - 35 及び 79 - 1) の組合せから生成された。これらのクローンに関する中和アッセイからの k_{off} 速度及び / 又は IC_{50} を表 2 に示す。

【0325】

BIA コア結合分析により、H鎖 CDR3 突然変異体クローン 70 - 1 と L鎖 CDR3 突然変異体クローン 78 - 34 の組合せから生成されたクローン 101 - 11 は、0.0045^s - 1 のオフ速度を持つと同定された。この k_{off} 速度は、H鎖 CDR3 突然変異体クローン 70 - 1 (0.0134^s - 1) あるいは L鎖 CDR3 突然変異体クローン 78 - 34 (0.0164^s - 1) 単独についての k_{off} 速度に比べて有意の改善であった。さらに、クローン 101 - 11 は中和アッセイにおいて有意の改善を示した。それ故、クローン 101 - 11 を下記に述べるような親和性成熟のために選択した。

【0326】

D. クローン 101 - 11 の親和性成熟

クローン 101 - 11 のさらなる親和性成熟は、スパイクオリゴヌクレオチドプライマーを使用した 101 - 11 の H鎖及び L鎖 CDR3 の両方の PCR 突然変異導入のサイクルの繰り返しから成るものであった。バイオニル化 IL - 12 (bio - IL - 12) の濃度が低いクローンを選択した。突然変異を生じたクローンの結合特性を BIA コア結合アッセイ及び RBA、PHA 中和アッセイによって評価した。クローン 136 - 9 から 170 - 25 までについての k_{off} 速度及び / 又は IC_{50} 値を表 2 に示す (付属物 A 参照)。クローン 103 - 14 は、レセプタ結合アッセイと PHA 芽細胞アッセイの両方で改善された IC_{50} 値を示した。クローン 103 - 14 は低い k_{off} 速度も示し、それ故、さらなる親和性成熟のための選択した。

【0327】

E. クローン 103 - 14 の L鎖 CDR3 のランダム化ライブラリーの作製と選択

クローン 103 - 14 の L鎖 CDR3 (QSYDRGF TGS MV (配列番号 590)) を、下記に概説する 3 つの異なるライブラリーを使用して系統的にランダム化した。X は、配列 NNS 配列のランダム化コドンによってコードされ、N は何らかのヌクレオチド、S はデオキシシトシン又はデオキシグアニンのいずれかである。

L3.1 = XXXXX F TGS MV (配列番号 591)

L3.2 = QSYXXXXX S MV (配列番号 592)

L3.3 = QSYDRGX XXXX (配列番号 593)

クローン 103 - 14 の 3 つの L鎖 CDR (L3.1、L3.2 及び L3.3 と称する) すべてのランダム化突然変異誘発を実施した。クローン 103 - 14 の H鎖 CDR3 (H3 と称する) は突然変異を起こさなかった。クローン 103 - 14 に基づく 4 つのランダム化ライブラリー (H3 及び L3.1、L3.2 & L3.3) を構築し、抗原濃度の制限及び過剰の遊離抗原 (p40 及び p70) の存在又は不在を使用することを含む、幅広い選択条件に供した。選択からの産物 (クローン 73 - B1 から 99 - G11 まで) を主として BIA コアによって、また場合によっては RBA でスクリーニングして、表 2 に示している (付属物 A 参照)。

【0328】

103 - 14 の L鎖 CDR のランダム突然変異誘発はクローン Y61 を生じ、かかるクローンは、親クローン 103 - 14 に比べて IC_{50} 値の有意の改善を示した。Y61 を全体的 IgG1 への変換のために選択した。全体的 Y61 - IgG1 は、PHA アッセイにより約 130 pM と測定された IC_{50} 値を持つ。 IC_{50} 値は 50 倍モル過剰の遊離 p40 によっても影響されず、遊離 p40 が Y61 抗 IL - 12 抗体と交叉反応せず、ヘテロダイマーへの抗体結合を低下させないことを明らかにした。Y61 H鎖可変領域と L鎖可変領域の完全長配列を下記に示す。

【0329】

Y61 H鎖可変領域ペプチド配列

【 0 3 3 0 】

【 化 1 1 】

CDR H1

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASFTFS **SYGMH** WVRQAPGKGLEWVA

CDR H2

FIRYDGSNKYYADSVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKT

CDR H3

HGSHDN WGQGTMTVTSS (SEQ ID NO: 23)

10

Y 6 1 L 鎖可変領域ペプチド配列

【 0 3 3 1 】

【 化 1 2 】

CDR L1

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISC **SGGRSNIGSNTVK** WYQQLPGTAPKLLIY

CDR L2

GNDQRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC

20

CDR L3

QSYDRGTHPALL FGTGTVTVLG (SEQ ID NO:24)

C D R 残基は K a b a t の定義に従って割り当てている。

【 0 3 3 2 】

実施例 2：過突然変異及び接触位置における Y 6 1 の突然変異

典型的には、改善された親和性を持つ組換え抗体の選択はファージディスプレイ法を用いて実施できる。これは、C D R 残基の組合せをランダムに突然変異させて、異なる配列の一本鎖抗体を含む大きなライブラリーを作製することによって実現される。典型的には、抗体 - 抗原反応において平衡に達する能力に基づいて、改善された親和性を持つ抗体を選択する。しかし、Y 6 1 s c F V がファージ表面に発現されて、I L - 1 2 と共にインキュベーションしたとき、系が正常な抗体 - 抗原平衡に達することを可能にする選択条件を見出すことができなかった。精製 Y 6 1 s c F v は正常な解離動態を示すので、s c F V - ファージは、おそらく非特異的相互作用のために I L - 1 2 に結合したままであった。Y 6 1 へのファージディスプレイ親和性成熟の通常の方法（すなわち多数の C D R 残基の突然変異誘発によるライブラリーの作製と選択）が使用できなかったため、個々の C D R 位置を突然変異させる新しい戦略を開発した。

30

【 0 3 3 3 】

この戦略は、突然変異のための適切な C D R 位置の選択を含み、好ましい選択突然変異位置、接触位置、及び / 又は過突然変異位置であるアミノ酸の同定と選択に基づく。接触位置は、抗原が抗体と相互作用するとき抗原と接触する確率の高い残基と定義され、一方過突然変異位置は、i n v i v o での抗体の親和性成熟の間に体細胞過突然変異を起こす確率が高いとみなされる残基と定義される。好ましい選択突然変異誘発位置は、接触と過突然変異の両方の位置にあたる C D R 位置である。Y 6 1 抗体は実施例 1 で述べた手順を用いて C D R 3 領域で既に至適化されており、それ故、ファージディスプレイ選択法を使用して抗体結合部位の中心にある領域をさらに改善することは困難であった。有害な抗原 - 抗体接触を取り除くことによって、又は新しい接触を設計することによって、C D R 3 領域の外側の潜在的接触位置の突然変異によって活性のより大きな改善を得た。

40

【 0 3 3 4 】

抗原との接触点とみなされる Y 6 1 のアミノ酸残基及び i n v i v o 親和性成熟の間の

50

体細胞過突然変異の部位であるそれらのCDR位置を表3に示す(付属物A参照)。Y61親和性成熟のために、CDR3の外側の15残基、L3ループ内の3残基、及びH3ループの5残基をPCR突然変異誘発のために選択した。

【0335】

Y61 scFv遺伝子を突然変異誘発のためにpUC119(Sfi)プラスミドベクターにクローニングした。各々の選択位置に突然変異を生じさせるためにランダム化コドンでオリゴヌクレオチドを設計し、合成した。PCR突然変異誘発後、少数のクローン(〜24個)を配列決定し、宿主細胞、例えば細菌、酵母又は哺乳類宿主細胞において発現した。発現された抗体を精製し、BIAコアシステムを用いて k_{off} を測定した。次にY61と比較して改善されたオフ速度を持つクローンを中和アッセイにおいて試験した。この手順を他のCDR位置についても繰り返した。改善された中和活性を持つことを示す個々の突然変異を組み合わせ、さらに一層大きな中和潜在能を持つ抗体を作製した。

10

【0336】

中和効力を改善するために突然変異させたY61のCDR位置、及び各位置でのそれぞれのアミノ酸置換を図2A-2Hに示す。BIAコア分析によって測定したオフ速度を示している。これらのオフ速度は各々の表の右側のヒストグラムにも示している。

【0337】

H30、H32、H33、H50、H53、H54、H58、H95、H97、H101、L50、L92、L93の位置でのこれらの置換の結果は、検討したすべてのアミノ酸置換がY61よりも低いオフ速度を持つ抗体を生じたことを明らかにした。H52、L32、及びL50の位置で、1個のアミノ酸置換だけがY61のオフ速度を改善することが認められ、他の変化はすべて活性に好ましくない作用を及ぼした。L50については、この1個のGly→Tyr変化はY61の中和効力を有意に(5-10倍)改善した。結果はY61活性へのこれらの位置の重要性を明らかにしており、ほとんどの場合にファージディスプレイが至適残基を選択できたことを示唆している。しかし、H31、H56、L30、及びL94の位置では、いくつかの置換がY61のオフ速度を改善することが認められ、ファージディスプレイアプローチでは至適残基を選択できなかったが、これらの位置も抗原結合にとって重要であることを示唆した。

20

【0338】

Y61の接触位置及び過突然変異位置の選択突然変異は、Y61の中和能力を改善する、L鎖CDR2のアミノ酸残基L50、及びL鎖CDR3の残基L94を同定した。これらの突然変異の組合せは付加的な効果を生み出し、中和能力の有意の上昇を示す抗体、J695を生じた。J695のH鎖及びL鎖可変領域配列の完全長配列を下記に示す。

30

【0339】

J695のH鎖可変領域ペプチド配列

【0340】

【化13】

CDR H1

QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFS **SYGMH** WVRQAPGKGLEWVA

40

CDR H2

FIRYDGSNKYYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKT

CDR H3

HGSHDN WGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 31)

J695のL鎖可変領域ペプチド配列

【化14】

CDR L1

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISC SGSRNIGSNTVK WYQQLPGTAPKLLIY

CDR L2

YNDQRPS GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC

CDR L3

QSYDRYTHPALL FGTGKVTVLG (SEQ ID NO: 32)

10

C D R 残基は K a b a t の定義に従って割り当てている。

【 0 3 4 1 】

J o e 9 から J 6 9 5 までの経路にあるクローンの系列発生を示す H 鎖及び L 鎖可変領域配列の整列の要約を図 1 A - 1 D に示す。C D R 及び残基の番号付けは K a b a t に従っている。

【 0 3 4 2 】

実施例 3 : 抗 h I L - 1 2 抗体の機能的活性

本発明のヒト抗ヒト I L - 1 2 抗体の機能的活性を調べるため、抗体が I L - 1 2 活性を阻害する能力を測定するいくつかのアッセイにおいて抗体を使用した。

【 0 3 4 3 】

20

A . ヒト P H A 活性化リンパ芽球の調製

C u r r e n t P r o t o c o l s i n I m m u n o l o g y , U n i t 7 . 1 に述べられているように 1 5 0 0 r p m で 4 5 分間のフィコール - ハイパック比重差遠心によって健常ドナーから採集したロイコパックから、ヒト末梢血単核細胞 (P B M C) を単離した。水性血液溶液とリンパ球分離媒質の界面で P B M C を採集し、1 5 0 0 r p m で 1 5 分間の遠心分離によりリン酸緩衝生理食塩水 (P B S) で 3 回洗浄してフィコール - パック粒子を除去した。

【 0 3 4 4 】

次に C u r r e n t P r o t o c o l s i n I m m u n o l o g y , U n i t 6 . 1 6 に述べられているように P B M C を活性化してリンパ芽球を形成した。洗浄した P B M C を、0 . 2 % (v / v) P H A - P (D i f c o , D e t r o i t , M I) を補足した R P M I 完全培地 (R P M I 1 6 4 0 培地、1 0 % 胎児ウシ血清 (F B S) 、1 0 0 U / m l ペニシリン、1 0 0 μ g / m l ストレプトマイシン) 中に 0 . 5 - 1 × 1 0 ⁶ 細胞 / m l で再懸濁し、5 % C O ₂ 大気中 3 7 ° で 4 日間培養した。4 日後、細胞培養を、R P M I 完全培地プラス 0 . 2 % (v / v) P H A - P 及び 5 0 U / m l 組換えヒト I L - 2 中、容量ベースで 1 : 1 に分けた。組換えヒト I L - 2 は、ヒト I L - 2 c D N A を担う発現ベクターを C O S 細胞にトランスフェクションすることによって生成し (K a u f m a n ら (1 9 9 1) N u c l e i c A c i d s R e s . 1 9 , 4 4 8 4 - 4 4 9 0 参照)、P C T / U S 9 6 / 0 1 3 8 2 号に述べられているように精製した。次に細胞培養をさらに 1 - 3 日間インキュベーションした。P H A 芽細胞を採集し、R P M I 完全培地で 2 回洗浄して、9 5 % F B S 、5 % D M S O 中 1 0 × 1 0 ⁶ 細胞 / m l で冷凍した。

30

40

【 0 3 4 5 】

I L - 1 2 レセプタ結合アッセイ (B 項参照) に使用する P H A 芽細胞は、I L - 2 の存在下で 1 日培養したあと採集し、一方 P H A 芽細胞増殖アッセイ (C 項参照) 及びインターフェロン - γ 誘導アッセイ (D 項参照) に使用する P H A 芽細胞は、I L - 2 の存在下で 3 日間の培養後に採集した。

【 0 3 4 6 】

B . I L - 1 2 レセプタ結合アッセイ

抗 I L - 1 2 抗体が、P H A 芽細胞上の I L - 1 2 レセプタへの放射標識 I L - 1 2 の結

50

合を阻害する能力を次のように分析した。種々の濃度の抗IL-12抗体を、結合緩衝液(RPMI 1640、5% FBS、25 mM HEPES pH 7.4)中で50-100 pMの¹²⁵I-hIL-12(Bolton-Hunter標識法を使用してNE N-Dupontからヨウ素標識hIL-12を20-40 mCi/mgの比活性で調製した)と共に37℃で1時間ブレインキュベーションした。上述したように分離したPHA芽細胞を1回洗浄して、結合緩衝液中に 2×10^7 細胞/mlの細胞密度で再懸濁した。PHA芽細胞(1×10^6 細胞)を抗体/¹²⁵I-hIL-12混合物に加え、室温で2時間インキュベーションした。アッセイ混合物を室温で30秒間遠心分離にかけ、液体を吸引して、0.1 ml結合緩衝液で洗ったあと、10,000×gで4分間、4℃で遠心分離して、細胞結合放射能を遊離¹²⁵I-hIL-12から分離した。ガンマカウンターを使用して、細胞ペレットを細胞結合放射能に関して検査した。抗体不在で総結合を測定し、アッセイに25 nM非標識IL-12を含めることによって非特異的結合を測定した。インキュベーションは2回実施した。

【0347】

Y61及びJ695ヒト抗IL-12抗体を用いたIL-12レセプタ結合アッセイでは、両方の抗体がIL-12レセプタ結合の同等の阻害を示した。Y61は約 1.6×10^{-11} MのIC₅₀値でIL-12レセプタ結合を阻害し、J695は約 1.1×10^{-11} MのIC₅₀値であった。

【0348】

C. ヒトPHA芽細胞増殖アッセイ

抗IL-12抗体を、PHA芽細胞増殖(かかる増殖はIL-12によって刺激される)を阻害する能力に関して評価した。抗IL-12抗体の連続希釈を、マイクロタイタープレート(U底、96穴、Costar, Cambridge, MA)の100 ml RPMI完全培地中で、230 pg/mlのhIL-12と共に5% CO₂、37℃で1時間ブレインキュベーションした。上述したように分離したPHA芽細胞を1回洗浄し、RPMI完全培地中に 3×10^5 細胞/mlの細胞密度で再懸濁した。PHA芽細胞(100 ml、 3×10^4 細胞)を抗体/hIL-12混合物に加え、5% CO₂、37℃で3日間インキュベーションし、0.5 mCi/穴(³H)-チミジン(Amersham, Arlington Heights, IL)で4-6時間標識した。培養内容物をセルハーベスター(Tomtec, Orange, CT)によってガラス繊維フィルター上に採集し、細胞DNAへの(³H)-チミジンの取込みを液体シンチレーションカウンターで測定した。すべてのサンプルを2回検定した。

【0349】

種々の濃度のp70:p40(すなわちIL-12ヘテロダイマー対遊離p40サブユニットの比率)の存在下での中和の結果を表4に示す(付属物A参照)。

【0350】

PHA芽細胞増殖アッセイにおけるY61ヒト抗IL-12抗体の分析は、過剰のp40を含まないIL-12 p70だけの存在下で(p70:p40の比率は1:0)、抗体が約 1.8×10^{-10} MのIC₅₀値でPHA芽細胞増殖を阻害したことを明らかにした。50倍過剰の遊離p40の存在下では(p70:p40の比率は1:50)、Y61抗体は約 1.8×10^{-10} MのIC₅₀値でPHA芽細胞増殖を阻害した。この結果は、Y61が芽細胞増殖を阻害する能力は過剰のp40の存在によって損なわれないことを示している。

【0351】

ヒト抗IL-12抗体、J695は、1:0の比率のp70:p40の存在下で、約 1.0×10^{-11} MのIC₅₀値でPHA芽細胞増殖を阻害した。1:50の比率のp70:p40の存在下では、この抗体は約 $5.8 \pm 2.8 \times 10^{-12}$ M(n=2)のIC₅₀値でPHA芽細胞増殖を阻害し、過剰のp40が抗体に対してごくわずかな阻害作用を及ぼすことを明らかにした。全体的な結果は、L50及びL94での突然変異により、Y61と比較してJ695の改善された中和活性を示している。

【 0 3 5 2 】

D . インターフェロン - γ 誘導アッセイ

抗 I L - 1 2 抗体が、P H A 芽細胞による I F N γ の産生（かかる産生は I L - 1 2 によって刺激される）を阻害する能力を次のように分析した。種々の濃度の抗 I L - 1 2 抗体を、マイクロタイタープレート（U 底、9 6 穴、C o s t a r）の 1 0 0 m l R P M I 完全培地中で、2 0 0 - 4 0 0 p g / m l の h I L - 1 2 と共に 5 % C O ₂、3 7 °C で 1 時間ブレインキュベーションした。上述したように単離した P H A 芽細胞を 1 回洗浄し、R P M I 完全培地中に 1×10^7 細胞 / m l の細胞密度で再懸濁した。P H A 芽細胞（ 1×10^6 細胞 1 0 0 μ l）を抗体 / h I L - 1 2 混合物に加え、5 % C O ₂、3 7 °C で 1 8 時間インキュベーションした。インキュベーション後、細胞不含上清 1 5 0 μ l を各穴から取り出し、産生されたヒト I F N γ のレベルを E L I S A（E n d o g e n I n t e r f e r o n g a m m a E L I S A, E n d o g e n, C a m b r i d g e, M A）によって測定した。

10

【 0 3 5 3 】

このアッセイにおけるヒト抗 h I L - 1 2 抗体、Y 6 1 の分析は、Y 6 1 が約 1.6×10^{-10} M の I C ₅₀ 値でヒト I F N γ の産生を阻害したことを明らかにし、一方ヒト抗 I L - 1 2 抗体、J 6 9 5 は約 $5.0 \pm 2.3 \times 10^{-12}$ M（n = 3）の I C ₅₀ 値でヒト I F N γ の産生を阻害した。この結果は、L 5 0 と L 9 4 における修飾の結果として J 6 9 5 の親和性の実質的な改善を示している。

【 0 3 5 4 】

E . 分離した P B M C からの非ヒト I L - 1 2 の誘導

ヒト抗 h I L - 1 2 抗体と他の種からの I L - 1 2 の交叉反応性を調べるため、非ヒト I L - 1 2 を次のように生成した。カニクイザル、ヒヒ及びイヌ、P B M C についてはリンホブレップ（N y c o m e d, O s l o, N o r w a y）、イヌ P B M C については A c c u - p a q u e（A c c u r a t e C h e m i c a l & S c i . C o r p., W e s t b u r y, N Y）、あるいはラット P B M C については L y m p h o l y t e - r a t（A c c u r a t e C h e m i c a l & S c i . C o r p., W e s t b u r y, N Y）を使用して、上述したような密度勾配遠心分離によって新鮮ヘパリン化血から P B M C を分離した。

20

【 0 3 5 5 】

次に P B M C を上述したように誘導して I L - 1 2 を生成した（D ' A n d r e a ら（1 9 9 2）J . E x p . M e d 1 7 6, 1 3 8 7 - 1 3 9 8、V i l l i n g e r ら（1 9 9 5）J . I m m u n o l . 1 5 5, 3 9 4 6 - 3 9 5 4、B u e t t n e r ら（1 9 9 8）C y t o k i n e 1 0, 2 4 1 - 2 4 8）。洗浄した P B M C を、0 . 0 0 7 5 %（w / v）の S A C（P a n s o r b i n; C a l b i o c h e m - B e h r i n g C o., L a J o l l a, C A）又は 1 - 5 m g / m l C o n A（S i g m a C h e m i c a l C o., S t . L o u i s, M O）プラス 0 . 0 0 7 5 % S A C を補足した R P M I 完全培地に 1×10^6 細胞 / m l で再懸濁し、5 % C O ₂ 大気中 3 7 °C で 1 8 時間インキュベーションした。細胞不含で S A C 不含の培地を、遠心分離と 0 . 2 m m フィルターを通して濾過することによって採集した。

30

40

【 0 3 5 6 】

アカゲザルからの I L - 1 2 は、E m o r y U n i v e r s i t y S c h o o l o f M e d i c i n e, A t l a n t a, G A から組換えアカゲザル I L - 1 2 として入手した。

【 0 3 5 7 】

F . マウス 2 D 6 細胞増殖アッセイ

マウス T 細胞クローン 2 D 6 はマウス I L - 2、I L - 4、I L - 7 及び I L - 1 2 に応答して増殖する（M a r u o ら（1 9 9 7）J . L e u k o c y t e B i o l . 6 1, 3 4 6 - 3 5 2）。ラット I L - 1 2 を含むラット P B M C 上清に応答した有意の増殖も検出された。かかる細胞はイヌ、カニクイザル、ヒヒ又はヒト I L - 1 2 には応答しない

50

。50 mM β -メルカプトエタノール (β ME) と 30 ng/ml のマウス IL-12 を補足した RPMI 完全培地中でマウス 2D6 細胞を増殖させた。アッセイの 1 日前に、マウス IL-12 を洗い出し、細胞を RPMI 完全培地プラス β ME 中でひと晩インキュベーションした。

【0358】

抗 IL-12 抗体の連続希釈を、マイクロタイタープレート (U 底、96 穴、Costar) において 100 ml RPMI 完全培地プラス β ME 中で、40 pg/ml のマウス IL-12 と共に 5% CO₂、37 °C で 1 時間プレインキュベーションした。2D6 細胞を 1 回洗浄し、 β ME を含む RPMI 完全培地に 1×10^5 細胞/ml の細胞密度で再懸濁した。2D6 細胞 (100 μ l、 1×10^4 細胞) を抗体/hIL-12 混合物に加え、5% CO₂、37 °C で 3 日間インキュベーションし、0.5 mCi/穴 (³H)-チミジンで 4-6 時間標識した。培養内容物を採集し、液体シンチレーションカウンターで計数した。すべてのサンプルを 2 回検定した。

10

【0359】

G. 非ヒト IL-12 と J695 の種交叉反応性

いくつかのヒト以外の種から分離した PBMC を使用して非ヒト IL-12 と J695 の種交叉反応性を分析した。ラット、イヌ、カニクイザル及びヒヒ PBMC 上清中の非ヒト IL-12 活性の存在を、マウス 2D6 細胞増殖アッセイ、ヒト PHA 芽細胞増殖アッセイ、及びマウス及び/又はヒト IL-12 に対するウサギ及び/又はヒツジポリクローナル抗体で非ヒト PBMC 誘導の応答を遮断することによるインターフェロン- γ 誘導アッセイのような、上述したいくつかのバイオアッセイを用いて確認した。ヒト抗 hIL-12 抗体 Y61 及び J695 と、PBMC 上清中の非ヒト IL-12 又は精製マウス及びアカゲザル IL-12 の交叉反応性を、応答の 50% 阻害が認められる J695 抗体の独活を測定することにより、同じバイオアッセイにおいて評価した。種交叉反応性の結果を表 5 に要約する。結果は、Y61 と J695 がそれぞれサルからの IL-12 (例えば Y61 についてはカニクイザル及びアカゲザル IL-12、J695 についてはカニクイザル、アカゲザル及びヒヒ) を認識することができ、J695 はイヌ IL-12 に対して約 35 倍活性が低く、Y61 及び J695 のいずれもがマウス又はラット IL-12 と交叉反応しないことを示している。

20

【0360】

H. J695 のヒトサイトカイン特異性

ヒトサイトカインのパネルを、可溶性 J695 の固定ヒト IL-12 への結合に干渉する能力に関して試験する、競合 ELISA において J695 の特異性を検討した。ヒトサイトカインのパネルは、IL-1 α 及び IL-1 β (Genzyme, Boston, MA)、IL-2 (Endogen)、IL-4、IL-10、IL-17、IFN- γ 、及び TGF- β 1 (R&D, Minneapolis, MN)、IL-8 (Calbiochem)、PDGF、IGF-I 及び IGF-II (Boehringer Mannheim Corp., Indianapolis, IN)、TNF α 及びリンホトキシン、IL-6、可溶性 IL-6 レセプタ、IL-11、IL-12p70、IL-12p40、M-CSF、及び LIF を含む。Bリンパ球においてエプスタイン-バーウイルス感染によって誘導される IL-12p40 関連タンパクである EB1-3 (Devergne ら (1996) J. Virol. 70, 1143-1153) は、ヒト IgG-Fc キメラ (EB1-3/Fc) として発現された。一本鎖サケ精子 DNA (Sigma) も試験した。

30

40

【0361】

【表 6】

表5 種交叉反応性データ

IC ₅₀ (M)								
抗体		マウス IL-12	ラット IL-12	イヌ IL-12	カニクイザル IL-12	アカゲザル IL-12	ヒヒ IL-12	ヒト IL-12
名称	特異性	精製	PBMC sup	PBMC sup	PBMC sup	Purified	PBMC sup	Purified
C17.15	ラット-αmIL12	3.0 × 10 ⁻¹¹						
R03B03	ウサギ-αmIL12	1.5 × 10 ⁻¹⁰	6.0 × 10 ⁻¹⁰					
C8.6.2	マウス-αhIL12				1.2 × 10 ⁻¹⁰	1.0 × 10 ⁻¹⁰	2.0 × 10 ⁻¹⁰	5.0 × 10 ⁻¹¹
Y61	ヒト-αhIL12	中和せず			2.2 × 10 ⁻¹⁰	1.0 × 10 ⁻¹⁰		1.7 × 10 ⁻¹⁰
J695	ヒト-αhIL12	中和せず	中和せず	3.5 × 10 ⁻¹⁰	1.0 × 10 ⁻¹¹	1.0 × 10 ⁻¹¹	1.5 × 10 ⁻¹¹	5.0 × 10 ⁻¹²

平底ELISA免疫測定マイクロタイタープレート(96穴、高度結合、Costar)を、0.1mlヒトIL-12(0.1Mカーボネート被覆緩衝液(4容の0.1M NaHCO₃ プラス8.5容の0.1M NaHCO₃)中2μg/ml)により4でひと晩被覆した。0.05%Tween20を含むPBS(PBS-T)でプレートを2回洗浄し、PBS-T中1mg/mlのウシ血清アルブミン(BSA, Sigma)200μlにより室温で1時間遮断して、再びPBS-Tで2回洗浄した。50μg/ml BSAを含むPBS-T(PBS-T/BSA)中にIL-12抗体J695(100ng/ml)と各サイトカイン(2nM)を含むサンプル(100μl)を加えて、室温2時間インキュベーションした。プレートを4回洗浄し、100μlのマウス抗ヒトλ-HRP(PBS-T/BSA中1:500、Southern Biotech. Ass. I

nc., Birmingham, AL)と共に室温で1時間インキュベーションした。プレートを4回洗浄し、暗所において20-30分間、ABTS (Kirkgaard & Perry Lab., Gaithersburg, MD)で展開した。マイクロプレートリーダー (Molecular Devices, Menlo Park, CA)を用いてOD450nmを読み取った。可溶性サイトカインが全く存在しない状態でのIL-12被覆プレートへのJ695結合と比較して、パーセント結合を測定した。

【0362】

結果は、固定ヒトIL-12へのJ695結合がヒトIL-12 p70、そしてより低い度合でヒトIL-12 p40によってのみ遮断され、試験した他のいずれのサイトカインによっても遮断されないことを明らかにした。

10

【0363】

I. 新規IL-12分子への結合

p35サブユニットが新規p19分子で置換された代替的なIL-12ヘテロダイマーが記述されている。p19は、IL-6/IL-12ファミリーメンバーに関する3D相同性検索を用いて同定されたもので、活性化樹状細胞によって合成される。p19はp40に結合して、IL-12様活性を持つp19/p40ダイマーを形成するが、IFN γ 誘導におけるp35/p40ヘテロダイマーほど強力ではない。p40だけを認識する抗体であるが、好ましくはp70分子(例えばJ695及びY61、実施例3H参照)に関連して、p35/p40分子とp19/p40分子の両方を中和することも予想される。

【0364】

20

実施例4: 抗hIL-12抗体のin vivo活性

カニクイザルにおける末梢血液学へのヒトIL-12の作用を調べるため、Breeらが使用したものから改変したモデルにおいてIL-12誘導応答へのIL-12抗体のin vivo作用を検討した(Breeら(1994) Biochem Biophys Res. Comm. 204: 1150-1157)。それらこれまでの試験では、1 μ g/kg/日のヒトIL-12の5日間にわたる投与は、24時間後に白血球数(WBC)、特にリンパ球と単球のサブセットの低下を生じた。IFN- γ に応答した単球活性化のマーカーである血漿ネオプテリンのレベルが24時間目に上昇し始め、72時間目に最も高くなった。

【0365】

30

ヒト抗hIL-12抗体に関する最初の試験では、平均体重5kgの15匹の健康なカニクイザルを鎮静させ、5群(n=3)に分けた。第1群は、10mg/kgのヒト静脈内免疫グロブリン(IVIg, Miles, Eckhart, IN, プロテインAセファロースを用いて精製)の静脈内(IV)投与を受けた。第2群は、1mg/kgのC8.6.2(マウス抗ヒトIL-12モノクローナル抗体を中和する)の静脈内投与を受けた。第3群は、10mg/kgのC8.6.2の静脈内投与を受けた。第4群は、1mg/kgのY61(ヒト抗ヒトIL-12抗体、CHO細胞順化培地から精製)の静脈内投与を受けた。第5群は、10mg/kgのY61の静脈内投与を受けた。

【0366】

抗体投与の1時間後、全動物にヒトIL-12(1 μ g/kg)の単回皮下(SC)注射を実施した。次の時点で血液サンプルを採取し: 基線、8、24、48、96及び216時間、白血球分画を伴う完全血球算定と血清化学に関して分析した。血清ヒトIL-12、C8.6.2抗体、Y61抗体、サルIFN- γ 、サルIL-10、サルIL-6及び血漿ネオプテリンレベルも測定した。

40

【0367】

IL-12プラスIVIg対照抗体で処置した動物(第1群)は、WBC、血小板、リンパ球数及び単球数の低下を含めて、予想された血液学的変化の多くを示した。これらの低下は、1又は10mg/kgのC8.6.2又はY61抗体で処置した動物(第2-5群)では見られないか、若しくは度合がより低かった。

【0368】

50

サルIFN- γ 及びサルIL-10(Biosource International, Camarillo, CA)、サルIL-6(Endogen)及び血漿ネオプテリン(ICN Pharmaceuticals, Orangeburg, NY)に特異的なELISAにより、血清又は血漿サンプルを分析した。IFN- γ 、IL-10あるいはIL-6は、IL-12プラスIVIgで処置した対照動物を含めて、IL-12処置動物のいずれにおいても検出されなかった。これはおそらくIL-12への接触レベルが低い(1 μ g/kgの1回投与のみ)ことによるものであった。それにもかかわらず、血漿ネオプテリンレベルは、IL-12プラスIVIg処置動物では約3倍上昇したが、より低用量(1mg/kg)のY61処置動物を含めてすべてのC8.6.2又はY61処置動物において変化がなく、Y61が*in vivo*でIL-12に対するこの感受性応答を遮断する上で有効であることを示した。

10

【0369】

第二の試験では、カニクイザルにおけるJ695の*in vivo*活性と薬力学(PD)を、外因性rhIL-12を投与し、通常rhIL-12投与に結びつくを応答をJ695が遮断又は低減しうるかどうかを判定することによって検討した。雄性カニクイザル(群当りn=3)に0.05、0.2、又は1.0mg/kgのJ695あるいは1mg/kgの静脈内免疫グロブリン(IVIg)の1回用量を、伏在静脈を通してボーラス静脈内(IV)注入として又は背側皮膚への皮下(SC)注射によって投与した。J695又はIVIgの投与から1時間後、すべての動物に背側皮膚への1 μ g/kg rhIL-12の単回SC投与を実施した。J695投与後28日目まで、大腿静脈を通して血液サンプルを採取した。各血液サンプルから血清を分離し、IL-12、J695、IFN- γ 、及び抗J695抗体に関してELISAで検定した。ネオプテリンは逆相高速液体クロマトグラフィーによって検定した。

20

【0370】

J695又はrhIL-12の投与前に測定したネオプテリンレベルに対して基準化したネオプテリンのレベルを図3に示す。群間でのネオプテリンの抑制を比較するために、ネオプテリンレベルに関して基準化した曲線下面積(AUC)を各動物について計算した(表6)。ネオプテリン接触(AUC)は、IVIg対照群と比較してIV群では約71-93%、SC群では71-100%、用量依存的に抑制された。これらの結果は、ネオプテリン応答の50%抑制に必要なJ695の用量(ED₅₀)が、IV又はSC経路で投与したときには0.05mg/kg未満であったことを示唆している。

30

【0371】

【表7】

表6：カニクイザルにおける、J 6 9 5によるIL-12誘導ネオプテリンの
用量依存的抑制

IVI G又はJ 6 9 5と rh IL-12の 投与経路	J 6 9 5用量 (mg/kg)	IVI G Dose (mg/kg)	基準化した ネオプテリン レベルのAUC	対照と比較した ネオプテリンAUC の%低下
単回IV注射及び 1時間後に1 μ g/kg 用量のヒトIL-12 をSC投与	-	1.0	1745 $\pm$ 845	0
	0.05	-	502 $\pm$ 135	71.3
	0.2	-	199 $\pm$ 316	88.6
	1.0	-	128 $\pm$ 292	92.7
単回SC注射及び 1時間後に1 μ g/kg 用量のヒトIL-12 をSC投与	-	1.0	1480 $\pm$ 604	0
	0.05	-	426 $\pm$ 108	71.2
	0.2	-	395 $\pm$ 45.9	73.3
	1.0	-	0 $\pm$ 109	100

J 6 9 5による処置は、通常rh IL-12投与に結びつく血液学的変化（白血球減少及び血小板減少）も予防若しくは軽減した。rh IL-12投与後24時間目に、対照IV及びSC IVIG処置群では基線値と比較して約50%リンパ球数が減少した。SC又はIVによるJ 6 9 5投与は3つの用量レベルすべてでこの減少を予防し、24時間目のリンパ球数は基線値とほぼ同じであった。IL-12投与後48時間目には、IV及びSC IVIGで処置した群における血小板数は基線値と比較して約25%減少した。

【0372】

血清レベルを90%有効レベル以上に維持することを目標とした例示的な投与スケジュールは、ほぼ1週間おきに1mg/kgのIV及びSC投与、又はほぼ毎週0.3mg/kgの投与であり、反復投与期間中わずかに蓄積が推定される。この試験は、抗体がそのような用量でサルに安全に投与しうることを明らかにしている。独立した毒性試験では、さらに100mg/kgまでの抗体がサルに安全に投与しうることが認められた。

【0373】

J 6 9 5はまた、マウスp35サブユニットをヒトIL-12p40サブユニットと結合した分子である、キメラIL-12で処置したマウスにおいてIFN- γ の産生を予防する上でも有効であった。マウスでは生物学的に不活性なヒトIL-12と異なって、このキメラIL-12はIFN- γ の誘導を含めてマウスにおいて生物学的機能を保持する。さらに、ヒトp40サブユニットは、この分子がJ 6 9 5によって結合され、中和されることを可能にする。0.05mg/kg i.p.の用量のキメラIL-12を雌性C3H/HeJマウス（10匹/実験群）に、1日1回ずつ5回にわたって0、1、2、3及び4日目に投与した。J 6 9 5は、0、2及び4日目にIL-12注射の30分前に、0.05、0.01、0.002、0.0004、0.00008、及び0.000016mg/kg i.p.の用量で投与した。対照hu IgG1 γ は、0、2、及び4日目に0.05mg/kgの用量でIP投与した。5日目にマウスから採血し、ELISAによって血清IFN- γ レベルを測定した。結果は、J 6 9 5が約0.001mg/kgのED₅₀でIFN- γ の産生を用量依存的に阻害したことを明らかにした。全体として、これらの結果は、J 6 9 5がin vivoでIL-12活性の強力な阻害因子であることを示している。

【0374】

実施例5：組換えヒトIL-12（rh IL-12）へのヒト抗体の結合の反応速度分析

捕獲したリガンド（ヒト抗rhIL-12抗体J695、バイオセンサマトリックス上で捕獲）と分析物（溶液中のrhIL-12）間のリアルタイムでの結合相互作用を、BIAコアシステム（Biacore AB, Uppsala, Sweden）を用いた表面プラスモン共鳴（SPR）によって測定した。このシステムは、SPRの光学特性を利用してデキストランバイオセンサマトリックス内のタンパク濃度の変化を検出する。デキストランマトリックスを通して抗体を注入すると、注入した抗体と固定されたリガンド間の特異結合がマトリックスタンパク濃度の上昇をもたらし、SPRシグナルの変化を生じさせる。SPRシグナルのこれらの変化は共鳴ユニット（RU）として記録され、センサグラムのy軸に沿って経時的に表示される。

【0375】

バイオセンサマトリックスへのヤギ抗ヒトIgG（Southern Biotechnology Associates, カタログ番号2040-01, Birmingham, AL）の固定を容易にするため、最初にマトリックス上のカルボキシル基を100 mM N-ヒドロキシスクシニミド（NHS）及び400 mM N-エチル-N'-（3-ジメチルアミノプロピル）-塩酸カルボジイミド（EDC）で活性化することにより、遊離アミン基を通してヤギ抗ヒトIgGをデキストランマトリックスに共有結合する。次に、ヤギ抗ヒトIgGを活性化マトリックスを越えて注入する。酢酸ナトリウム中で希釈した35 µlのヤギ抗ヒトIgG（25 µg/ml）、pH 4.5を、活性化バイオセンサを越えて注入し、タンパク上の遊離アミンを活性化カルボキシル基に直接結合する。1 Mエタノールアミンを注入して未反応マトリックスEDC-エステルを不活性化する。標準アミンカップリングキットは市販のものを使用した（Biacore AB, カタログ番号BR-1000-50, Uppsala, Sweden）。

【0376】

ヤギ抗ヒトIgGを通してマトリックス上に捕獲するため、J695を流動HBS緩衝液（Biacore ABカタログ番号BR-1001-88, Uppsala, Sweden）中で希釈した。rhIL12-特異性抗体が固定ヤギ抗ヒトIgGに結合する能力を調べるため、次のように結合アッセイを実施した。J695のアリコート（25 µl/ml; 25 µlアリコート）を、ヤギ抗ヒトIgGポリクローナル抗体結合デキストランマトリックスを通して5 µl/分の流速で注入した。タンパクの注入前と注入直後に、HBS緩衝液だけを各フローセルに通過させた。基線とJ695注入終了後約30秒に相当する時点とのシグナルの正味差を、結合IgG1 J695の量を表すものとみなした（約1200 RU）。可溶性rhIL-12へのrhIL-12特異性抗体の直接結合を測定した。サイトカインを流動HBS緩衝液中で希釈し、50 µlアリコートを固定タンパクマトリックスを通して5 µl/分の流速で注入した。使用したrhIL-12の濃度は、10、20、25、40、50、80、100、150及び200 nMであった。rhIL-12の注入前と注入直後に、HBS緩衝液だけを各フローセルに通過させた。基線シグナルとサイトカイン注入終了後のシグナルとの正味差を、個々のサンプルの結合値を表すものとみなした。次のサンプルの注入前に100 mM HClを用いてバイオセンサマトリックスを再生した。解離定数（オフ速度）、結合定数（オン速度）を調べるため、BIAコア反応速度評価ソフトウェア（2.1バージョン）を使用した。

【0377】

COS由来のJ695と比較したCHO由来J695のrhIL-12への結合の代表的結果を表7に示す。

【0378】

【表8】

10

20

30

40

表7: rhIL-12へのCHO又はCOS由来J695の結合

ソース	rhIL12, nM	rhIL12 結合, RU's	Ab, 結合, RU's	rhIL12/AB
CHO	200	1112	1613	1.48
CHO	150	1033	1525	1.45
CHO	100	994	1490	1.43
CHO	80	955	1457	1.40
CHO	50	912	1434	1.36
CHO	40	877	1413	1.33
CHO	25	818	1398	1.25
CHO	20	773	1382	1.20
CHO	10	627	1371	0.98
ソース	rhIL12, nM	rhIL12 結合, RU's	Ab, 結合, RU's	rhIL12/AB
COS	200	1172	1690	1.49
COS	150	1084	1586	1.46
COS	100	1024	1524	1.44
COS	80	985	1489	1.42
COS	50	932	1457	1.37
COS	40	894	1431	1.34
COS	25	833	1409	1.27
COS	20	783	1394	1.20
COS	10	642	1377	1.00

捕獲J695と可溶性rhIL-12間の分子反応速度相互作用をBIAコアテクノロジーを用いて定量的に分析した。いくつかの独立した実験を実施し、表8に示すような、反応速度定数を引き出すために使用可能なBIAコア数理分析ソフトウェアによって結果を解析した。

【0379】

【表9】

表8: rhIL-12に関するJ695の見かけ反応速度及び親和性定数

抗体	ソース	オン速度 (M ⁻¹ s ⁻¹), 平均	オフ速度 (s ⁻¹), 平均	Kd (M), 平均
J695	CHO	3.52E+05	4.72E-05	1.34E-10
J695	COS	3.40E+05	2.61E-05	9.74E-11

CHO由来J695 ($K_d = 1.34 \times 10^{-10} \text{ M}^{-1}$) とCOS由来J695 ($K_d = 9.74 \times 10^{-11} \text{ M}^{-1}$) 抗体間の相互作用に関する算定見かけ定数 (K_d) には小さな差があった。J695とrhIL-12間の見かけ解離定数 (K_d) は、認められた速度定数から次の式によって推定した: $K_d = \text{オフ速度} / \text{オン速度}$ 。

【0380】

J695とrhIL-12間の相互作用についての見かけ結合及び解離速度定数を調べるため、固定量のJ695 (2 $\mu\text{g} / \text{ml}$) と種々の濃度のrhIL-12を使用していく

つかの結合反応を実施した。捕獲 J 6 9 5 と可溶性 r h I L - 1 2 間のリアルタイム結合相互作用センサーグラムは、2つの形態の抗体が結合と解離期の両方について非常に類似していることを示した。

【0381】

捕獲 I g G 1 J 6 9 5 m A b が可溶性組換えサイトカインに結合する能力をさらに評価するため、直接 B I A コア法を使用した。この方法では、ヤギ抗ヒト I g G (2 5 μ g / m l) 結合カルボキシメチルデキストランセンサー表面を I g G 1 J 6 9 5 (2 μ g / m l) で被覆し、その後組換えサイトカインを加えた。C H O 又は C O S 由来の I g G 1 J 6 9 5 で捕獲されたバイオセンサー表面を通して可溶性 r h I L - 1 2 を注入したとき、溶液中のサイトカインの濃度が上昇すると共にシグナルの量も増大した。1 0 0 0 n M までの試験濃度では r m I L 1 2 (R & D S y s t e m s , カタログ番号 4 1 9 - M L , M i n n e a p o l i s , M N) あるいは r h I L 1 2 との結合を認めなかった。これらの結果は、I g G 1 J 6 9 5 抗体が r h I L - 1 2 上の別個の決定基を認識するという結論を裏付けている。

10

【0382】

表 9 は、ヒト I g G 1 J 6 9 5 m A b が可溶性 r h I L 1 2 だけと結合し、他のいずれの組換えサイトカインとも結合しないことを明らかにするための B I A コアを用いた実験の結果を示している。

【0383】

【表 1 0】

20

表 9 : B I A コアテクノロジーを用いた J 6 9 5 のエピトープマッピング

	捕獲リガンド COS J695	捕獲リガンド CHO J695
可溶性分析物		
組換えヒト I L 1 2	陽性	陽性
組換えマウス I L 1 2	陰性	陰性

30

実施例 6 : I L - 1 2 に対する J 6 9 5 の親和性についてのさらなる試験

J 6 9 5 抗体とヒト I L - 1 2 間の分子反応速度相互作用を B I A コアプラスモン共鳴テクノロジーを用いて定量的に分析し、見かけ反応速度定数を推定した。

【0384】

B I A コアテクノロジーを使用して、固相捕獲 J 6 9 5 への可溶性 r h I L - 1 2 の結合を測定した。ヤギ抗ヒト I g G 抗体をバイオセンサーチップ上に固定し、次に固定量の J 6 9 5 を注入して表面に捕獲した。種々の濃度の r h I L - 1 2 を適用し、種々の濃度の I L - 1 2 の J 6 9 5 への結合を時間の関数として測定した。ゼロ次数解離と一次次数結合反応速度、ならびに J 6 9 5 と I L - 1 2 間の単純な 1 : 1 分子相互作用を仮定して、見かけ解離及び結合速度定数を算定した。3回の独立した実験を行い、3回の実験の平均値を示している。これらの測定から、見かけ解離 (k d) 及び結合 (k a) 速度定数を推定し、相互作用についての K d を算定するために使用した (表 1 0 参照) 。結果は、J 6 9 5 が r h I L - 1 2 に高い親和性を持つことを示した。

40

【0385】

【表 1 1】

表 10 : J 6 9 5 と ヒ ト I L - 1 2 間 の 相 互 作 用 に 関 す る 反 応 速 度 パ ラ メ ー タ

反応速度パラメータ	数値
k_d	$3.71 \pm 0.40 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$
k_a	$3.81 \pm 0.48 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
K_d	$9.74 \times 10^{-11} \text{ M (14 ng/mL)}$

10

実施例 7 : マウスインターロイキン - 12 に対するラットモノクローナル抗体 C 1 7 . 1 5 の特性と中和活性

マウス IL - 12 に特異的なモノクローナル抗体を使用した炎症と自己免疫のマウスモデルにおける IL - 12 処置試験の、ヒト疾患での同様のアプローチとの関連性を評価するため、ラット抗マウス IL - 12 モノクローナル抗体、C 1 7 . 1 5 とマウス IL - 12 の相互作用を検討した。PHA 芽細胞増殖アッセイにおいて C 1 7 . 1 5 がマウス IL - 12 活性を中和し、マウス IL - 12 が細胞表面レセプタに結合するのを遮断する能力を、C 1 7 . 1 5 - マウス IL - 12 結合相互作用の動態として評価した。

【 0 3 8 6 】

ヒト PHA 芽細胞増殖アッセイ (実施例 3 参照) では、C 1 7 . 1 5 又はラット Ig G 2 a (対照抗体) の連続希釈を 230 pg / mL のマウス IL - 12 と共に 37 で 1 時間ブレインキュベーションした。PHA 刺激芽細胞を抗体 - IL - 12 混合物に加え、37 で 3 日間インキュベーションした。その後細胞を 1 μ Ci / 穴 [3 H] - チミジンで 6 時間標識した。培養を採集し、[3 H] チミジンの取込みを測定した。マウス IL - 12 を加えずにバックグラウンドの非特異的増殖を測定した。すべてのサンプルを 2 回検定した。このアッセイにおける組換えマウス IL - 12 についての C 1 7 . 1 5 の IC₅₀ (M) は 1.4×10^{-11} であることが認められ、これに比して、同じ条件下で組換えヒト IL - 12 について J 6 9 5 で認められた IC₅₀ 値は 5.8×10^{-12} であった (表 11 参照) 。

20

【 0 3 8 7 】

30

【 表 1 2 】

表 11 : 抗ヒト IL - 12 モノクローナル抗体 J 6 9 5 とラット抗マウス IL - 12
モノクローナル抗体 C 1 7 . 1 5 の特性比較

抗体	エピトープ	生体分子相互作用アッセイ			レセプタ結合 アッセイ	PHA 芽細胞 アッセイ
		k_a , オン速度 ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)	k_d , オフ速度 (s^{-1})	K_d (M)	IC ₅₀ (M)	IC ₅₀ (M)
J695	Hu p40	3.81×10^5	3.71×10^{-5}	9.74×10^{-11}	1.1×10^{-11}	5.8×10^{-12}
C17.15	Mu p40	3.80×10^5	1.84×10^{-4}	4.80×10^{-10}	1.5×10^{-10}	1.4×10^{-11}

40

C 1 7 . 1 5 が、マウス IL - 12 の細胞レセプタへの結合を阻害する応力も測定した。C 1 7 . 1 5 の連続希釈を結合緩衝液中で 100 pM [125 I] - マウス IL - 12 と共に 37 で 1 時間ブレインキュベーションした。2D6 細胞 (2×10^6) を抗体 / [125 I] - マウス IL - 12 混合物に加え、室温で 2 時間インキュベーションした。細胞結合放射能を遊離 [125 I] - IL - 12 から分離し、残りの細胞結合放射能を測定

50

した。2D6細胞上のレセプタへの標識マウスIL-12の総結合を抗体不在で測定し、25nM非標識マウスIL-12をアッセイに含めることによって非特異的結合を測定した。総結合から非特異的結合を差し引いて特異的結合を算定した。インキュベーションは2回実施した。結果は、C17.15が、マウスIL-12の細胞レセプタへの結合阻害に関して 1.5×10^{-10} の IC_{50} (M)を持つことを示した。

【0388】

組換えマウスIL-12に対するC17.15の親和性を生体分子相互作用分析によって評価した。ヤギ抗ラットIgG抗体をバイオセンサーチップに固定し、次に固定量のC17.15を注入して、チップの表面にC17.15を捕獲した。種々の濃度の組換えマウスIL-12をC17.15表面に適用し、固定C17.15へのマウスIL-12の結合を時間の関数として測定した。ゼロ次数解離と一次次数結合反応速度、ならびに固定C17.15とマウスIL-12間の単純な1:1分子相互作用を仮定して、見かけ解離及び結合速度定数を算定した。これらの測定から、見かけ解離(k_d 、オフ速度)及び結合(k_a 、オン速度)速度定数を算定した。これらの結果を使用して相互作用についての K_d 値を算定した。組換えマウスIL-12-C17.15相互作用に関して、 $2.8 \times 10^{-5} M^{-1} s^{-1}$ のオン速度、 $1.84 \times 10^{-4} s^{-1}$ のオフ速度、そして 4.8×10^{-10} の K_d を認めた。

【0389】

マウスIL-12の活性及び細胞表面レセプタへの結合を中和する上でのC17.15の観察された活性、ならびにマウスIL-12へのC17.15の結合の動態は、J695-rhIL-12相互作用についての同様の測定と相関する。これは、オン速度、オフ速度、 K_d 、 IC_{50} 及びPHA芽細胞アッセイに基づく、ラット抗マウスIL-12抗体C17.15と抗ヒトIL-12抗体J695の作用機序がほとんど同じであることを示唆している。それ故、炎症と自己免疫疾患のマウスモデルにおいて、これらのモデル動物における疾患の初発と進行へのIL-12の遮断作用を検討するために、C17.15をJ696の相同抗体として使用した(実施例8参照)。

【0390】

実施例8: α -マウスIL-12抗体の投与によるマウスでの自己免疫又は炎症に基づく疾患の治療

A. α -IL-12抗体C17.15によるマウスでの膠原誘発関節炎の抑制 IL-12レベルと慢性関節リウマチ(RA)の相関が明らかにされている。例えば、健常対照と比較してRA患者の滑液におけるIL-12p70レベルの上昇が検出された(Moritaら(1998) Arthritis and Rheumatism 41:306-314)。それ故、ラット抗マウスIL-12抗体、C17.15がマウスにおいて膠原誘発関節炎を抑制する能力を評価した。

【0391】

雄性DBA/1マウス(10匹/群)を0日目にII型コラーゲンで免疫し、-1日目(コラーゲン免疫の1日前)から12日目まで1日おきに10mg/kgのC17.15又は対照ラットIgGを腹腔内投与した。90日目まで足における関節炎の発現に関して動物を臨床的に監視した。関節炎を次のように等級づけた: 0 - 正常; 1 - 1関節に限局された関節炎; 2 - 1関節以上を含むが足全体には及ばない; 3 - 足全体を含む; 4 - 足の変形; 5 - 罹患関節の強直。マウスの関節炎スコアは、マウスの個別の足における関節炎等級の合計とした(最大値=20)。結果は各群について平均 $\pm$ SEMで表わしている。

【0392】

図4に示す結果は、関節炎スコアがC17.15処置マウスでは処置後50日目から初めて測定可能になったこと、そしてC17.15処置マウスで得られたピーク平均関節炎スコアはIgG処置マウスで測定されたものよりも少なくとも5倍低かったことを示している。これは、ラット抗マウスIL-12抗体C17.15がマウスにおいて膠原誘発関節炎の発現を予防したことを明らかにしている。

【0393】

B. ラット α - マウス IL - 12 抗体 C 17 . 15 によるマウスでの大腸炎の抑制
IL - 12 が大腸炎の発症 / 病理において役割を果たすことも明らかにされた。例えば、抗 IL - 12 抗体は、大腸炎のマウスモデルにおける疾患、例えば IL - 2 ノックアウトマウスにおける TNBS 誘発の大腸炎を抑制することが示されている (Simpson ら (1998) J. Exp. Med. 187 (8) : 1225 - 34)。同様に、抗 IL - 2 抗体は IL - 10 ノックアウトマウスにおける大腸炎を抑制することが明らかにされている。ラット抗マウス IL - 12 抗体、C 17 . 15 がマウスにおいて TNBS 大腸炎を抑制する能力を 2 つの試験で評価した (David ら (1998) J. Immunol. 161 (6) : 3143 - 9)。

【0394】

最初の試験では、小児科用臍動脈カテーテルを通して直腸に送達した、TNBS 2 . 0 mg を含む 50 % エタノール溶液 150 μ L の投与により、病原体不含の S J L マウスにおいて大腸炎を誘発した。対照動物は 50 % エタノール溶液 150 μ L だけで処置した。11 日目に尾静脈を通して 0 . 75、0 . 5、0 . 25、又は 0 . 1 mg の C 17 . 15 又は 0 . 75 mg の対照ラット Ig G 2 a を静脈内投与し、11 日目と 17 日目に動物の体重を測定し、17 日目に組織学的スコアリングを実施して、処置の治療効果を評価した。C 17 . 15 で処置したマウスの体重は抗体処置後 48 時間以内に上昇し、処置後 6 日目に正常化した。C 17 . 15 による処置の効果が組織学的に確認された。さらに、処置マウスの脾及び結腸からの CD 4 ⁺ T 細胞による IFN - γ の分泌、ならびに処置マウスの脾又は結腸由来マクロファージからの IL - 12 レベルの評価も行った (表 12 参照)

【0395】

第二の試験では、投与を至適化し、0 . 1 mg 又は 0 . 5 mg の C 17 . 15 又は 0 . 1 mg の対照 Ig G 2 a の総用量で、それぞれ 12 日目と 14 日目に分割してマウスを処置した。0 . 1 mg / マウス又は 0 . 25 mg / マウスの用量の単回投与において、C 17 . 15 の投与は TNBS 誘発の大腸炎の部分的改善だけを導き、未処置対照と比較して、in vitro での CD 4 ⁺ T 細胞による IFN - γ 産生の有意の低下は生じなかったが、IL - 12 分泌の有意の低下をもたらした。0 . 5 mg / マウス又はそれ以上の単回投与で応答が認められた。試験した抗体の最小用量を採用し、それを 2 回の分割注入 (12 日目と 14 日目) で投与すると、投与レジメンが改善され、低用量の多回投与が単回の

【0396】

【表 13】

表 12 : 抗マウス IL - 12 mAb C 17 . 15 はマウスにおいて確立された大腸炎を抑制する

疾患誘発 0 日目	処置 11 日目	体重 (g)		IFN- γ 脾 CD4 ⁺ 細胞 (U/mL)	IL-12 脾 マクロファージ (pg/ml)
		Day 11	Day 17		
TNBS + Ethanol	Control IgG2a 0.75 mg	16.0	15.26	3326	300
TNBS + Ethanol	C17.15 0.75 mg	16.0	20.21	1732	0
TNBS + Ethanol	C17.15 0.5 mg	16.36	19.94	1723	0
TNBS + Ethanol	C17.15 0.25 mg	16.28	17.7	3618	7
TNBS + Ethanol	C17.15 0.1 mg	16.2	17.98	3489	22
Ethanol control	-	20.76	21.16	1135	0

C 1 7 . 1 5 モノクローナル抗 I L - 1 2 を、総量 0 . 1 m g / マウス又は 0 . 0 5 m g / マウスを 1 日の間隔を置いて 2 回の分割用量で投与すると、結腸の消耗と肉眼的外観によって評価したとき、大腸炎の完全な逆転を導いた。さらに、この投与スケジュールは、固有層 T 細胞の I F N - γ 産生及びマクロファージの I L - 1 2 産生の有意の下方調節を導き、後者は T N B S - 大腸炎のない対照エタノール処置マウスで見られたレベルと同等であった。従って、T N B S 大腸炎に関するマウスモデルへの C 1 7 . 1 5 の投与は用量依存的に疾患の進行を逆転した。

【 0 3 9 7 】

C . α - I L - 1 2 抗体によるマウスでの実験的自己免疫性脳脊髄炎 (E A E) の抑制 I L - 1 2 は多発性硬化症 (M S) の病因において役割を果たすと一般的に信じられている。誘導性 I L - 1 2 p 4 0 メッセージが M S 患者の急性斑において発現されるが、炎症性脳梗塞病巣では発現されないことが示された (W i n d h a g e n , A . ら (1 9 9 5) J . E x p . M e d . 1 8 2 : 1 9 8 5 - 1 9 9 6) 。 M S 患者からの T 細胞は、調節されない C D 4 0 L 発現を通して抗原呈示細胞からの I L - 1 2 産生を刺激する (対照 T 細胞は刺激しない) (B a l a s h o v , K . E . ら (1 9 9 7) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 4 : 5 9 9 - 6 0 3) 。 M S 患者は、*in vitro* で α - I L - 1 2 抗体によって遮断されうる高い I F N - γ 分泌を有する (B a l a s h o v , K . E . ら (1 9 9 7) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 4 : 5 9 9 - 6 0 3) 。 M S 患者では高いレベルの血清 I L - 1 2 が検出されるが、これは他の神経学的疾患では見られない (N i c o l e t t i , F . ら (1 9 9 6) J . N e u r o i m m u n o l . 7 0 : 8 7 - 9 0) 。 M S 患者では I L - 1 2 産生の上昇は疾患の活動と相関することが示された (C o r m a b e l l a , M . ら (1 9 9 8) J . C l i n . I n v e s t . 1 0 2 : 6 7 1 - 6 7 8) 。多発性硬化症のマウスモデル、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (E A E) の病因における I L - 1 2 の役割が検討されている (L e o n a r d , J . P . ら (1 9 9 5) J . E x p . M e d . 1 8 1 : 2 8 1 - 3 8 6 ; B a n e r j e e , S . ら (1 9 9 8) A r t h r i t i s R h e u m . (1 9 9 8) 4 1 : S 3 3 ; 及び S e g a l , B . M . ら (1 9 9 8) J . E x p . M e d . 1 8 7 : 5 3 7 - 5 4 6) 。このモデルにおける疾患は、T H 1 サブセットの T 細胞によって誘発されることが知られている。それ故、 α - I L - 1 2 抗体が急性 E A E の発症を予防する能力を評価した。

【 0 3 9 8 】

α - I L - 1 2 抗体は、自己抗原であるミエリン塩基性タンパク (B a n e r j e e , S . ら (1 9 9 8) A r t h r i t i s R h e u m . (1 9 9 8) 4 1 : S 3 3) で免疫したマウスにおいて急性 E A E の発症を阻害し、発症後の疾患を抑制し、再発の重症度を低下させることが認められた。

【 0 3 9 9 】

マウスにおける α - I L - 抗体処置の有益な作用は、治療停止後 2 ヶ月以上持続した。また抗 I L - 1 2 抗体が、養子免疫伝達による脳炎誘発性 T 細胞のレシピエントであるマウスにおいて疾患を抑制することも明らかにされた (L e o n a r d , J . P . ら (1 9 9 5) J . E x p . M e d . 1 8 1 : 2 8 1 - 3 8 6) 。

【 0 4 0 0 】

実施例 9 : J 6 9 5 の臨床薬理

二重盲検交叉試験試験において、ヒト男性被験者に漸増用量の J 6 9 5 又はプラセボを投与した。投与前と 1 5 分後の補体断片 C 3 a の測定は補体系の活性化を示さなかった。併発感染の症状が認められた被験者においてのみ C R P とフィブリノーゲンレベルが上昇した。

【 0 4 0 1 】

すべての被験者が生存し、J 6 9 5 の全体的な耐容性は非常に良好であった。有害事象 (A E) のために治療を中止しなければならない症例はなかった。最も一般的に認められた A E は頭痛と普通の風邪 / 気管支炎で、どちらも重度とは分類されなかった。

【0402】

試験被験者のうちの1名、33歳の独身男性が試験開始時に滴状乾癬に罹患した。無作為化試験デザインに従って、この被験者は偶然に、SC投与により5mg/kgのJ695を摂取した。抗体投与の10日前に、被験者は両腕と両脚に小さな散在性丘疹状病変だけを示した。抗体投与の時点で、被験者は発赤の増大、紅斑性プラークの肥厚、及び角質増殖の増大を示した。J695投与の1週間後、被験者は、病巣の平坦化と板状鱗屑の減少を含めた皮膚状態の改善を報告した。J695の2回目の投与(5mg/kg IV)後まもなく、局所治療を全く行わずに、被験者の皮膚から乾癬病巣が完全に消失した。抗体の2回目の投与後、予想されたJ695のクリアランスに付随して、白色鱗屑でおおわれた紅斑性プラークが再発現した。

10

【0403】

実施例10：2つのCHO細胞系統によって産生されたJ695の比較

J695の組換え発現のために、抗体H鎖と抗体L鎖の両方をコードする組換え発現ベクターを、リン酸カルシウムを介したトランスフェクションによってdhfr-CHO細胞(Urlaub, G.とChasin, L.A. (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220)に導入する。組換え発現ベクター内で、抗体H鎖とL鎖の遺伝子を各々エンハンサー/プロモーター調節要素(例えば、CMVエンハンサー/AdMLPプロモーター調節要素又はSV40エンハンサー/AdMLPプロモーター調節要素のような、SV40、CMV、アデノウイルス等から誘導した)に作動可能に連結して、高いレベルの遺伝子転写を駆動する。組換え発現ベクターはDHFR遺伝子も担い、かかる遺伝子は、メトトレキセート選択/増幅を用いてベクターでトランスフェクションされたCHO細胞の選択を可能にする。

20

【0404】

ヒト抗体J695のペプチド配列をコードする発現ベクター150μgを、50ml円錐管において水2.7mlに溶解した。2.5M CaCl₂ 300μLを加え、このDNA混合物を50ml円錐管中の2×HEPES緩衝食塩水3mlに滴下して加えた。5秒間渦動攪拌し、室温で20分間インキュベーションしたあと、1mlを各プレートに均一に分配し(まだF12培地中で)、プレートを37℃で4時間インキュベーションした。吸引によって液体を除去し、F12中10%DMSO 2mlを各プレートに加えた。DMSOショックを1時間継続し、その後各プレートにPBS 5mlを加えてDMSOを希釈した。プレートをPBS中で2回洗浄し、H/Tと5%FBS(DHFRを発現する細胞に対して選択性)を補足したαMEM 10mlを加えて37℃でひと晩インキュベーションした。100細胞/穴の密度で96穴プレートに細胞を接種し、プレートを37℃、5%CO₂で、週に1回培地を交換して2週間インキュベーションした。

30

【0405】

最後の培地交換から5日後、培養上清を1:50に希釈し、ヒトIgG鎖に特異的なELISAを用いて試験した。最も高いELISAシグナルを生じたクローンを96穴プレートから12穴プレートの1.5ml/穴のαMEM+5%透析血清中に移した。3日後、もう1つ別のヒトIgG鎖に特異的なELISAを実施して、最大活性を持つ12クローンをαMEM+5%透析血清と20nM MTXに分割した。細胞系統031898218は20nM MTXの存在下で、見かけ上の細胞死又は増殖率の低下を伴わずに増殖し、3日間のアッセイで1.8μg/ml hIgGを産生した。MTXを含む培地で増殖した031898218のT-25培養は平均11.9μg/mlのJ695を産生した。ALP903と称される系統を無血清条件下の懸濁液中での増殖に適合させ、かかる系統は7.5pg J695/細胞/24時間を産生した。

40

【0406】

αMEM/5%FBS/20nM MTX中での初期選択後、ALP903細胞を再び20nM MTX中で継代した。100nM MTX選択下で細胞を培養し、その後の30日間に2回500nM MTX中で継代した。その時点で細胞は32μgのJ695/mL/24時間を産生していた。細胞を限界希釈によってサブクロニングした。サブクロ

50

ーン218-22は、96穴プレートにおいて2日間で $16.5 \mu\text{g/mL}$ 、12穴プレートでは2日間で $50.3 \mu\text{g/mL}$ のJ695を産生した。クローン218-22を $\alpha\text{MEM}/5\%$ 透析FBS/ 500 nM MTX中で38日間培養し、次いで上述したように無血清スピナー培養に適應させた。ALP905と称される、無血清懸濁液培養の細胞特異的生産能の平均は 58 pg/細胞/24時間 であった。

【0407】

J695を生成するために使用した最初の細胞系統(ALP903)は、第二の細胞系統、ALP905よりも低い収量の培養からの抗体を生じた。ALP905産生J695がALP903から生成されるものと機能的に同じであることを確認するために、両方のバッチの抗体を、IL-12親和性、細胞レセプタへのIL-12結合を遮断する能力、IL-12によるIFN- γ 誘発を阻害する能力、及びIL-12が仲介するPHA芽細胞増殖を阻害する能力に関して評価した。

10

【0408】

J695のバッチALP903とALP905のIL-12に対する親和性を、表面プラスモン共鳴試験(BIAコア分析)によりIL-12への結合速度反応定数を測定して検討した。 $rh\text{IL-12}$ への結合に関する抗体バッチALP903とALP905のオフ速度定数(k_d)とオン速度定数(k_a)を3つの実験(実施例3で述べたような)において測定した。IL-12への結合の親和性、 K_d は、オフ速度定数をオン速度定数で割って算定した。 K_d を各々別々の実験について算定し、それらを平均した。その結果は、測定した反応速度パラメータと $rh\text{IL-12}$ への結合の親和性が、J695バッチALP903とALP905について非常に類似していることを示した：算定した K_d は、バッチALP903については $1.19 \pm 0.22 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、バッチALP905については $1.49 \pm 0.47 \times 10^{-10} \text{ M}$ であった(表13参照)。

20

【0409】

ALP903とALP905から誘導したJ695が、ヒトPHA活性化Tリンパ芽球上のIL-12レセプタへの $rh\text{IL-12}$ の結合を遮断する能力を評価した(実施例3参照)。J695の各々のサンプルを、出発濃度を 1×10^{-8} として10倍の連続希釈で試験した。抗体を結合緩衝液中で 50 pM [^{125}I]-ヒトIL-12と共に37で1時間ブレインキュベーションした。PHA芽細胞を抗体/[^{125}I]-ヒトIL-12混合物に加えて室温で2時間インキュベーションした。遠心分離と洗浄ステップによって細胞結合放射能を遊離[^{125}I]-IL-12から分離し、%阻害を計算した。4-パラメータ曲線適合を用いて阻害曲線からJ695の IC_{50} 値を推定し、2つの独立した実験によって確認した。インキュベーションは2回実施した。J695の2つのバッチに関する結果は非常に類似していた(表13参照)。

30

【0410】

ALP903とALP905細胞からのJ695が、*in vitro*でヒトPHA活性化Tリンパ芽球による $rh\text{IL-12}$ 誘発のIFN- γ 産生を阻害する能力を評価した。J695の連続希釈を 200 pg/mL の $rh\text{IL-12}$ と共に37で1時間ブレインキュベーションした。PHAリンパ芽球を加えて37で18時間インキュベーションした。インキュベーション後、無血清上清を採取し、ELISAによってヒトIFN- γ のレベルを測定した。4-パラメータ曲線適合を用いて阻害曲線からの IC_{50} 値を抗体濃度に対してプロットした。結果は、2つのバッチのIFN- γ 産生を阻害する能力が極めて類似することを明らかにしている。

40

【0411】

*in vitro*でのPHA芽細胞増殖アッセイを使用して、 $rh\text{IL-12}$ に関するALP903とALP905 J695の中和能力を測定した。各々のタイプのJ695の連続希釈を 230 pg/mL のヒトIL-12と共に37で1時間ブレインキュベーションした。次にPHA芽細胞を加えて37で3日間インキュベーションした。次に細胞を $1 \text{ } \mu\text{Ci/穴}$ [^3H]-チミジンで6時間標識した。培養物を回収し[^3H]-チミジン取り込みを測定した。 $rh\text{IL-12}$ の不在下で非特異的増殖(バックグラウンド)を

50

測定した。ALP903とALP905 J695に関する IC_{50} 値は非常に類似することが認められ、表13に示している。

【0412】

rhIL-12活性を中和し、細胞表面レセプタへのIL-12結合を遮断し、rhIL-12に結合する上でのJ695抗体の活性は、バッチALP903とバッチALP905で有意に異ならず、従ってこれら2つの異なる細胞型から産生される抗体は等価であった。

【0413】

【表14】

表13: J695ロットALP903とALP905の特性比較

抗体	k_{on} , オン速度 (M^{-1}, s^{-1})	k_{off} , オフ速度 (s^{-1})	$K_d(M)$	RB アッセイ $IC_{50}(M)$	PHA芽細胞 アッセイ IC_{50} (M)	IFN- γ アッセイ IC_{50} (M)
J695 ALP903	3.75×10^5	4.46×10^{-5}	1.19×10^{-10}	3.4×10^{-11}	5.5×10^{-12}	5.8×10^{-12}
J695 ALP905	3.91×10^5	5.59×10^{-5}	1.49×10^{-10}	3.0×10^{-11}	4.4×10^{-12}	4.3×10^{-12}

等価物

当業者は、常套的な実験だけを用いてここで述べた本発明の特定実施形態の多くの等価物を認識する、若しくは確認できるであろう。そのような等価物は特許請求の範囲に含まれることが意図されている。

【図面の簡単な説明】

【図1A】 生殖系列配列Cos-3/JH3およびDp118 Lv1042と比較した、ヒトIL-12に結合する一連のヒト抗体の重鎖可変部アミノ酸アラインメントを示す図である。

【0414】

【図1B】 生殖系列配列Cos-3/JH3およびDp118 Lv1042と比較した、ヒトIL-12に結合する一連のヒト抗体の重鎖可変部アミノ酸アラインメントを示す図である。

【0415】

【図1C】 ヒトIL-12に結合する一連のヒト抗体の軽鎖可変部アミノ酸アラインメントを示す図である。

【0416】

【図1D】 ヒトIL-12に結合する一連のヒト抗体の軽鎖可変部アミノ酸アラインメントを示す図である。

【0417】

【図2A】 部位特異的変異誘発および各位置での各アミノ酸置換によって変異されたY61抗体の重鎖におけるCDR位置を示す図である。

【0418】

【図2B】 部位特異的変異誘発および各位置での各アミノ酸置換によって変異されたY61抗体の重鎖におけるCDR位置を示す図である。

【0419】

【図2C】 部位特異的変異誘発および各位置での各アミノ酸置換によって変異されたY61抗体の重鎖におけるCDR位置を示す図である。

【 0 4 2 0 】

【図 2 D】 部位特異的変異誘発および各位置での各アミノ酸置換によって変異された Y 6 1 抗体の重鎖における C D R 位置を示す図である。

【 0 4 2 1 】

【図 2 E】 部位特異的変異誘発および各位置での各アミノ酸置換によって変異された Y 6 1 抗体の重鎖における C D R 位置を示す図である。

【 0 4 2 2 】

【図 2 F】 部位特異的変異誘発および各位置での各アミノ酸置換によって変異された Y 6 1 抗体の軽鎖における C D R 位置を示す図である。

【 0 4 2 3 】

【図 2 G】 部位特異的変異誘発および各位置での各アミノ酸置換によって変異された Y 6 1 抗体の軽鎖における C D R 位置を示す図である。

【 0 4 2 4 】

【図 2 H】 部位特異的変異誘発および各位置での各アミノ酸置換によって変異された Y 6 1 抗体の軽鎖における C D R 位置を示す図である。

【 0 4 2 5 】

【図 3】 カニクイザルにおける血漿ネオプテリンに対するヒト抗 I L - 1 2 抗体 J 6 9 5 の *i n v i v o* での効果を示す図である。

【 0 4 2 6 】

【図 4】 コラーゲンでのマウスの免疫化後に対する平均関節炎スコアのグラフを示す図である。

【配列表】

10

20

SEQUENCE LISTING

<110> Jochen, Salfeld et al.

<120> Human Antibodies That Bind Human IL-12 And Methods For Producing

<130> BBI-093CPPC

<140>

<141>

<150> 60/126,603

<151> March 25, 1999

<160> 675

<170> PatentIn Ver. 2.0

10

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Xaa at position 1 could be either His or Ser

<220>

<223> Xaa at position 4 could be either Tyr or His

<220>

<223> Xaa at position 6 could be either Tyr, Asn or Thr

<400> 1

Xaa Gly Ser Xaa Asp Xaa

1

5

20

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Xaa at position 2 could be either Ser or Thr

<220>

<223> Xaa at position 4 could be either Asp or Glu

<220>

<223> Xaa at position 5 could be either Ser, Arg or Lys

<220>

<223> Xaa at position 6 could be either Ser, Gly or Tyr

<220>

<223> Xaa at position 7 could be either Leu, Phe, Thr or Ser

<220>

<223> Xaa at position 8 could be either Arg, Ser, Thr, Trp or His

<220>

<223> Xaa at position 9 could be either Gly or Pro

<220>

30

<223> Xaa at position 10 could be either Ser, Thr, Ala
or Leu

<220>

<223> Xaa at position 11 could be either Arg, Ser, Met,
Thr or Leu

<220>

<223> Xaa at position 12 could be either Val, Ile, Thr,
Met or Leu

<400> 2

Gln Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 4

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Xaa at position 1 could be either Gly or Tyr

<220>

<223> Xaa at position 3 could be either Asp or Ser

<220>

<223> Xaa at position 4 could be either Gln or Asn

<400> 4

Xaa Asn Xaa Xaa Arg Pro Ser
1 5

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Xaa represents either Ser or Glu

<400> 5

Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr Gly Met His
1 5

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

20

30

<220>
 <223> Xaa at position 1 could be either Ser or Thr

 <220>
 <223> Xaa at position 3 could be either Ser or Gly

 <220>
 <223> Xaa at position 4 could be either Arg or Ser

 <220>
 <223> Xaa at position 8 could be either Gly or Val

 <220>
 <223> Xaa at position 9 could be either Ser or Ala

 <220>
 <223> Xaa at position 10 could be either Asn, Gly or Tyr

 <220>
 <223> Xaa at position 11 could be either Thr or Asp

 <220>
 <223> Xaa at position 13 could be either Lys or His

 <400> 6
 Xaa Gly Xaa Xaa Ser Asn Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Val Xaa
 1 5 10

10

<210> 7
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<220>
 <223> Xaa at position 6 could be either Gln or Glu

 <220>
 <223> Xaa at position 16 could be either Arg or Gly

 <220>
 <223> Xaa at position 31 could be either Ser or Glu

 <220>
 <223> Xaa at position 84 could be either Lys or Asn

 <220>
 <223> Xaa at position 97 could be either Thr, Ala or Lys

 <220>
 <223> Xaa at position 98 could be either Thr or Lys

 <220>
 <223> Xaa at position 99 could be either Ser or His

 <220>
 <223> Xaa at position 102 could be either Tyr or His

 <220>
 <223> Xaa at position 104 could be either Tyr, Asn or Thr

30

<400> 7
 Gln Val Gln Leu Val Xaa Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Xaa
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Asx
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Xaa Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Xaa Xaa Xaa Gly Ser Xaa Asp Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

10

<210> 8
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa at position 1 could be either Ser or Gln

<220>
 <223> Xaa at position 2 could be either Tyr or Ser

20

<220>
 <223> Xaa at position 13 could be either Thr or Ala

<220>
 <223> Xaa at position 23 and 91 could be either Ser or Thr

<220>
 <223> Xaa at position 25 could be either Gly or Ser

<220>
 <223> Xaa at position 26 could be either Arg or Ser

<220>
 <223> Xaa at position 30 could be either Gly or Val

<220>
 <223> Xaa at position 31 could be either Ser or Ala

30

<220>
 <223> Xaa at position 35 could be either Lys or His

<220>
 <223> Xaa at position 51 could be either Gly or Lys

<220>
 <223> Xaa at position 54 could be either Gln or Asn

<220>
 <223> Xaa at position 79 could be either Val or Leu

<220>
 <223> Xaa at position 93 could be either Asp or Glu

<220>
 <223> Xaa at position 94 could be either Ser, Arg or Lys

<220>
 <223> Xaa at position 95 could be either Ser, Gly or Tyr

<220>
 <223> Xaa at position 96 could be either Leu, Phe, Thr
 or Ser

<220>
 <223> Xaa at position 97 could be either Arg, Ser, Thr,
 Trp or His

<220>
 <223> Xaa at position 98 could be either Gly or Pro

<220>
 <223> Xaa at position 99 could be either Ser, Thr, Ala
 or Leu

<220>
 <223> Xaa at position 100 could be either Arg, Ser, Met,
 Thr or Leu

<220>
 <223> Xaa at position 101 could be either Val, Ile, Thr,
 Met or Leu

<220>
 <223> Xaa at position 32 could be either Asn, Gly or Tyr

<220>
 <223> Xaa at position 33 could be either Thr or Asp

<220>
 <223> Xaa at position 53 could be either Asp or Ser

<400> 8
 Xaa Xaa Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Xaa Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Xaa Gly Xaa Xaa Ser Asn Ile Xaa Xaa Xaa
 20 25 30

Xaa Val Xaa Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Xaa Asn Xaa Xaa Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Xaa Gln
 65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa
 85 90 95

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 9

10

20

30

<211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa at position 2 could be either Gly, Val, Cys or His

<220>
 <223> Xaa at position 3 could be either Ser or Thr

<220>
 <223> Xaa at position 4 could be either His, Thr, Val, Arg, or Ile

<220>
 <223> Xaa at position 5 could be either Asp or Ser

10

<220>
 <223> Xaa at position 6 could be either Asn, Lys, Ala, Thr, Ser, Phe, Trp, or His

<400> 9
 His Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

<210> 10
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa at position 4 could be either Asp or Ser

20

<220>
 <223> Xaa at position 5 represents any amino acid

<220>
 <223> Xaa at position 6 could be either Gly, Asp, Gln, Leu, Phe, Arg, His, Asn or Tyr

<400> 10
 Gln Ser Tyr Xaa Xaa Xaa Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 11
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<220>
 <223> Xaa at position 1 could be either Phe, Thr or Tyr

<220>
 <223> Xaa at position 3 could be either Arg or Ala

<220>
 <223> Xaa at position 5 could be either Asp, Ser, Glu or Ala

<220>
 <223> Xaa at position 6 could be either Gly or Arg

<220>
 <223> Xaa at position 8 represents any amino acid

<220>
 <223> Xaa at position 10 could be either Tyr or Glu
 <400> 11
 Xaa Ile Xaa Tyr Xaa Xaa Ser Xaa Lys Xaa Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 12
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa at position 1 could be either Gly, Tyr, Ser,
 Thr, Asn or Gln

10

<400> 12
 Xaa Asn Asp Gln Arg Pro Ser
 1 5

<210> 13
 <211> 9
 <212> FRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa at position 4 and 5 represents any amino acid

<220>
 <223> Xaa at position 6 could be either Tyr or His

20

<220>
 <223> Xaa at position 7 could be either Gly, Met, Ala,
 Asn or Ser

<400> 13
 Phe Thr Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Met His
 1 5

<210> 14
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa at position 9 could be either Ser, Cys, Arg,
 Asn, Asp or Thr

30

<220>
 <223> Xaa at position 10 could be either Asn, Met or Ile

<220>
 <223> Xaa at position 11 could be either Thr, Tyr, Asp,
 His, Lys or Pro

<400> 14
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Xaa Xaa Xaa Val Lys
 1 5 10

<210> 15
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa at position 30 could be Ser or Glu

<220>
 <223> Xaa at position 83 could be Lys or Asn

<220>
 <223> Xaa at position 5 could be either Gln or Glu

<400> 15
 Gln Val Gln Val Xaa Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser
 1 5 10 15

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Tyr Gly
 20 25 30

Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
 35 40 45

Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Xaa Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys
 85 90 95

Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ser

<210> 16
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa at position 1 could be either Ser or Gln

<220>
 <223> Xaa at position 2 could be Tyr or Ser

<220>
 <223> Xaa at position 13 could be either Thr or Ala

<220>
 <223> Xaa at position 25 could be either Gly or Ser

<220>
 <223> Xaa at position 51 and 95 could be either Gly or Tyr

<220>
 <223> Xaa at position 79 could be either Val or Leu

<400> 16

10

20

30

Xaa Xaa Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Xaa Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Xaa Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Xaa Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Xaa Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Xaa Trp
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

10

<210> 17
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 17
 His Gly Ser His Asp Asn
 1 5

20

<210> 18
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 18
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 19
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 19
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

30

Gly

<210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 20
 Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser
 1 5

<210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 21
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
 1 5

<210> 22
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 22
 Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys
 1 5 10

10

<210> 23
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 23
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

20

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

30

<210> 24
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 24
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Trp Ile Gly Ser Asn
 20 25 30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

10

<210> 25
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 25
 His Gly Ser His Asp Asn
 1 5

<210> 26
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 26
 Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr His Pro Ala Leu Leu
 1 5 10

<210> 27
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 27
 Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

30

<210> 28
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 28
 Tyr Asn Asp Gln Arg Pro Ser
 1 5

<210> 29
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 29
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
 1 5

<210> 30
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 30
 Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys
 1 5 10

<210> 31
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 31
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 32
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Tyr Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80

10

20

30

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 33
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 34
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95

10

20

30

Arg Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 35
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 35
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 36
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa at position 32 represents either Gly or Tyr

<400> 36
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Xaa
 20 25 30

Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95

Ser Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly

10

20

30

100

105

110

<210> 37
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 37
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

10

20

<210> 38
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 38
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Arg Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

30

<210> 39
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 39
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

10

<210> 40
 <211> 112
 <212> PPT
 <213> Homo sapiens

20

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

30

<210> 41
 <211> 115

<212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 41
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

10

<210> 42
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 42
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Trp Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

30

<210> 43
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 43

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

<210> 44
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 44
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe
 85 90 95
 Thr Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 45
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 45
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

10

20

30

20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

10

<210> 46
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 46
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Trp Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

20

<210> 47
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 47
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

30

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 48
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 48
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe
 85 90 95
 Thr Gly Ser Ser Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

20

<210> 49
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 49
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 50
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

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

20

<210> 51
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 51
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

30

85 90 95
 Thr Thr His Gly Ser His Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 52
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 52
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Trp Gly Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

10

20

<210> 53
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 53
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110

30

Val Ser Ser
115

<210> 54
<211> 112
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Val Ser Asn
20 25 30
Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
65 70 75 80
Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe
85 90 95
Thr Gly Ser Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105 110

10

20

<210> 55
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

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

30

<210> 56
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 56
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Val Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe
 85 90 95
 Thr Gly Ala Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

10

<210> 57
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 57
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

30

<210> 58
 <211> 112
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe
 85 90 95
 Thr Gly Ser Ser Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

10

<210> 59

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

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

20

30

<210> 60

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln

```

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

```

10

```

<210> 61
<211> 115
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 61
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
      1           5           10           15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
      20           25           30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35           40           45
Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
      50           55           60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
      65           70           75           80
Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85           90           95
Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
      100          105          110
Val Ser Ser
      115

```

20

30

```

<210> 62
<211> 112
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 62
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
      1           5           10           15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
      20           25           30

```

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95
 His Pro Leu Thr Ile Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

10

<210> 63
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 63
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

20

<210> 64
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 64
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 65
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

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

20

<210> 66
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 66
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln

```

<400> 68
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
  1             5             10             15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
          20             25             30
Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
          35             40             45
Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
          50             55             60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
          65             70             75             80
Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
          85             90             95

```

30

His Pro Leu Thr Met Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

<210> 69
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 69
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 70
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 70
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30

Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95

His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

10

20

30

<210> 71
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 71
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Glu Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

10

<210> 72
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 72
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

30

<210> 73
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 73
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

10

<210> 74
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 74
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Tyr Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

30

<210> 75
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

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

10

<210> 76
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 76
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr
 85 90 95
 His Pro Ala Leu Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
 100 105 110

20

30

<210> 77
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 77
 Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr
 1 5

<210> 78
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 78
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 79
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 79
His Gly Ser Tyr Asp Tyr
1 5

10

<210> 80
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 80
Arg Arg Arg Ser Asn Tyr
1 5

<210> 81
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 81
Ser Gly Ser Ile Asp Tyr
1 5

<210> 82
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 82
His Gly Ser His Asp Asp
1 5

<210> 83
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 83
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 84
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 84
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly
1 5 10

<210> 85
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 85
Ala Lys His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly
1 5 10

<210> 86
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 86
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Ser Gln Gly
1 5 10

<210> 87
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 87
Thr Thr His Gly Ser His Asp Thr Trp Gly Gln Gly
1 5 10

<210> 88
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 88
Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly Gln Gly
1 5 10

<210> 89
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 89
Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Gly His Gly
1 5 10

<210> 90
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 90
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn Trp Ser Gln Gly
1 5 10

10

20

30

<210> 91
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 91
Thr Thr His Arg Ser His Asn Asn Trp Gly Gln Gly
1 5 10

<210> 92
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 92
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

10

<210> 93
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 93
Thr Thr His Gly Ser His Asp Thr
1 5

<210> 94
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 94
Thr Lys His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 95
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 95
Thr Thr Gln Gly Arg His Asp Asn
1 5

<210> 96
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 96
Lys Thr Arg Gly Arg His Asp Asn
1 5

<210> 97
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 97
Thr Thr His Gly Ser His Asp Lys
1 5

<210> 98
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 98
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asp
1 5

<210> 99
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 99
Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 100
Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 101
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 101
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 102
Thr Thr Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 103
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 103
Thr Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 104

10

20

30

<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 104
Thr Thr His Gly Ser Gln Asp Asn
1 5

<210> 105
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 105
Ala Thr His Gly Ser Gln Asp Asn
1 5

10

<210> 106
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 106
His Gly Ser Gln Asp Thr
1 5

<210> 107
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 107
Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr
1 5

20

<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 108
His Gly Ser Gln Asp Asn
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 109
Cys Lys Thr His Gly Ser His Asp Asn
1 5

30

<210> 110
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 110
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Arg Gly Ser Arg Val

1 5 10

<210> 111
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 111
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 112
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 112
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Arg Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 113
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 113
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 114
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 114
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Trp Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 115
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 115
Gln Thr Tyr Asp Ile Ser Glu Ser Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 116
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 116
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 117
<211> 12
<212> PRT

10

20

30

<213> Homo sapiens

<400> 117

Gln Thr Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 118

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe Thr Gly Ser Ser Val
1 5 10

10

<210> 119

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

Gln Ser Tyr Asp Arg Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 120

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Gln Ser Tyr Asp Trp Asn Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

20

<210> 121

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 122

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 122

Gln Ser Tyr Asp Asn Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 123

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Gln Ser Tyr Asp Asn Ala Val Thr Ala Ser Lys Val
1 5 10

<210> 124
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 124
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 125
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 125
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Trp Gly Thr Arg Val
1 5 10

10

<210> 126
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 126
Gln Ser Tyr Asp Arg Asp Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 127
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 127
Gln Ser Tyr Glu Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 128
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 128
Gln Ser Tyr Asp Asn Gly Phe Thr Gly Ala Arg Val
1 5 10

<210> 129
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 129
Gln Ser Tyr Asp Arg Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 130
<211> 12
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe Thr Gly Ser Ser Val
1 5 10

<210> 131

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Gln Ser Tyr Asp Arg Asp Phe Thr Gly Thr Arg Val
1 5 10

<210> 132

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Tyr Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 133

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe Thr Gly Ser Ser Val
1 5 10

<210> 134

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ala Arg Val
1 5 10

<210> 135

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

Gln Ser Tyr Glu Arg Gly Phe Thr Gly Ala Arg Val
1 5 10

<210> 136

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 137

10

20

30

<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 137
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Phe Lys Val Phe
1 5 10

<210> 138
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 138
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Val Ser Ala Tyr Val Phe
1 5 10

10

<210> 139
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 139
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Thr Val Thr Lys Val Phe
1 5 10

<210> 140
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 140
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Tyr Thr Ala Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 141
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 141
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Lys Val Phe
1 5 10

<210> 142
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 142
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Thr Gly Phe Arg Val Phe
1 5 10

<210> 143
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 143
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Tyr Lys Val Phe

1 5 10

<210> 144
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 144
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Thr Gly Tyr Arg Leu Phe
1 5 10

<210> 145
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 145
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Asp Tyr Lys Val Phe
1 5 10

<210> 146
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 146
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Pro Arg Leu Phe
1 5 10

<210> 147
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 147
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 148
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 148
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ala Arg Val Trp
1 5 10

<210> 149
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 149
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Tyr Arg Val Phe
1 5 10

<210> 150
<211> 13
<212> PRT

10

20

30

<213> Homo sapiens

<400> 150

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Pro Arg Val Phe
1 5 10

<210> 151

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Met Thr Ser Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 152

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 152

Gln Ser Tyr Asp Arg Asp Ser Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 153

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Arg Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 154

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 154

His Ser Tyr Asp Ser Asp Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 155

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

His Ser Ser Glu Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 156

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 156

His Ser Tyr Asp Asn Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

10

20

30

<210> 157
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 157
His Ser Tyr Asp Ser Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 158
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 158
Gln Ser Tyr Asp Ser Glu Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

10

<210> 159
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 159
Gln Ser Tyr Asp Thr Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 160
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 160
His Ser Tyr Asp Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 161
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 161
Gln Ser Tyr Asp Thr Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 162
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 162
His Ser Tyr Asp Thr Lys Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 163
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 163
His Ser Ser Asp Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 164
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 164
Gln Ser Tyr Asp Ser Asp Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 165
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 165
His Ser Tyr Glu Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 166
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 166
Gln Ser Tyr Asp Ala Pro Trp Ser Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 167
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 167
His Ser Tyr Asp Ser Asp Phe Thr Gly Ser Lys Val Phe
1 5 10

<210> 168
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 168
His Thr Asn Asp Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 169
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 169
His Ser Tyr Asp Thr Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 170

10

20

30

<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 170
Gln Ser Tyr Asp Met Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 171
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 171
His Ser Ser Asp Ser Asp Ser Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

10

<210> 172
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 172
Gln Ser Tyr Asn Thr Asp Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 173
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 173
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 174
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 174
His Ser Tyr Asp Met Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 175
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 175
His Ser Tyr Asp Asn Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 176
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 176
His Ser His Asp Arg Asp Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe

1 5 10

<210> 177
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 177
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Arg Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 178
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 178
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ile His Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 179
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 179
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Phe Pro Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 180
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 180
Gln Ser Tyr Asp Ile Gly Ser Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 181
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 181
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

30

<210> 182
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 182
Gln Ser Tyr Asp Ile Gly Met Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 183
<211> 13
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 183

Gln Ser Tyr Asp Ile Gly Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 184

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 184

Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Val Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

10

<210> 185

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 185

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Thr Ala Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 186

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 186

Gln Ser Tyr Asp Thr Gly Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

20

<210> 187

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 187

Gln Ser Tyr Asp Thr Ala Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 188

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 188

Gln Ser Tyr Asp Ile Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 189

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 189

Gln Ser Tyr Asp Ile Arg Ser Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 190
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 190
Gln Ser Tyr Asp Asn Arg Leu Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 191
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 191
Gln Ser Tyr Glu Thr Ser Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

10

<210> 192
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 192
Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Ser Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 193
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 193
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Phe Thr Ala Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 194
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 194
Gln Thr Tyr Asp Lys Gly Phe Thr Gly Ser Ser Val Phe
1 5 10

<210> 195
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 195
Gln Ser Tyr Asp Asn Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 196
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 196
Gln Ser Tyr Asp Thr Gly Phe Thr Lys Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 197
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 197
Gln Ser Tyr Asp Ser Asp Val Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 198
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 198
Gln Ser Tyr Asp Ala Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val Phe
1 5 10

<210> 199
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 199
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ser Met Leu
1 5 10

<210> 200
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 200
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Thr Pro Arg Pro Met
1 5 10

<210> 201
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 201
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Asn Pro Ala Leu Thr
1 5 10

<210> 202
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 202
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Trp Leu His
1 5 10

<210> 203

10

20

30

<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 203
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Asn Ser Pro Ala Thr Val
1 5 10

<210> 204
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 204
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Phe Pro Ser Pro Gln
1 5 10

10

<210> 205
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 205
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Asn Pro Ser Ala Thr
1 5 10

<210> 206
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 206
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Lys Ser Asn Lys Met Leu
1 5 10

<210> 207
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 207
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly His Thr Ala His Leu Tyr
1 5 10

<210> 208
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 208
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Gln Thr Pro Ser Ile Thr
1 5 10

<210> 209
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 209
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Tyr Pro Arg Asn Ile Leu

1 5 10

<210> 210
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 210
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ile Thr Pro Gly Leu Ala
1 5 10

<210> 211
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 211
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Gln Pro His Ala Val Leu
1 5 10

<210> 212
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 212
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Asn Ser Pro Ile Pro Thr
1 5 10

<210> 213
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 213
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Pro Asn Asn Ser Phe
1 5 10

<210> 214
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 214
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Val Asp Pro Gly Pro Tyr
1 5 10

<210> 215
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 215
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Pro Arg His Ala Leu
1 5 10

<210> 216
<211> 12
<212> PRT

10

20

30

<213> Homo sapiens

<400> 216

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Pro Tyr His Pro Ile Arg
1 5 10

<210> 217

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 217

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Pro His Thr Gln Pro Thr
1 5 10

10

<210> 218

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 218

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly His Asn Asn Phe Ser Pro
1 5 10

<210> 219

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 219

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Pro Thr His Leu Pro His
1 5 10

20

<210> 220

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 220

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Pro Ser Tyr Pro Thr
1 5 10

<210> 221

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 221

Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Thr Ser Asn Leu Leu Pro
1 5 10

<210> 222

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 222

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Asp Ser Asn His Asp Leu
1 5 10

<210> 223
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 223
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Pro Arg Leu Thr His
1 5 10

<210> 224
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 224
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ile Pro Thr Ser Tyr Leu
1 5 10

10

<210> 225
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 225
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Arg Val Gln Ala Pro
1 5 10

<210> 226
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 226
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Leu Ser Asp Ser Pro Leu
1 5 10

<210> 227
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 227
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Ser Leu Arg Arg Ile Leu
1 5 10

<210> 228
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 228
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Pro Ala Arg Thr Ser Pro
1 5 10

<210> 229
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 229
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Ala Ala His Pro Gln
1 5 10

<210> 230
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 230
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Gln Pro Ala Asx Ile
1 5 10

<210> 231
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 231
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Thr Met Ile
1 5 10

<210> 232
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 232
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Ile Pro Ala Asx Thr
1 5 10

20

<210> 233
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 233
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Val Pro Ala
1 5 10

<210> 234
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 234
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser Asx Pro Ile Pro Ala
1 5 10

30

<210> 235
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 235
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Val Pro Ala
1 5 10

<210> 236

<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 236
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Thr Met Tyr
1 5 10

<210> 237
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 237
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly His His Tyr Thr Thr Phe
1 5 10

10

<210> 238
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 238
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser His Pro Ala Ala Glu
1 5 10

<210> 239
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 239
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Ile Pro Ser Ile Glu
1 5 10

<210> 240
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 240
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser Ser Pro Ala Ile Met
1 5 10

<210> 241
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 241
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ile Trp Pro Asn Leu Asn
1 5 10

<210> 242
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 242
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Asn Leu Asn

1 5 10

<210> 243
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 243
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ser Ile Ser
1 5 10

<210> 244
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 244
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser Ala Pro Met Ile Asn
1 5 10

<210> 245
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 245
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly His His Pro Ala Met Ser
1 5 10

<210> 246
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 246
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ser Ile Thr
1 5 10

<210> 247
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 247
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Asp Pro Ala Ile Val
1 5 10

<210> 248
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 248
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 249
<211> 12
<212> PRT

10

20

30

<213> Homo sapiens

<400> 249

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser His Pro Ala Leu Thr
1 5 10

<210> 250

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 250

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Thr Pro Ala Pro Glu
1 5 10

10

<210> 251

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 251

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser His Pro Thr Leu Ile
1 5 10

<210> 252

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 252

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ser Met Leu
1 5 10

20

<210> 253

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 253

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Thr Pro Arg Pro Met
1 5 10

<210> 254

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 254

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Leu Pro Ala Gln Thr
1 5 10

<210> 255

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 255

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Leu Thr Ile
1 5 10

<210> 256
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 256
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Gln Thr Pro Ser Ile Thr
1 5 10

<210> 257
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 257
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Phe Gln Met Tyr
1 5 10

10

<210> 258
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 258
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Arg Asn Pro Ala Leu Thr
1 5 10

<210> 259
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 259
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Leu Thr Met
1 5 10

<210> 260
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 260
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Leu Thr Met
1 5 10

<210> 261
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 261
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Tyr Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 262
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 262
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 263
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 263
Gln Ser Tyr Asp Ser Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 264
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 264
Gln Ser Tyr Pro Asp Gly Thr Pro Ala Ser Arg Val
1 5 10

<210> 265
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 265
Gln Ser Tyr Ser Thr His Met Pro Ile Ser Arg Val
1 5 10

20

<210> 266
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 266
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Ser Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

<210> 267
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 267
Gln Ser Tyr Pro Asn Ser Tyr Pro Ile Ser Arg Val
1 5 10

30

<210> 268
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 268
Gln Ser Tyr Ile Arg Ala Pro Gln Gln Val
1 5 10

<210> 269

<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 269
Gln Ser Tyr Leu Lys Ser Arg Ala Phe Ser Arg Val
1 5 10

<210> 270
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 270
Gln Ser Tyr Asp Ser Arg Phe Thr Gly Ser Arg Val
1 5 10

10

<210> 271
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 271
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 272
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 272
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 273
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 273
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Phe Asp Gly
1 5 10

<210> 274
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 274
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Ala Pro Ala Leu Ser
1 5 10

<210> 275
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 275
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Ser Tyr Pro Ala Leu Arg

1 5 10

<210> 276
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 276
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Asn Trp Pro Asn Ser Asn
1 5 10

<210> 277
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 277
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Ala Pro Ser Leu Leu
1 5 10

<210> 278
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 278
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 279
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 279
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr Thr Pro Arg Ile Arg
1 5 10

<210> 280
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 280
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 281
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 281
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
1 5 10

<210> 282
<211> 12
<212> PRT

10

20

30

<213> Homo sapiens

<400> 282

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Met Ile Pro Ala Leu Thr
1 5 10

<210> 283

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 283

Gln Ser Tyr Asp Arg Asn Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

10

<210> 284

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 284

Gln Ser Tyr Asp Arg Phe Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 285

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 285

Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

20

<210> 286

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 286

Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 287

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 287

Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 288

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 288

Phe Thr Phe Glu Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 289
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 289
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 290
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 290
Phe Thr Phe Tyr Ser Tyr Gly Met His
1 5

10

<210> 291
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 291
Phe Thr Phe His Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 292
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 292
Phe Thr Phe Lys Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 293
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 293
Phe Thr Phe Arg Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 294
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 294
Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 295
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 295
Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 296
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 296
Phe Thr Phe Gly Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 297
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 297
Phe Thr Phe Val Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 298
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 298
Phe Thr Phe Ile Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 299
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 299
Phe Thr Phe Trp Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 300
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 300
Phe Thr Phe Ser Glu Tyr Gly Met His
1 5

<210> 301
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 301
Phe Thr Phe Ser Cys Tyr Gly Met His
1 5

<210> 302

10

20

30

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 302
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 303
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 303
Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Gly Met His
1 5

10

<210> 304
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 304
Phe Thr Phe Ser His Tyr Gly Met His
1 5

<210> 305
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 305
Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly Met His
1 5

<210> 306
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 306
Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met His
1 5

<210> 307
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 307
Phe Thr Phe Ser Gln Tyr Gly Met His
1 5

<210> 308
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 308
Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met His

1 5

<210> 309
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 309
Phe Thr Phe Ser Ala Tyr Gly Met His
1 5

<210> 310
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 310
Phe Thr Phe Ser Ile Tyr Gly Met His
1 5

<210> 311
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 311
Phe Thr Phe Ser Ser Glu Gly Met His
1 5

<210> 312
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 312
Phe Thr Phe Ser Ser Cys Gly Met His
1 5

<210> 313
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 313
Phe Thr Phe Ser Ser Ser Gly Met His
1 5

<210> 314
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 314
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 315
<211> 9
<212> PRT

10

20

30

<213> Homo sapiens

<400> 315

Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His
1 5

<210> 316

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 316

Phe Thr Phe Ser Ser Arg Gly Met His
1 5

10

<210> 317

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 317

Phe Thr Phe Ser Ser Asn Gly Met His
1 5

<210> 318

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 318

Phe Thr Phe Ser Ser Thr Gly Met His
1 5

20

<210> 319

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 319

Phe Thr Phe Ser Ser Ala Gly Met His
1 5

<210> 320

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

30

<400> 320

Phe Thr Phe Ser Ser Val Gly Met His
1 5

<210> 321

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 321

Phe Thr Phe Ser Ser Leu Gly Met His
1 5

<210> 322
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 322
Phe Thr Phe Ser Ser Ile Gly Met His
1 5

<210> 323
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 323
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp Met His
1 5

10

<210> 324
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 324
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Glu Met His
1 5

<210> 325
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 325
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Cys Met His
1 5

<210> 326
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 326
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met His
1 5

<210> 327
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 327
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 328
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 328
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asn Met His
1 5

<210> 329
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 329
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 330
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 330
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met His
1 5

<210> 331
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 331
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Val Met His
1 5

20

<210> 332
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 332
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Met Met His
1 5

<210> 333
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 333
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ile Met His
1 5

30

<210> 334
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 334
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Pro Met His
1 5

<210> 335

<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 335
Glu Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 336
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 336
Cys Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 337
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 337
Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

20

Gly

<210> 338
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 338
His Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

30

<210> 339
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 339
Lys Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 340
<211> 17

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 340
Asn Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 341
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 341
Gln Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10

<210> 342
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 342
Thr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

20

<210> 343
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 343
Leu Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 344
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 344
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

30

<210> 345
<211> 17
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 345

Phe Ile Glu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 346

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 346

Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10

<210> 347

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 347

Phe Ile Tyr Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

20

<210> 348

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 348

Phe Ile His Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 349

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 349

Phe Ile Lys Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

30

<210> 350

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 350
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 351
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 351
Phe Ile Gln Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10

<210> 352
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 352
Phe Ile Thr Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

20

<210> 353
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 353
Phe Ile Gly Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 354
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 354
Phe Ile Ala Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

30

<210> 355
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 355
Phe Ile Val Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 356
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 356
Phe Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10

<210> 357
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 357
Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

20

<210> 358
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 358
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 359
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 359
Phe Ile Arg Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

30

<210> 360
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 360

Phe Ile Arg Tyr Ser Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 361
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 361
Phe Ile Arg Tyr Tyr Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10

<210> 362
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 362
Phe Ile Arg Tyr Lys Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 363
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 363
Phe Ile Arg Tyr Arg Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

20

<210> 364
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 364
Phe Ile Arg Tyr Asn Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

30

<210> 365
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 365
Phe Ile Arg Tyr Gln Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15
Gly

<210> 366
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 366
Phe Ile Arg Tyr Thr Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

10

<210> 367
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 367
Phe Ile Arg Tyr Ala Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 368
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 368
Phe Ile Arg Tyr Val Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

20

<210> 369
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 369
Phe Ile Arg Tyr Leu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

30

<210> 370
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 370
Phe Ile Arg Tyr Ile Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 371
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 371
Phe Ile Arg Tyr Phe Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10

<210> 372
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 372
Phe Ile Arg Tyr Asp Asp Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 373
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 373
Phe Ile Arg Tyr Asp Glu Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 374
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 374
Phe Ile Arg Tyr Asp Ser Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

30

Gly

<210> 375
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 375
Phe Ile Arg Tyr Asp Tyr Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 376
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 376
Phe Ile Arg Tyr Asp Lys Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10

<210> 377
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 377
Phe Ile Arg Tyr Asp Arg Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 378
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 378
Phe Ile Arg Tyr Asp Asn Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 379
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 379
Phe Ile Arg Tyr Asp Gln Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

30

Gly

<210> 380
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 380
Phe Ile Arg Tyr Asp Thr Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 381
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 381
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 382
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 382
Phe Ile Arg Tyr Asp Val Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 383
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 383
Phe Ile Arg Tyr Asp Phe Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 384
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 384
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 385
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 385
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10

20

30

<210> 386
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 386
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser His Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 387
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 387
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 388
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 388
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

20

Gly

<210> 389
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 389
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Gly Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

30

<210> 390
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 390
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Met Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 391
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 391
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Leu Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 392
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 392
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Ile Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 393
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 393
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Pro Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 394
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 394
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Phe Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 395
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 395
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Glu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

10

20

30

<210> 396
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 396
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 397
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 397
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 398
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 398
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 399
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 399
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 400
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 400
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 401

10

20

30

<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 401
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Ile Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 402
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 402
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Pro Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 403
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 403
Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 404
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 404
Glu Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 405
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 405
Ser Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 406
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 406
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

10

20

30

<210> 407
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 407
Lys Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 408
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 408
Gln Gly Ser His Asp Asn
1 5

10

<210> 409
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 409
Thr Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 410
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 410
Ala Gly Ser His Asp Asn
1 5

20

<210> 411
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 411
Leu Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 412
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 412
Pro Gly Ser His Asp Asn
1 5

30

<210> 413
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 413
Phe Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 414
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 414
His Asp Ser His Asp Asn
1 5

<210> 415
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 415
His Cys Ser His Asp Asn
1 5

<210> 416
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 416
His His Ser His Asp Asn
1 5

20

<210> 417
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 417
His Arg Ser His Asp Asn
1 5

<210> 418
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 418
His Thr Ser His Asp Asn
1 5

30

<210> 419
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 419
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 420
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 420
His Val Ser His Asp Asn
1 5

<210> 421
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 421
His Met Ser His Asp Asn
1 5

10

<210> 422
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 422
His Leu Ser His Asp Asn
1 5

<210> 423
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 423
His Ile Ser His Asp Asn
1 5

20

<210> 424
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 424
His Pro Ser His Asp Asn
1 5

<210> 425
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 425
His Trp Ser His Asp Asn
1 5

30

<210> 426
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 426

His Gly Asp His Asp Asn
1 5

<210> 427
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 427
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 428
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 428
His Gly Tyr His Asp Asn
1 5

<210> 429
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 429
His Gly His His Asp Asn
1 5

20

<210> 430
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 430
His Gly Arg His Asp Asn
1 5

<210> 431
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 431
His Gly Asn His Asp Asn
1 5

30

<210> 432
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 432
His Gly Thr His Asp Asn
1 5

<210> 433
<211> 6

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 433
His Gly Gly His Asp Asn
1 5

<210> 434
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 434
His Gly Ala His Asp Asn
1 5

10

<210> 435
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 435
His Gly Ile His Asp Asn
1 5

<210> 436
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 436
His Gly Pro His Asp Asn
1 5

20

<210> 437
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 437
His Gly Trp His Asp Asn
1 5

<210> 438
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 438
His Gly Phe His Asp Asn
1 5

30

<210> 439
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 439
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 440
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 440
His Gly Ser Arg Asp Asn
1 5

<210> 441
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 441
His Gly Ser Thr Asp Asn
1 5

10

<210> 442
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 442
His Gly Ser Ala Asp Asn
1 5

<210> 443
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 443
His Gly Ser Val Asp Asn
1 5

20

<210> 444
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 444
His Gly Ser Leu Asp Asn
1 5

<210> 445
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 445
His Gly Ser Ile Asp Asn
1 5

30

<210> 446
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 446
His Gly Ser Phe Asp Asn
1 5

<210> 447
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 447
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 448
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 448
His Gly Ser His Ser Asn
1 5

<210> 449
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 449
His Gly Ser His Tyr Asn
1 5

<210> 450
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 450
His Gly Ser His His Asn
1 5

<210> 451
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 451
His Gly Ser His Arg Asn
1 5

<210> 452
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 452
His Gly Ser His Asn Asn
1 5

10

20

30

<210> 453
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 453
His Gly Ser His Gly Asn
1 5

<210> 454
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 454
His Gly Ser His Ala Asn
1 5

10

<210> 455
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 455
His Gly Ser His Val Asn
1 5

<210> 456
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 456
His Gly Ser His Ile Asn
1 5

20

<210> 457
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 457
His Gly Ser His Asp Ser
1 5

<210> 458
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 458
His Gly Ser His Asp His
1 5

30

<210> 459
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 459

His Gly Ser His Asp Lys
1 5

<210> 460
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 460
His Gly Ser His Asp Arg
1 5

<210> 461
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 461
His Gly Ser His Asp Asn
1 5

<210> 462
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 462
His Gly Ser His Asp Thr
1 5

20

<210> 463
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 463
His Gly Ser His Asp Gly
1 5

<210> 464
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 464
His Gly Ser His Asp Ala
1 5

30

<210> 465
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 465
His Gly Ser His Asp Leu
1 5

<210> 466
<211> 6

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 466
His Gly Ser His Asp Ile
1 5

<210> 467
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 467
His Gly Ser His Asp Pro
1 5

10

<210> 468
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 468
His Gly Ser His Asp Trp
1 5

<210> 469
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 469
His Gly Ser His Asp Phe
1 5

20

<210> 470
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 470
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Asp Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 471
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 471
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Cys Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 472
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 472
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 473
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 473
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Tyr Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 474
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 474
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Lys Asn Thr Val Lys
1 5 10

10

<210> 475
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 475
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Arg Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 476
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 476
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Asn Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 477
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 477
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Thr Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 478
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 478
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Pro Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 479
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 479
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asp Thr Val Lys
1 5 10

<210> 480
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 480
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Glu Thr Val Lys
1 5 10

<210> 481
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 481
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Ser Thr Val Lys
1 5 10

<210> 482
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 482
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Tyr Thr Val Lys
1 5 10

20

<210> 483
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 483
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser His Thr Val Lys
1 5 10

<210> 484
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 484
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Lys Thr Val Lys
1 5 10

30

<210> 485
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 485
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys
1 5 10

<210> 486
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 486
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Gln Thr Val Lys
1 5 10

<210> 487
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 487
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Thr Thr Val Lys
1 5 10

10

<210> 488
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 488
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Gly Thr Val Lys
1 5 10

<210> 489
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 489
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Met Thr Val Lys
1 5 10

<210> 490
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 490
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Ile Thr Val Lys
1 5 10

<210> 491
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 491
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Asp Val Lys
1 5 10

<210> 492
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 492

Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Cys Val Lys
1 5 10

<210> 493
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 493
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ser Val Lys
1 5 10

<210> 494
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 494
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Lys
1 5 10

<210> 495
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 495
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn His Val Lys
1 5 10

<210> 496
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 496
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Lys Val Lys
1 5 10

<210> 497
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 497
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Arg Val Lys
1 5 10

<210> 498
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 498
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Asn Val Lys
1 5 10

<210> 499
<211> 13

10

20

30

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 499
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Gln Val Lys
1 5 10

<210> 500
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 500
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Lys
1 5 10

10

<210> 501
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 501
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ala Val Lys
1 5 10

<210> 502
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 502
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Val Val Lys
1 5 10

20

<210> 503
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 503
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Leu Val Lys
1 5 10

<210> 504
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 504
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ile Val Lys
1 5 10

<210> 505
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 505
Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn Pro Val Lys
1 5 10

<210> 506
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 506
Asp Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 507
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 507
Glu Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

10

<210> 508
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 508
Cys Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 509
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 509
Ser Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 510
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 510
Tyr Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 511
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 511
His Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 512
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 512
Lys Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 513
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 513
Arg Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 514
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 514
Asn Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 515
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 515
Gln Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

20

<210> 516
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 516
Thr Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 517
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 517
Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

30

<210> 518
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 518
Ala Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 519
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 519
Val Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 520
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 520
Met Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

10

<210> 521
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 521
Leu Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 522
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 522
Ile Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 523
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 523
Pro Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 524
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 524
Trp Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 525
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 525

Phe Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 526
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 526
Gly Asn Asp Ser Arg Pro Ser
1 5

<210> 527
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 527
Gly Asn Asp Tyr Arg Pro Ser
1 5

<210> 528
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 528
Gly Asn Asp Arg Arg Pro Ser
1 5

<210> 529
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 529
Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 530
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 530
Gly Asn Asp Thr Arg Pro Ser
1 5

<210> 531
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 531
Gly Asn Asp Ala Arg Pro Ser
1 5

<210> 532
<211> 7

10

20

30

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 532
Gly Asn Asp Ile Arg Pro Ser
1 5

<210> 533
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 533
Gly Asn Asp Pro Arg Pro Ser
1 5

10

<210> 534
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 534
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 535
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 535
Gln Ser Tyr Cys Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

20

<210> 536
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 536
Gln Ser Tyr Ser Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 537
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 537
Gln Ser Tyr Tyr Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 538
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 538
Gln Ser Tyr Asn Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 539
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 539
Gln Ser Tyr Gln Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 540
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 540
Gln Ser Tyr Thr Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

10

<210> 541
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 541
Gln Ser Tyr Gly Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 542
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 542
Gln Ser Tyr Ala Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 543
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 543
Gln Ser Tyr Leu Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 544
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 544
Gln Ser Tyr Ile Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 545
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 545
Gln Ser Tyr Tyr Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 546
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 546
Gln Ser Tyr Phe Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 547
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 547
Gln Ser Tyr Asp Asp Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 548
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 548
Gln Ser Tyr Asp Cys Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

20

<210> 549
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 549
Gln Ser Tyr Asp Ser Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 550
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 550
Gln Ser Tyr Asp Tyr Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

30

<210> 551
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 551
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 552
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 552
Gln Ser Tyr Asp Asn Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 553
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 553
Gln Ser Tyr Asp Gln Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

10

<210> 554
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 554
Gln Ser Tyr Asp Thr Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 555
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 555
Gln Ser Tyr Asp Gly Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 556
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 556
Gln Ser Tyr Asp Ala Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 557
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 557
Gln Ser Tyr Asp Val Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 558
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 558

Gln Ser Tyr Asp Met Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 559
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 559
Gln Ser Tyr Asp Leu Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 560
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

10

<400> 560
Gln Ser Tyr Asp Ile Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 561
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 561
Gln Ser Tyr Asp Pro Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

20

<210> 562
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 562
Gln Ser Tyr Asp Trp Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 563
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 563
Gln Ser Tyr Asp Arg Asp Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

30

<210> 564
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 564
Gln Ser Tyr Asp Arg Cys Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 565
<211> 12

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 565
Gln Ser Tyr Asp Arg Ser Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 566
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 566
Gln Ser Tyr Asp Arg Tyr Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

10

<210> 567
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 567
Gln Ser Tyr Asp Arg His Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 568
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 568
Gln Ser Tyr Asp Arg Arg Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

20

<210> 569
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 569
Gln Ser Tyr Asp Arg Asn Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 570
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 570
Gln Ser Tyr Asp Arg Gln Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

30

<210> 571
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 571
Gln Ser Tyr Asp Arg Thr Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 572
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 572
Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 573
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 573
Gln Ser Tyr Asp Arg Ala Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

10

<210> 574
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 574
Gln Ser Tyr Asp Arg Val Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 575
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

20

<400> 575
Gln Ser Tyr Asp Arg Leu Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 576
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 576
Gln Ser Tyr Asp Arg Ile Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 577
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30

<400> 577
Gln Ser Tyr Asp Arg Pro Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

<210> 578
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 578
Gln Ser Tyr Asp Arg Trp Tar His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

```
<210> 579
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 579
Gln Ser Tyr Asp Arg Phe Thr His Pro Ala Leu Leu
1 5 10

```
<210> 580
<211> 48
<212> DNA
<213> synthetic construct
<223> nucleotides at positions 16 to 34 can be
substituted with any nucleotide such that the
randomized nucleotides represent 12% of the
sequence
```

<400> 580
tgcccccttg cccagtagt catagctccc actggctgta cagtaata 48

```
<210> 581
<211> 35
<212> DNA
<213> synthetic construct
```

<400> 581
gacacctcga tcagcggata acaatttcac acagg 35

<210> 582
<211> 15
<212> DNA
<213> synthetic construct

```
<400> 582
tggggccaag ggaca
```

<210> 583
<211> 45
<212> DNA
<213> synthetic construct

<400> 583
attcgtccta tacggttcta ctctgtcgtc ttccagacg ttagt 45

```
<210> 584
<211> 18
<212> DNA
<213> synthetic construct
```

```
<400> 584
atccgtccta taccggtc                                18
```

```
<210> 585
<211> 66
<212> DNA
<213> synthetic construct
<223> nucleotides from position 28 to 42 can be
substituted with any nucleotide such that the
```

10

20

30

randomized nucleotides represent 12% of the sequence

<400> 585
 gggtcccagtt ccgaagaccc tcgaacccct caggctgctg tcatatgact ggcagtaata 60
 gtcagc 66

<210> 586
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> synthetic construct

<400> 586
 tggggccaag ggaca 15

<210> 587
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> synthetic construct

<400> 587
 tgaagagacg gtgaccattg tccc 24

<210> 588
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> synthetic construct

<400> 588
 gacacctcga tcagcg 16

<210> 589
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> synthetic construct

<400> 589
 gagtcattct cgacttgccg ccgcacctag gacggtcagc ttggtccc 48

<210> 590
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 590
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Phe Thr Gly Ser Met Val
 1 5 10

<210> 591
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa is encoded by a randomized codon of sequence
 NNS with N being any nucleotide and S being either
 deoxycytosine or deoxyguanine

<400> 591
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Thr Gly Ser Met Val
 1 5 10

<210> 592
 <211> 12

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Xaa is encoded by a randomized codon of sequence
 NNS with N being any nucleotide and S being either
 deoxycytosine or deoxyguanine

<400> 592
 Gln Ser Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Met Val
 1 5 10

<210> 593
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<220>
 <223> Xaa is encoded by a randomized codon of sequence
 NNS with N being any nucleotide and S being either
 deoxycytosine or deoxyguanine

<400> 593
 Gln Ser Tyr Asp Arg Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 594
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20

<400> 594
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
 20 25 30

Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

30

Tyr Cys Ala Arg
 100

<210> 595
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 595
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

10

20

30

<400> 597
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Gln Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val
35 40 45
Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Leu Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Ala Arg
 100

<210> 598
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 598
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys

10

<210> 599
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 599
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Asn Trp Asn Gly Gly Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr His Cys
 85 90 95
 Ala Arg

20

<210> 600
 <211> 98

30

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 600
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Leu Ile Ser Trp Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys

10

<210> 601
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 601
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg

20

30

<210> 602
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 602
Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 603
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 603
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Thr Arg
 100

20

<210> 604
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 604
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

30

85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

 <210> 605
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 605
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Glu Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

 <210> 606
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 606
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

 <210> 607
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

20

30

<400> 607
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

10

<210> 608
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 608
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

20

<210> 609
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 609
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Thr
 100

<210> 610
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 610
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Pro Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn His
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Gly Asp Ser Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn Ser Pro Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys

20

<210> 611
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 611
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn His
 20 25 30
 Tyr Thr Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ser Ser Gly Asn Ser Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

30

Val Lys

<210> 612
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 612
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ser
 21 25 30
 Asp Met Asn Trp Val His Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Val Ser Trp Asn Gly Ser Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Thr Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Arg

<210> 613
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 613
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ser
 20 25 30
 Asp Met Asn Trp Ala Arg Lys Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Val Ser Trp Asn Gly Ser Arg Thr His Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Arg Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Lys Asn Arg Arg Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Arg

<210> 614
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 614

10

20

30

Thr Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Glu Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ser
 20 25 30
 Asp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Val Ser Trp Asn Gly Ser Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Asn Phe Leu Tyr
 65 70 75 80
 Gln Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Arg

10

<210> 615
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 615
 Glu Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ala Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Asn Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg

20

<210> 616
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 616
 Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

30

50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg

<210> 617
<211> 97
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 617
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg

<210> 618
<211> 97
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 618
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg

10

20

30

<210> 619
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 619
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys

10

<210> 620
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 620
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Ser Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Val Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys

20

<210> 621
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 621
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

30

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Ser Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Val Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Val Lys

10

<210> 622
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 622
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Ser Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asn Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Gly Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

20

<210> 623
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 623
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys

<210> 624
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 624
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

10

20

<210> 625
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 625
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

30

<210> 626
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 626
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

10

<210> 627
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 627
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

20

<210> 628
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 628
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

30

10

20

30

```

<400> 630
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
  1             5             10             15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
          20             25             30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35             40             45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
          50             55             60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
  65             70             75             80

```

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 631
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 631
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 632
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 632
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 633
 <211> 98

10

20

30

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 633
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Ser Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Val Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Lys

10

<210> 634
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 634
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Ser Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg

20

30

<210> 635
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 635
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

<210> 636
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 636
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

20

<210> 637
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 637
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

30

85 90 95

Ala Lys

<210> 638
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 638
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg

10

<210> 639
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 639
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

20

30

<210> 640
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 640
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Leu Arg Ala Arg Leu Cys Ile Thr Val
 85 90 95
 Arg Glu

10

<210> 641
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 641
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

20

<210> 642
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 642
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

30

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

<210> 643
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 643
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

20

<210> 644
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 644
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

30

Ala Arg

<210> 645
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 645
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 646
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 646
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 647
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 647

10

20

30

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

10

<210> 648
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 648
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Gly Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

20

<210> 649
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 649
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys

<210> 650
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 650
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys

20

<210> 651
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 651
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

30

<210> 652
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 652
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys

10

<210> 653
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 653
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Arg Lys
 85 90 95

20

30

<210> 654
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 654
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

<210> 655
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 655
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Ala
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Thr Asn Thr Leu Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

20

<210> 656
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 656
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

30

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 657
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 657
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 658
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 658
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg

<210> 659
 <211> 98
 <212> PRT

10

20

30

<213> Homo sapiens

<400> 659

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

10

<210> 660

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 660

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

20

<210> 661

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 661

Glu Asp Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Pro Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Val Leu His Trp Val Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Val

30

35 40 45
 Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Met
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Ile Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg

<210> 662
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 662
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
 35 40 45
 Ser Arg Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

20

<210> 663
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 663
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
 35 40 45
 Ser Arg Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

30

Ala Arg

<210> 664
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 664
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 665
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 665
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
 35 40 45
 Ser Arg Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Met
 50 55 60
 Lys Gly Gln Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Arg

<210> 666
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

20

30

<400> 666
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

10

<210> 667
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 667
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Lys Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr

20

<210> 668
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 668
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
 20 25 30
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

30

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Ser Ala

<210> 669
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 669
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asp Met Gly Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Glu Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Trp
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Asp Thr Ser Pro
 85 90 95
 Arg Ala

20

<210> 670
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 670
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95
 Asn Gly

30

<210> 671
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 671
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
 65 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95
 Ser Gly

10

<210> 672
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 672
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Glu Ala Pro Arg Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
 20 25 30
 Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Tyr Asp Asp Leu Leu Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80
 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95
 Asn Gly

20

30

<210> 673
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 673
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 20 25 30
 Tyr Val Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Gln Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Lys Ala Trp Asp Asn Ser
 85 90 95
 Leu Asn Ala

10

<210> 674
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 674
 Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 20 25 30
 Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
 85 90 95
 Leu Ser Gly

20

<210> 675
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30

<400> 675
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Arg Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30
 Thr Val Lys Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Val Gln
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
 85 90 95
 Arg Gly

40

【図 1 A】

図 1 A 重鎖可変部の配列

配列番号	カバットナンバリング	CDR H1	CDR H2
33	JOE94 VH		
33	JOE94 VH		
33	JOE94 VH		
37	70-1 VH		
39	78-34 VH		
41	79-1 VH		
43	101-11 VH		
45	26-1 VH		
47	136-15 VH		
49	136-15 VH 生殖系		
51	149-5 VH		
53	149-6 VH		
55	103-4 VH		
57	103-8 VH		
59	103-14 VH		
61	66 VH		
63	Y139 VH		
65	AO3 VH		
67	AO3 VH 生殖系		
69	Y61 VH		
71	Y61-H31E VH		
73	Y61-L50Y VH		
75	Y61-L94Y VH		
31	J695		

【図 1 B】

図 1 B 重鎖可変部の配列

配列番号	カバットナンバリング	CDR H2	CDR H3
33	JOE94 VH		
35	JOE94 VH		
37	70-1 VH		
39	78-34 VH		
41	79-1 VH		
43	101-11 VH		
45	26-1 VH		
47	136-15 VH		
49	136-15 VH 生殖系		
51	149-5 VH		
53	149-6 VH		
55	103-4 VH		
57	103-8 VH		
59	103-14 VH		
61	66 VH		
63	Y139 VH		
65	AO3 VH		
67	AO3 VH 生殖系		
69	Y61 VH		
71	Y61-H31E VH		
73	Y61-L50Y VH		
75	Y61-L94Y VH		
31	J695		

【図 1 C】

図 1 C 軽鎖可変部の配列

配列番号	カバットナンバリング	CDR L1	CDR L2
34	JOE9 VL wt		
36	JOE9 VL wt		
38	70-1 VL		
40	78-34 VL		
42	79-1 VL		
44	101-11 VL		
46	26-1 VL		
48	136-15 VL		
50	136-15 VL 生殖系		
52	149-5 VL		
54	149-6 VL		
56	103-4 VL		
58	103-8 VL		
60	103-14 VL		
62	66 VL		
64	Y139 VL		
66	AO3 VL		
68	AO3 VL 生殖系		
70	Y61 VL		
72	Y61-H31E VL		
74	Y61-L50Y VL		
76	Y61-L94Y VL		
32	J695 VL		

【図 1 D】

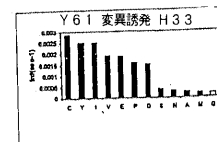
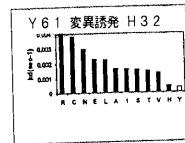
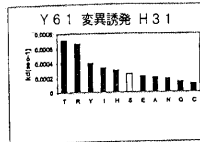
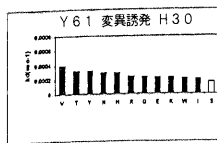
図 1 D 軽鎖可変部の配列

配列番号	カバットナンバリング	CDR L3
34	JOE9 VL wt	
36	JOE9 VL wt	
38	70-1 VL	
40	78-34 VL	
42	79-1 VL	
44	101-11 VL	
46	26-1 VL	
48	136-15 VL	
50	136-15 VL 生殖系	
52	149-5 VL	
54	149-6 VL	
56	103-4 VL	
58	103-8 VL	
60	103-14 VL	
62	66 VL	
64	Y139 VL	
66	AO3 VL	
68	AO3 VL 生殖系	
70	Y61 VL	
72	Y61-H31E VL	
74	Y61-L50Y VL	
76	Y61-L94Y VL	
32	J695 VL	

【図 2 A】

図 2A Y61重鎖CDR H1変異誘発

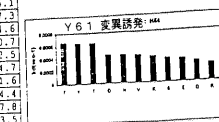
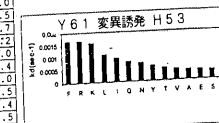
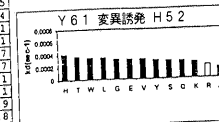
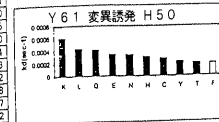
配列番号	CDR H1	K_{eff} ($\times 10^3$)
21	Y61 F T F S S Y G M H	
288	..E..	22.8
289	..S..	16.8
290	..Y..	31.9
291	..H..	29.6
292	..K..	22.5
293	..R..	24.5
294	..N..	30.1
295	..T..	32.0
296	..G..	23.3
297	..V..	39.9
298	..I..	20.7
299	..W..	21.6
300	..E..	21.9
301	..C..	12.0
302	..S..	39.8
303	..Y..	24.9
304	..H..	30.9
305	..R..	66.4
306	..N..	19.1
307	..Q..	15.2
308	..T..	71.6
309	..A..	20.5
310	..I..	33.4
311	..E..	229.0
312	..G..	363.0
313	..S..	157.5
314	..Y..	33.7
315	..H..	46.1
316	..R..	448.5
317	..N..	297.0
318	..T..	148.0
319	..A..	165.5
320	..V..	133.5
321	..L..	226.0
322	..I..	160.5
323	..D..	152.0
324	..E..	189.0
325	..C..	286.5
326	..S..	39.9
327	..Y..	250.5
328	..N..	30.8
329	..G..	27.8
330	..A..	27.3
331	..V..	191.0
332	..M..	21.5
333	..I..	250.0
334	..P..	159.5



【図 2 B】

図 2B Y61重鎖CDR H2変異誘発

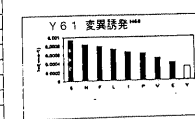
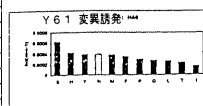
配列番号	CDR H2	K_{eff} ($\times 10^3$)
19	Y61 F I R Y D G S R K Y Y A D S I V K G	
335	..E..	34.7
336	..C..	28.5
337	..H..	23.0
338	..K..	30.9
339	..N..	61.2
340	..Q..	34.4
341	..T..	42.0
342	..V..	20.5
343	..W..	44.0
344	..F..	20.4
345	..E..	31.8
346	..S..	29.2
347	..Y..	26.2
348	..H..	40.7
349	..K..	20.6
350	..R..	28.5
351	..Q..	37.4
352	..T..	32.1
353	..G..	17.1
354	..A..	31.7
355	..V..	34.7
356	..L..	35.1
357	..W..	15.1
358	..D..	39.9
359	..E..	36.8
360	..S..	61.1
361	..V..	158.0
362	..K..	166.5
363	..R..	72.1
364	..N..	79.2
365	..Q..	50.0
366	..E..	40.4
367	..A..	44.0
368	..V..	109.5
369	..L..	94.4
370	..I..	168.5
371	..E..	45.5
372	..D..	35.1
373	..E..	37.3
374	..S..	64.6
375	..Y..	40.7
376	..R..	2.5
377	..K..	44.7
378	..N..	31.6
379	..Q..	64.4
380	..T..	17.8
381	..G..	43.5
382	..V..	



【図 2 C】

図 2C Y61重鎖CDR H2変異誘発

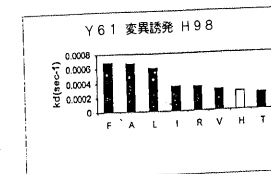
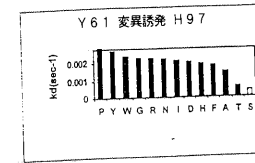
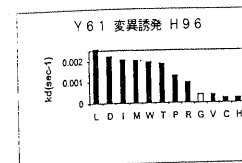
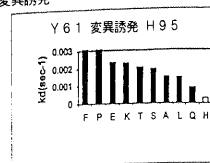
配列番号	CDR H2	K_{eff} ($\times 10^3$)
19	Y61 F I R Y D G S R K Y Y A D S I V K G	
383	..F..	66.3
384	..S..	62.4
385	..Y..	39.0
386	..H..	42.0
387	..N..	38.5
388	..T..	23.5
389	..G..	27.2
390	..M..	38.3
391	..L..	26.4
392	..I..	16.9
393	..P..	29.9
394	..F..	34.5
395	..E..	41.5
396	..S..	94.1
397	..Y..	31.0
398	..N..	83.1
399	..V..	52.4
400	..L..	73.0
401	..I..	65.7
402	..F..	62.8
403	..E..	79.4



【図 2 D】

図 2D Y61重鎖CDR H3変異誘発

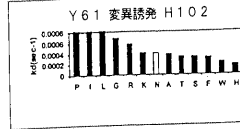
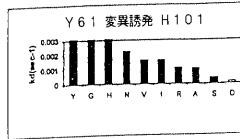
配列番号	CDR H3	K_{eff} ($\times 10^3$)
17	Y61 H G S H D N	
404	..E..	231.5
405	..S..	193.0
406	..H..	28.7
407	..K..	227.5
408	..Q..	85.9
409	..T..	202.0
410	..A..	147.5
411	..L..	471.0
412	..P..	514.0
413	..F..	223.5
414	..D..	24.2
415	..C..	23.7
416	..R..	96.2
417	..I..	186.0
418	..G..	39.7
419	..V..	38.2
420	..Y..	204.5
421	..H..	261.0
422	..L..	207.5
423	..P..	129.0
424	..R..	143.0
425	..M..	202.0
426	..D..	37.5
427	..S..	273.0
428	..Y..	190.5
429	..H..	224.0
430	..R..	221.5
431	..N..	58.8
432	..T..	229.0
433	..G..	208.0
434	..A..	300.0
435	..P..	239.0
436	..M..	180.5
437	..F..	25.5
438	..H..	34.0
439	..R..	22.7
440	..T..	67.3
441	..A..	29.3
442	..V..	59.8
443	..L..	34.3
444	..I..	68.8
445	..F..	14.4
446	..D..	44.9
447	..S..	465.0
448	..Y..	320.0
449	..B..	110.0
450	..R..	
451	..R..	



【図 2 E】

図 2E Y61重鎖CDR H3変異誘発

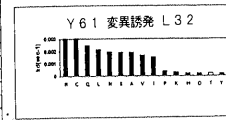
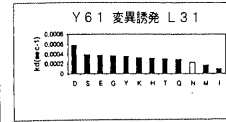
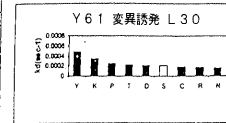
配列番号	Y61	H	G	S	H	D	N	K _{eff} (x 10 ³)
17	Y61	H	G	S	H	D	N	223.0
452	.	.	.	.	.	.	N	375.0
453	.	.	.	.	.	.	G	106.5
454	.	.	.	.	.	.	A	163.0
455	.	.	.	.	.	.	V	162.5
456	.	.	.	.	.	.	I	32.5
457	.	.	.	.	.	.	S	18.0
458	.	.	.	.	.	.	H	40.5
459	.	.	.	.	.	.	K	57.5
460	.	.	.	.	.	.	R	40.3
461	.	.	.	.	.	.	N	33.3
462	.	.	.	.	.	.	T	69.2
463	.	.	.	.	.	.	G	38.2
464	.	.	.	.	.	.	A	95.6
465	.	.	.	.	.	.	L	99.6
466	.	.	.	.	.	.	I	181.5
467	.	.	.	.	.	.	P	23.5
468	.	.	.	.	.	.	W	31.8
469	.	.	.	.	.	.	F	



【図 2 F】

図 2F Y61軽鎖CDR L1変異誘発

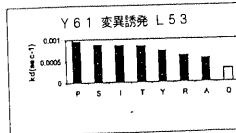
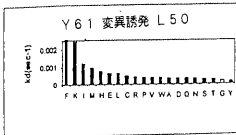
配列番号	Y61	S	G	R	S	N	I	G	S	N	T	V	K	K _{eff} (x 10 ³)
22	Y61	S	G	R	S	N	I	G	S	N	T	V	K	22.0
470	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	18.6
471	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	21.1
472	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	48.3
473	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34.6
474	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	18.2
475	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	16.5
476	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	22.6
477	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	25.0
478	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	58.0
479	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	38.4
480	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	39.2
481	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	35.7
482	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31.5
483	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	33.1
484	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	22.9
485	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	29.2
486	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30.9
487	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	36.6
488	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	17.4
489	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	9.7
490	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	25.2
491	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	381.5
492	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	191.0
493	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	21.3
494	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	26.0
495	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31.8
496	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	650.0
497	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	196.5
498	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	247.0
499	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	24.1
500	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	190.5
501	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	164.5
502	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	215.5
503	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	154.0
504	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	42.4
505	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	



【図 2 G】

図 2G Y61軽鎖CDR L2変異誘発

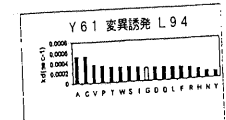
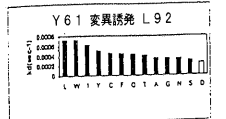
配列番号	Y61	G	N	D	Q	R	P	S	K _{eff} (x 10 ³)
20	Y61	G	N	D	Q	R	P	S	34.8
506	.	.	.	.	.	.	.	.	61.7
507	.	.	.	.	.	.	.	.	46.7
508	.	.	.	.	.	.	.	.	28.6
509	.	.	.	.	.	.	.	.	17.4
510	.	.	.	.	.	.	.	.	76.1
511	.	.	.	.	.	.	.	.	242.5
512	.	.	.	.	.	.	.	.	44.4
513	.	.	.	.	.	.	.	.	30.5
514	.	.	.	.	.	.	.	.	34.8
515	.	.	.	.	.	.	.	.	27.2
516	.	.	.	.	.	.	.	.	21.5
517	.	.	.	.	.	.	.	.	37.2
518	.	.	.	.	.	.	.	.	38.5
519	.	.	.	.	.	.	.	.	95.3
520	.	.	.	.	.	.	.	.	61.6
521	.	.	.	.	.	.	.	.	120.5
522	.	.	.	.	.	.	.	.	41.0
523	.	.	.	.	.	.	.	.	38.2
524	.	.	.	.	.	.	.	.	3,476.7
525	.	.	.	.	.	.	.	.	86.6
526	.	.	.	.	.	.	.	.	73.3
527	.	.	.	.	.	.	.	.	61.4
528	.	.	.	.	.	.	.	.	29.7
529	.	.	.	.	.	.	.	.	83.4
530	.	.	.	.	.	.	.	.	55.4
531	.	.	.	.	.	.	.	.	85.5
532	.	.	.	.	.	.	.	.	97.4
533	.	.	.	.	.	.	.	.	



【図 2 H】

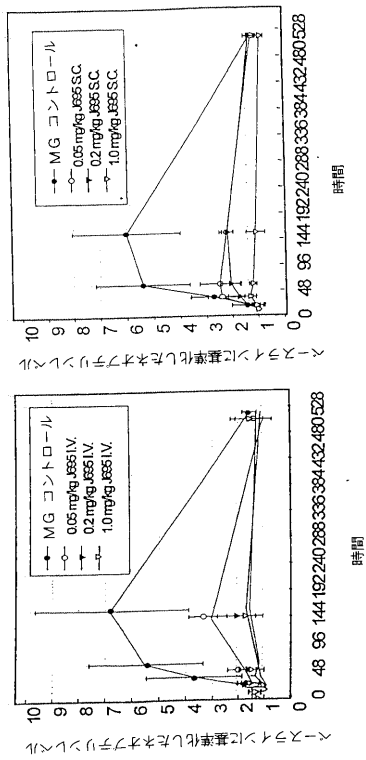
図 2H Y61軽鎖CDR L3変異誘発

CDR L3														K _{eff} (x 10 ³)
配列番号		89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	00	
18	Y61	Q	S	Y	O	R	G	T	H	P	A	L	L	25.9
534		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	45.3
535		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30.7
536		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	51.1
537		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34.7
538		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	42.7
539		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	40.8
540		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34.9
541		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	35.7
542		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	72.8
543		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	61.8
544		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	72.0
545		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	44.9
546		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34.3
547		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	32.0
548		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34.1
549		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	33.5
550		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	19.9
551		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31.6
552		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30.0
553		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31.6
554		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	39.2
555		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	31.0
556		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	26.9
557		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	27.5
558		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30.0
559		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	29.5
560		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34.9
561		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	34.9
562		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	25.3
563		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	52.0
564		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	28.7
565		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	19.1
566		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	18.7
567		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	23.1
568		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	13.7
569		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	25.0
570		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30.5
571		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	25.6
572		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	52.6
573		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	35.1
574		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	24.4
575		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	27.6
576		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	33.2
577		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	29.3
578		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	23.6
579		.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	



【図 3】

図 3 : カニクイサルにおける J695 の in vivo の効果



【図 4】

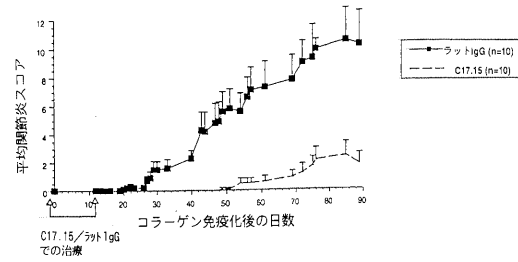


図 4

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

A 6 1 P	5/16	(2006.01)	A 6 1 P	5/16	
A 6 1 P	7/00	(2006.01)	A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	7/02	(2006.01)	A 6 1 P	7/02	
A 6 1 P	7/04	(2006.01)	A 6 1 P	7/04	
A 6 1 P	7/06	(2006.01)	A 6 1 P	7/06	
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	9/04	(2006.01)	A 6 1 P	9/04	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	9/14	(2006.01)	A 6 1 P	9/14	
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	11/16	(2006.01)	A 6 1 P	11/16	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	19/08	(2006.01)	A 6 1 P	19/08	
A 6 1 P	21/04	(2006.01)	A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	25/14	(2006.01)	A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	31/00	(2006.01)	A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	31/04	(2006.01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	31/18	(2006.01)	A 6 1 P	31/18	
A 6 1 P	33/00	(2006.01)	A 6 1 P	33/00	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P	37/08	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	
C 0 7 K	16/24	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 0 7 K	16/24	
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 N	5/00	1 0 1
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	C 1 2 P	21/08	
			G 0 1 N	33/53	P

(72)発明者 ローガスカ, マイケル

アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0 1 7 2 1、アシュランド、ヒルデール・ロード・1 6

(72)発明者 パースカインド, マイケル

アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0 1 5 6 4、スターリング、リデンプション・ロック・トレイル・2 5 3

- (72)発明者 バネルジー , スーパハシス
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01545、シユルーズベリ、ハブグツド・ウェイ・25
- (72)発明者 トレイシー , ダニエル・イー
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01451、ハーバード、シェイカー・ロード・149
- (72)発明者 ホワイト , マイケル
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01701、フレイミンガム、アンジェリカ・ドライブ・30
- (72)発明者 カイマクジャラン , ゼフラ
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01581、ウエストボロウ、ピカデリー・ウェイ・4
- (72)発明者 ラブコフスキー , ボリス
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01752、マルボロウ、ブロードメドウ・ロード・107・エイ - 5
- (72)発明者 サコラファス , ボール
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・02160、ニュートン、コート・ストリート・47
- (72)発明者 フリードリヒ , スチュアート
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・02176、メルローズ、アルピオン・ストリート・20
- (72)発明者 マイルス , アンジェラ
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01810、アンドーバー、クレツセント・ドライブ・11、アパートメント・ナンバー・7
- (72)発明者 フェルトマン , ヘールトライダ・エム
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01776、サドバリー、ウツドメア・ドライブ・60
- (72)発明者 ベンテユリーニ , アミイ
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・02420、レキシントン、ウーバーン・ストリート・207
- (72)発明者 ワーン , ニコラス・ダブリュー
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01810、アンドーバー、フアーウツド・ドライブ・27
- (72)発明者 ウイドム , アンジェラ
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01720、アクトン、チエロキー・ロード・19
- (72)発明者 エルビン , ジョン・ジー
イギリス国、ケンブリッジ・シー・ビー・1・2・エー・ワイ、ペロウン・ストリート・36
- (72)発明者 ダンカン , アレクサンダー・アール
イギリス国、ケンブリッジ・シー・ビー・2・5・エイチ・ジエイ、リトル・シエルフオード、ハウクストン・ロード・3
- (72)発明者 ダービシャー , エレイン・ジエイ
イギリス国、ハートフォードシャー・エス・ジー・8・9・エヌ・キュー、ロイストン、スタツドラング・ライズ、ザ・ブランブルズ・15
- (72)発明者 カーメン , サラ
イギリス国、ケンブリッジ・シー・ビー・1・2・キュー・エフ、スタートン・ストリート・136
- (72)発明者 スミス , ステイブン
イギリス国、ケンブリッジシャー・シー・ビー・7・5・エツクス・テイー、エリー、ウイツケン、チャーチ・ロード・33
- (72)発明者 ホールテツド , トール・ラス
イギリス国、ハートフォードシャー、ロイストン、モーテイマー・ロード・13
- (72)発明者 デューフォー , サラ・エル
イギリス国、ハートフォードシャー・エス・ジー・5・1・テイー・エル、ヒツチエン、アイクルフォード・ロード・76

(56)参考文献 国際公開第95/014780(WO, A1)

Nature Biotechnology, 1997, Vol.15, p.1271-1275

Journal of Immunological Method, 1997, Vol.206, p.171-182

The Journal of Biological Chemistry, 1998, Vol.273, p.21769-21776

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C12N 15/00-15/90

C07K 16/00-16/46

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDREAMII)

UniProt/GeneSeq

PubMed

WPI

BIOSIS(STN)

CAPLUS(STN)

MEDLINE(STN)

专利名称(译)	人抗体与人IL-12的结合及其制备方法		
公开(公告)号	JP4841038B2	公开(公告)日	2011-12-21
申请号	JP2000606632	申请日	2000-03-24
[标]申请(专利权)人(译)	迪能源泰尝试客栈住下特犹LLC		
申请(专利权)人(译)	家乐门EM根据她的 Jieneteitsukusu客栈住下特犹LLC		
当前申请(专利权)人(译)	雅培GMBH UND有限公司卡格		
[标]发明人	ザルフエルトヨーヒエンゲー ローガスカマイケル パースカインドマイケル バネルジエースープハシス トレイシーダニエルイー ホワイトマイケル カイマクジャランゼフラ ラブコフスキーボリス サコラフアスポール フリードリヒスチュアート マイルスアンジエラ フェルトマンヘルトライダエム ベンテユリーニアミイ ワーンニコラスダブリュー ウイドムアンジエラ エルビンジョンジー ダンカンアレクサンダーアール ダービシャーエレインジエイ カーメンサラ スミスステイーブン ホールテツドトールラス デユーフオーサラエル		
发明人	ザルフエルト,ヨーヒエン・ゲー ローガスカ,マイケル パースカインド,マイケル バネルジエー,スープハシス トレイシー,ダニエル・イー ホワイト,マイケル カイマクジャラン,ゼフラ ラブコフスキー,ボリス サコラフアス,ポール フリードリヒ,スチュアート マイルス,アンジエラ フェルトマン,ヘルトライダ・エム ベンテユリーニ,アミイ ワーン,ニコラス・ダブリュー ウイドム,アンジエラ エルビン,ジョン・ジー ダンカン,アレクサンダー・アール ダービシャー,エレイン・ジエイ カーメン,サラ		

スミス,ステイブ
ホールテツド,トール・ラス
デューフォー,サラ・エル

IPC分类号	C12N15/02 A61K39/395 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/10 A61P5/16 A61P7/00 A61P7/02 A61P7/04 A61P7/06 A61P9/00 A61P9/04 A61P9/10 A61P9/14 A61P11/00 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/02 A61P19/08 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P27/02 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/18 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K16/24 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 G01N33/53 C12N15/13
CPC分类号	A61K2039/505 A61P1/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/10 A61P5/14 A61P5/16 A61P7/00 A61P7/02 A61P7/04 A61P7/06 A61P9/00 A61P9/04 A61P9/10 A61P9/14 A61P11/00 A61P11/06 A61P11/08 A61P11/16 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/02 A61P19/08 A61P21/02 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/18 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 A61P37/04 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K16/00 C07K16/244 C07K2317/21 C07K2317/565 C07K2317/622 C07K2317/73 C07K2317/76 C07K2317/92
FI分类号	C12N15/00.ZNA.C A61K39/395.U A61P1/04 A61P1/16 A61P3/10 A61P5/16 A61P7/00 A61P7/02 A61P7/04 A61P7/06 A61P9/00 A61P9/04 A61P9/10 A61P9/14 A61P11/00 A61P11/06 A61P11/16 A61P13/12 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/02 A61P19/08 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P27/02 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/18 A61P33/00 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 A61P43/00.111 C07K16/24 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 C12P21/08 G01N33/53.P
代理人(译)	Masarushin大崎
审查员(译)	伊藤 佑一
优先权	60/126603 1999-03-25 US
其他公开文献	JP2002542770A
外部链接	Espacenet

摘要(译)

公开了特异性结合人白细胞介素-12 (hIL-12) 的人抗体，优选重组人抗体。优选的抗体对hIL-12具有高亲和力并在体外和体内中和hIL-12活性。本发明的抗体可以是全长抗体或其抗原结合部分。本发明的抗体或抗体部分可用于检测hIL-12和抑制hIL-12活性，例如，在患有hIL-12活性有害的病症的人类受试者中。用于表达本发明的重组人抗体的核酸，载体和宿主细胞，以及合成重组人抗体的方法也包括在本发明中。

配列番号	抗体鎖	領域	配列
1	コンセンサス J695 to J695	CDR H3	(H/S) -G-S- (H/Y) -D- (N/T/Y)
2	コンセンサス	CDR L3	Q- (S/T) -Y- (D/E) - (S/R/K) - (S/G/Y) -