(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2011-509652
(P2011-509652A)
(43)公表日　平成23年3月31日(2011.3.31)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	2G045
C12N 15/113	(2010.01)	C12N	15/00	G	4B024
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4B064
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4B065
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4C084

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 98 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2010-541130 (P2010-541130)
(86)(22)出願日　平成21年1月7日 (2009.1.7)
(85)翻訳文提出日　平成22年8月19日 (2010.8.19)
(86)国際出願番号　PCT/IB2009/005004
(87)国際公開番号　WO2009/087577
(87)国際公開日　平成21年7月16日 (2009.7.16)
(31)優先権主張番号　61/019,502
(32)優先日　平成20年1月7日 (2008.1.7)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/023,345
(32)優先日　平成20年1月24日 (2008.1.24)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/084,814
(32)優先日　平成20年7月30日 (2008.7.30)
(33)優先権主張国　米国 (US)

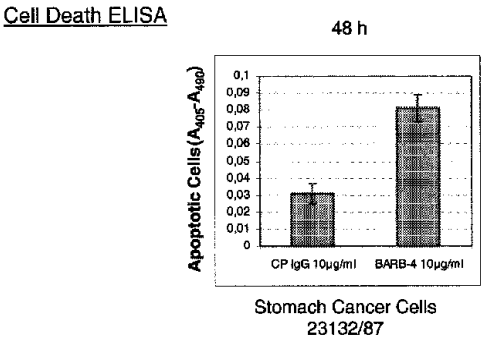
(71)出願人　507274087
パトリス・リミテッド
オーストラリア国ビクトリア　３０００，メルボルン，フリンダーズ・レイン　５１７，レベル　２
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(72)発明者　ヘンゼル，　フランク
ドイツ国　９７０７０　ヴュルツブルク，アム　エグゼルツァープラッツ　１

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５を含むＢＡＲＢ４標的、ＢＡＲＢ４と呼ばれる抗体、ＢＡＲＢ４関連抗体、ならびにそれらを作製および使用する方法

(57)【要約】
本発明はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５）に関する抗体、機能的フラグメント、修飾型及び変異体、抗体標的、核酸及び他の組成物を提供する。これらの抗体、機能的フラグメント、修飾型及び変異体、核酸及び他の組成物は治療、診断及びワクチン接種の方法において有用である。１つの治療方法は過剰増殖細胞のような増殖性の細胞の成長又は増殖を抑制すること、又は、細胞過剰増殖性障害の細胞のような過剰増殖性の細胞の後退を誘導することを包含する。

Figure 2



【特許請求の範囲】
【請求項１】
ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原への結合に関して、（ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示される）ＢＡＲＢ４抗体と競合する単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメント。
【請求項２】
腺癌細胞又は扁平上皮癌への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメント。
【請求項３】
胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道扁平上皮癌の１つ以上への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメント。
【請求項４】
胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する単離された抗体又はその機能的フラグメント。
【請求項５】
膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメント。
【請求項６】
ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示される未損傷のＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞に、又は抗原に結合する単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメント。
【請求項７】
前記抗体又は機能的フラグメントが、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する腺癌細胞又は扁平上皮癌に結合する、請求項６記載の単離又は精製された抗体又は機能的フラグメント。
【請求項８】
前記抗体又は機能的フラグメントが、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、食道扁平上皮癌の１つ以上に結合する、請求項６記載の単離又は精製された抗体又は機能的フラグメント。
【請求項９】
前記抗体又は機能的フラグメントが、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２

８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣のヒト腺癌、扁平上皮癌、カルチノイド癌腫、侵襲性腺管癌、生殖細胞癌腫に結合する、請求項６記載の単離又は精製された抗体又は機能的フラグメント。

【請求項１０】

前記抗体又は機能的フラグメントが、未損傷のＢＡＲＢ４抗体が結合する膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）に結合する、請求項６記載の単離又は精製された抗体又は機能的フラグメント。

【請求項１１】

配列番号１及び９に示す重鎖又は軽鎖の配列の可変領域に約６０％以上の同一性を有する重鎖又は軽鎖可変領域配列を含む単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメント。

【請求項１２】

前記抗体又は機能的フラグメントが配列番号１、３、５又は７に示す重鎖可変領域配列に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％以上同一である重鎖を含み、そして配列番号９に示す軽鎖可変領域配列に少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％以上同一である軽鎖配列を含む、請求項１１記載の単離又は精製された抗体又は機能的フラグメント。

【請求項１３】

配列番号１、３、５又は７に示す重鎖可変領域配列におけるＣＤＲ１つ以上に少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、９５％～１００％同一である重鎖又は軽鎖の可変領域配列、又は配列番号９に示す軽鎖可変領域配列におけるＣＤＲ１つ以上に少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、９５％～１００％同一である配列を含む、単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメント。

【請求項１４】

ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体のアミノ酸の付加、欠失又は置換の１つ以上を有する重鎖又は軽鎖の可変領域配列を含む単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメントであって、該抗体又は機能的フラグメントが、胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道扁平上皮癌、胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫、又は、膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）の１つ以上に結合する、単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメント。

【請求項１５】

配列番号１、３、５又は７、及び２に示す各々の重鎖及び軽鎖の可変領域配列における１、２又は３つのＣＤＲと１００％同一性を有する重鎖及び軽鎖の配列を含む、単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメント。

【請求項１６】

前記抗体又は機能的フラグメントが、胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道扁平上皮癌、胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫、又は、膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）の１つ以上の増殖を阻害又は低減、又はそのアポトーシスを刺激又は誘導する、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。

【請求項１７】
前記抗体がポリクローナル又はモノクローナルである、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。
【請求項１８】
前記抗体がＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥ及びＩｇＤから選択される、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。
【請求項１９】
前記ＩｇＧがＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４である、請求項１８記載の抗体又は機能的フラグメント。
【請求項２０】
前記抗体又は機能的フラグメントが、新生物、癌、腫瘍又は転移性の細胞への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合親和性の約１～５０００倍の範囲内の結合親和性を有する、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。
【請求項２１】
前記抗体又は機能的フラグメントが、腺癌細胞又は扁平上皮癌、胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道扁平上皮癌への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合親和性の約１～５０００倍の範囲内の結合親和性を有する、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。
【請求項２２】
前記抗体又は機能的フラグメントが、胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合親和性の約１～５０００倍の範囲内の結合親和性を有する、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。
【請求項２３】
前記抗体又は機能的フラグメントが、膵臓癌ＢＸＰＣ－３細胞、結腸癌ＨＴ－２９細胞又は胃癌２３１３２／８７細胞への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合親和性の約１～５０００倍の範囲内の結合親和性を有する、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。
【請求項２４】
前記抗体又は機能的フラグメントが新生物、癌、腫瘍又は転移性の細胞への結合に関して約ＫＤ１０$^{-5}$Ｍ～約ＫＤ１０$^{-13}$Ｍの範囲内の結合親和性を有する、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。
【請求項２５】
前記抗体又は機能的フラグメントが腺癌細胞又は扁平上皮癌、例えば胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道扁平上皮癌への結合に関して約ＫＤ１０$^{-5}$Ｍ～約ＫＤ１０$^{-13}$Ｍの範囲内の結合親和性を有する、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。
【請求項２６】
前記抗体又は機能的フラグメントが胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫への結合に関して約ＫＤ１０$^{-5}$Ｍ～約ＫＤ１０$^{-13}$Ｍの範囲内の結合親和性を有する、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。
【請求項２７】

前記抗体又は機能的フラグメントが膵臓癌ＢＸＰＣ－３細胞、結腸癌ＨＴ－２９細胞又は胃癌２３１３２／８７細胞への結合に関して約ＫＤ１０$^{-5}$Ｍ～約ＫＤ１０$^{-13}$Ｍの範囲内の結合親和性を有する、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。

【請求項２８】

前記機能的フラグメントがＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、Ｆｄ、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、ジスルフィド連結Ｆｖｓ（ｓｄＦｖ）、V_L及びV_Hドメインフラグメント、三重特異性（Ｆａｂ$_3$）、二重特異性（Ｆａｂ$_2$）、ダイアボディー（（V_L-V_H）$_2$又は（V_H-V_L）$_2$）、トリアボディー（３価）、テトラボディー（４価）、ミニボディー（（ｓｃＦＶ－C_H3）$_2$）、二重特異性単鎖Ｆｖ（Ｂｉｓ－ｓｃＦｖ）、ＩｇＧデルタＣＨ２、ｓｃＦｖ－Ｆｃ及び（ｓｃＦｖ）$_2$－Ｆｃから選択される、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。

【請求項２９】

異種ドメインを更に含む、請求項１～１５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。

【請求項３０】

前記異種ドメインが検出可能な標識、タグ又は細胞毒性剤を含む、請求項２９記載の抗体又は機能的フラグメント。

【請求項３１】

前記検出可能な標識又はタグが酵素；酵素基質；リガンド；受容体；放射性核種；Ｔ７－、Ｈｉｓ－、ｍｙｃ－、ＨＡ－又はＦＬＡＧ－タグ；高電子密度試薬；エネルギー転移分子；常磁性標識；フルオロフォア；発色団；化学発光剤；及び生物発光剤を含む、請求項３０記載の抗体又は機能的フラグメント。

【請求項３２】

前記細胞又は細胞系統が細胞膜結合ＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）を発現するか、又は前記抗原が細胞膜結合ＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）を含む、請求項１～１０及び１４の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント。

【請求項３３】

前記ＴＡＦ１５ポリペプチドが細胞膜結合ＴＡＦ１５ポリペプチドのアイソフォームを含むか、又は炭水化物部分を含む、請求項３２記載の抗体又は機能的フラグメント。

【請求項３４】

前記抗体又は機能的フラグメントが、ＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）への結合に関して、ＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列で示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する、請求項１１又は１５記載の抗体又は機能的フラグメント。

【請求項３５】

配列番号１、３、５、７又は９を含む重鎖又は軽鎖の配列。

【請求項３６】

請求項１～１６の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメントあるいは配列番号１、３、５、７又は９の重鎖又は軽鎖の配列を発現する宿主細胞。

【請求項３７】

請求項１～１６の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメントあるいは配列番号１、３、５、７又は９の重鎖又は軽鎖の配列をコードする核酸配列。

【請求項３８】

配列番号１、３、５、７又は９をコードする核酸配列に７５～１００％相補又は同一である核酸配列。

【請求項３９】

配列番号１、３、５又は７又はその部分をコードする核酸に特異的にハイブリダイズするか、又は配列番号９又はその部分をコードする核酸に特異的にハイブリダイズする、核酸

配列。
【請求項４０】
前記核酸配列が約１０～２０、２０～３０、３０～５０、５０～１００、１００～１５０、１５０～２００、２００～２５０、２５０～３００、３００～４００、４００～５００、又は５００～１０００ヌクレオチドの長さを有する、請求項３７～３９の何れか一項に記載の核酸配列。
【請求項４１】
配列番号１、３、５、７、１１又は１２をコードする核酸に特異的にハイブリダイズし、そして配列番号１、３、５、７、９、１１又は１２の発現を低減するアンチセンスポリヌクレオチド、小型干渉ＲＮＡ、又はリボザイム核酸。
【請求項４２】
前記ポリヌクレオチドが約１０～２０、２０～３０、３０～５０、５０～１００、１００～１５０、１５０～２００、２００～２５０、２５０～３００、３００～４００、４００～５００、５００～１０００、１０００～２０００ヌクレオチドの長さを有し、そして配列番号１、３、５又は７をコードする核酸配列に少なくとも９０％相補的又は相同である、請求項４１記載のアンチセンスポリヌクレオチド。
【請求項４３】
発現制御配列を更に含む、請求項３７～４２の何れか一項に記載の核酸又はアンチセンスポリヌクレオチド。
【請求項４４】
請求項３７～４２の何れか一項に記載の核酸又はアンチセンスポリヌクレオチドを含むベクター。
【請求項４５】
前記ベクターがウィルス、細菌、カビ又は哺乳類のベクターを含む、請求項４４記載のベクター。
【請求項４６】
請求項３７～４２の何れか一項に記載の核酸又はベクターで形質転換した宿主細胞。
【請求項４７】
前記宿主細胞が真核生物である、請求項４６記載の宿主細胞。
【請求項４８】
前記細胞が請求項３７～４２の何れか一項に記載の核酸又はベクター又はアンチセンスポリヌクレオチドにより安定に、又は一過性に形質転換されている、請求項４６記載の宿主細胞。
【請求項４９】
請求項１～１６の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、又は配列番号１、３、５、７又は９の重鎖又は軽鎖の配列及び製薬上許容しうる担体又は賦形剤を含む医薬組成物。
【請求項５０】
請求項１～１６の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、又は配列番号１、３、５、７又は９の重鎖又は軽鎖の配列を含むキット。
【請求項５１】
前記抗体又は機能的フラグメントで治療可能な状態を治療するための説明書を更に含む、請求項５０記載のキット。
【請求項５２】
前記説明書が望ましくない細胞の増殖又は過剰増殖を治療することに関する、請求項５１記載のキット。
【請求項５３】
前記説明書が新生物、腫瘍、癌又は転移を治療することに関する、請求項５１記載のキット。
【請求項５４】

抗細胞増殖又は免疫増強の治療又は療法薬を更に含む、請求項５０記載のキット。
【請求項５５】
抗新生物、抗癌、抗腫瘍又は抗転移剤を更に含む、請求項５０記載のキット。
【請求項５６】
前記説明書がラベル又は添付文書上にある、請求項５１記載のキット。
【請求項５７】
製造物品を更に含む、請求項５０のいずれか一項に記載のキット。
【請求項５８】
前記製造物品が抗体、抗細胞増殖又は免疫増強の治療又は療法を対象内に局所的、局部的又は全身的に送達するためのものである、請求項５７記載のキット。
【請求項５９】
単離又は精製された抗原であって、該抗原がＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）と同一のアミノ酸配列を含み、そして該ＴＡＦ１５ポリペプチドが細胞膜結合アイソフォームである、単離又は精製された抗原。
【請求項６０】
前記抗原が腫瘍又は癌の細胞により発現される、請求項５９記載の単離又は精製された抗原。
【請求項６１】
前記腫瘍又は癌の細胞が膵臓の癌又は腫瘍の細胞、結腸の癌又は腫瘍の細胞、又は胃の癌又は腫瘍の細胞である、請求項６０記載の単離又は精製された抗原。
【請求項６２】
前記腫瘍又は癌の細胞がＢＸＰＣ－３細胞、ＨＴ－２９細胞、２３１３２／８７細胞、ＰＣ－３細胞、Ａ５４９細胞、ＨＣＴ－１１６細胞、又はＰＡＮＣ－１細胞を含む、請求項５９記載の単離又は精製された抗原。
【請求項６３】
ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が前記抗原に結合する、請求項５９記載の単離又は精製された抗原。
【請求項６４】
細胞膜結合アイソフォームである、単離又は精製されたＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）。
【請求項６５】
炭水化物部分を含む、単離又は精製されたＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）。
【請求項６６】
前記炭水化物部分がＮ連結炭水化物部分又はＯ連結炭水化物部分である、請求項６６記載の単離又は精製されたＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）。
【請求項６７】
前記抗原又はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）がドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）により測定した場合に約７０～８５ｋＤａの分子量を有する、請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の単離又は精製された抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチド。
【請求項６８】
前記抗原又はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）が配列番号１１又は１２の配列に同一の配列を有する、請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の単離又は精製された抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチド。
【請求項６９】
前記抗原又はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）が、配列番号１１又は１２に示す１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００以上の近接アミノ酸に同一の配列、又は、配列番号１１又は１２の完全長よりは短い配列と

同一な配列を有する、請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の単離又は精製された抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチド。
【請求項７０】
前記抗原又はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）が、該ＴＡＦ１５ポリペプチドをコードする遺伝子の、又はその内部への染色体転座に起因する融合蛋白を含む、請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の単離又は精製された抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチド。
【請求項７１】
前記抗原又はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）が、該ＴＡＦ１５ポリペプチドをコードする遺伝子の、又はその内部への染色体転座に起因する融合蛋白ではない、請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の単離又は精製された抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチド。
【請求項７２】
前記抗原又はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）が、核受容体ＮＯＲ１に融合したＴＡＦ１５の染色体転座に起因する融合蛋白ではない、請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の単離又は精製された抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチド。
【請求項７３】
前記抗原又はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）が、哺乳類型である、請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の単離又は精製された抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチド。
【請求項７４】
前記抗原又はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）が、ヒト型である、請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の単離又は精製された抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチド。
【請求項７５】
請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の抗原又はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）に結合する単離又は精製された抗体又はそのサブ配列。
【請求項７６】
Ｎ－グリコシダーゼ処理後の前記抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチドへの前記抗体又はそのサブ配列の結合が未処理の該抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチドへの該抗体又はそのサブ配列の結合と比較して低減されている、請求項７５記載の抗体又はそのサブ配列。
【請求項７７】
ＴＡＦ１５のアンチセンス核酸によるトランスフェクションの後の細胞上で発現される前記抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチドへの前記抗体又はそのサブ配列の結合が、該アンチセンス核酸でトランスフェクトしていない細胞上で発現される該抗原又はＴＡＦ１５ポリペプチドへの該抗体又はそのサブ配列の結合と比較して低減されている、請求項７５記載の抗体又はそのサブ配列。
【請求項７８】
前記抗体又はそのサブ配列が、前記ＴＡＦ１５ポリペプチドへの結合に関してＢＡＲＢ４抗体（ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示される）と競合する、請求項７５記載の抗体又はそのサブ配列。
【請求項７９】
前記抗体又はそのサブ配列が哺乳類型抗体である、請求項７５記載の抗体又はそのサブ配列。
【請求項８０】
前記抗体又はそのサブ配列がヒト型又はヒト化抗体である、請求項７５記載の抗体又はそのサブ配列。
【請求項８１】

前記抗体が、非腫瘍又は非癌の細胞において発現されるＴＡＦ１５ポリペプチドに対する結合親和性よりも高値の、腫瘍又は癌の細胞により発現されるＴＡＦ１５ポリペプチドに対する結合親和性を有する、請求項７５記載の抗体又はそのサブ配列。
【請求項８２】
前記抗体が細胞膜結合型ではないか、又は細胞内型であるＴＡＦ１５ポリペプチドに対する結合親和性よりも高値の、細胞膜結合型のＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォームに対する結合親和性を有する、請求項７５記載の抗体又はそのサブ配列。
【請求項８３】
前記抗体が炭水化物部分を欠いたＴＡＦ１５ポリペプチドに対する結合親和性よりも高値の、炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチドに対する結合親和性を有する、請求項７５記載の抗体又はそのサブ配列。
【請求項８４】
前記炭水化物部分がＮ－連結炭水化物又はＯ－連結炭水化物である、請求項８３記載の抗体又はそのサブ配列。
【請求項８５】
治療を必要とする対象における細胞過剰増殖性障害を治療するための方法であって、該方法は、該対象において該細胞過剰増殖性障害を治療するのに有効な量の請求項１～１５又は７５の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、あるいは請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の抗原を、該対象に投与することを含む、方法。
【請求項８６】
前記細胞過剰増殖性障害が、脳、頭頚部、乳房、食道、口腔、鼻咽頭、鼻又は副鼻腔、胃、十二指腸、回腸、空腸、肺、肝臓、膵臓、腎臓、副腎、甲状腺、膀胱、結腸、直腸、前立腺、子宮、子宮頚部、卵巣、骨髄、リンパ、血液、骨、精巣、皮膚又は筋肉、又は造血系を冒しているか、又は少なくとも部分的にそこに存在する、請求項８５記載の方法。
【請求項８７】
前記細胞過剰増殖性障害が新生物、腫瘍又は癌を含む、請求項８５記載の方法。
【請求項８８】
前記新生物、腫瘍又は癌が転移型又は非転移型である、請求項８７記載の方法。
【請求項８９】
前記新生物、腫瘍又は癌が、乳房、肺、甲状腺、頭頚部、鼻咽頭、鼻又は副鼻腔、脳、脊髄、副腎、甲状腺、リンパ、胃腸管、口腔、食道、胃、十二指腸、回腸、空腸、小腸、結腸、直腸、泌尿生殖器、子宮、卵巣、子宮頚部、膀胱、睾丸、陰茎、前立腺、腎臓、膵臓、副腎、肝臓、骨、骨髄、リンパ、血液、筋肉又は皮膚を冒しているか、又は少なくとも部分的にそこに存在する、請求項８７記載の方法。
【請求項９０】
前記新生物、腫瘍又は癌が造血系である、請求項８７記載の方法。
【請求項９１】
前記新生物、腫瘍又は癌が肉腫、癌腫、腺癌、黒色腫、骨髄腫、芽腫、神経膠腫、リンパ腫又は白血病である、請求項８７記載の方法。
【請求項９２】
前記新生物、腫瘍又は癌が、肺の腺癌、肺の癌腫、びまん性又は間質性の胃の癌腫、結腸の腺癌、前立腺の腺癌、食道の癌腫、乳房の癌腫、膵臓の腺癌、卵巣の腺癌、又は子宮の腺癌を含む、請求項８７記載の方法。
【請求項９３】
前記新生物、腫瘍又は癌がＩ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ又はＶ期の転移性又は非転移性の腫瘍又は癌を含む、請求項８７記載の方法。
【請求項９４】
前記新生物、腫瘍又は癌が進行性に悪化する、請求項８７記載の方法。
【請求項９５】
前記新生物、腫瘍又は癌が寛解期にある、請求項８７記載の方法。

【請求項９６】
前記新生物、腫瘍又は癌が固形又は液状である、請求項８７記載の方法。
【請求項９７】
前記抗体が前記対象に局所的、局部的、又は全身に投与される、請求項８５記載の方法。
【請求項９８】
前記治療が前記細胞過剰増殖性障害、又は前記新生物、腫瘍又は癌に関連する１つ以上の有害な身体的症状の軽減又は緩解をもたらす、請求項８５記載の方法。
【請求項９９】
前記治療が新生物、腫瘍又は癌の容量を低減又は低下させるか、新生物、腫瘍又は癌の容量の増加を抑制又は防止するか、新生物、腫瘍又は癌の進行又は悪化を抑制するか、新生物、腫瘍又は癌の細胞溶解又はアポトーシスを刺激するか、又は新生物、腫瘍又は癌の増殖又は転移を抑制、低減又は低下させる、請求項８７記載の方法。
【請求項１００】
前記治療が前記対象の寿命を長期化又は延長する、請求項８５記載の方法。
【請求項１０１】
前記治療が前記対象のクオリティオブライフを改善する、請求項８５記載の方法。
【請求項１０２】
前記対象が抗新生物、抗腫瘍、抗癌又は免疫増強の治療又は療法の候補であるか、それを受けているか、又は受けたことがある、請求項８５記載の方法。
【請求項１０３】
抗細胞増殖又は免疫増強の治療又は療法を前記対象に施すことを更に含む、請求項８５記載の方法。
【請求項１０４】
前記治療又は療法が外科的切除、放射線療法、放射線照射療法、化学療法、免疫療法、又は温熱療法を包含する、請求項１０３記載の方法。
【請求項１０５】
前記抗細胞増殖の治療又は療法がアルキル化剤、代謝拮抗剤、植物抽出物、植物性アルカロイド、ニトロソ尿素、ホルモン、ヌクレオシド又はヌクレオチドアナログを含む、請求項１０３記載の方法。
【請求項１０６】
前記抗細胞増殖の治療又は療法がシクロホスファミド、アザチオプリン、シクロスポリンＡ、プレドニソロン、メルファラン、クロラムブシル、メクロレタミン、ブスルファン、メトトレキセート、６－メルカプトプリン、チオグアニン、５－フルオロウラシル、シトシンアラビノシド、ＡＺＴ、５－アザシチジン（５－ＡＺＣ）及び５－アザシチジン関連化合物、ブレオマイシン、アクチノマイシンＤ、ミトラマイシン、マイトマイシンＣ、カルムスチン、ロムスチン、セムスチン、ストレプトゾトシン、ヒドロキシ尿素、シスプラチン、ミトタン、プロカルバジン、ダカルバジン、タキソール、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ドキソルビシン及びジブロモマンニトールから選択される、請求項１０３記載の方法。
【請求項１０７】
前記免疫増強の治療又は療法がリンパ球、プラズマ細胞、マクロファージ、樹状細胞、ＮＫ細胞又はＢ細胞を含む、請求項１０３記載の方法。
【請求項１０８】
前記免疫増強の治療又は療法が抗体、細胞成長因子、細胞生存因子、細胞分化因子、サイトカイン又はケモカインを含む、請求項１０３記載の方法。
【請求項１０９】
前記免疫増強の治療又は療法がＩＬ－２、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＩＬ－３、ＩＬ－６、ＩＬ－７、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭＣＳＦ）、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１２、ＴＮＦ－α、ＴＮＦβ、ＭＩＰ－１α、ＭＩＰ－１β、ＲＡＮＴＥＳ、ＳＤＦ－１、ＭＣＰ－１、ＭＣＰ－２、ＭＣＰ－３、ＭＣＰ－４、エオタキシン、エオタキシン－

２、Ｉ－３０９／ＴＣＡ３、ＡＴＡＣ、ＨＣＣ－１、ＨＣＣ－２、ＨＣＣ－３、ＬＡＲＣ／ＭＩＰ－３α、ＰＡＲＣ、ＴＡＲＣ、ＣＫβ、ＣＫβ６、ＣＫβ７、ＣＫβ８、ＣＫβ９、ＣＫβ１１、ＣＫβ１２、Ｃ１０、ＩＬ－８、ＧＲＯα、ＧＲＯβ、ＥＮＡ－７８、ＧＣＰ－２、ＰＢＰ／ＣＴＡＰＩＩＩβ－ＴＧ／ＮＡＰ－２、Ｍｉｇ、ＰＢＳＦ／ＳＤＦ－１及びリンホタクチンから選択される、請求項１０３記載の方法。

【請求項１１０】

前記抗体又は機能的フラグメントが前記抗細胞増殖又は免疫増強の治療又は療法の投与の前、それと実質的に同時、又はその後に投与される、請求項８５記載の方法。

【請求項１１１】

前記対象が哺乳類である、請求項８５記載の方法。

【請求項１１２】

前記哺乳類がヒトである、請求項１１１記載の方法。

【請求項１１３】

前記対象が細胞過剰増殖性障害のための治療又は療法を受けているか、又は受けたことがある、請求項８５記載の方法。

【請求項１１４】

治療を必要とする対象において新生物、腫瘍又は癌の転移を治療するための方法であって、該方法は、該対象における該新生物、腫瘍又は癌の転移を治療するのに有効な量の、請求項１～１５又は８７の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、あるいは請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の抗原を該対象に投与することを含む、方法。

【請求項１１５】

１つ以上の部位における転移性の新生物、腫瘍又は癌の形成又は確立を低減又は抑制するための方法であって、対象における１つ以上の他の部位における転移性の新生物、腫瘍又は癌の形成又は確立を低減又は抑制するために有効な量の、請求項１～１５又は８７の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、あるいは請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の抗原を該対象に投与することを含む、方法。

【請求項１１６】

治療を必要とする対象において原発性の新生物、腫瘍又は癌とは区別される１つ以上の部位、位置又は領域への原発性の新生物、腫瘍又は癌の転移を低減又は抑制するための方法であって、該治療が必要な対象における、該原発性の新生物、腫瘍又は癌とは区別される１つ以上の部位、位置又は領域への該原発性の新生物、腫瘍又は癌の転移を低減又は抑制するために有効な量の、請求項１～１５又は８７の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、あるいは請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の抗原を該対象に投与することを含む、方法。

【請求項１１７】

治療を必要とする対象において新生物、腫瘍又は癌から生じる転移の形成又は確立を低減又は抑制するための方法であって、該方法は、該対象における、新生物、腫瘍又は癌から生じる転移の形成又は確立を低減又は抑制するために有効な量の、請求項１～１５又は８７の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、あるいは請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の抗原を該対象に投与することを含む、方法。

【請求項１１８】

治療を必要とする対象において転移に発展し得るか、転移を生じさせ得る新生物、腫瘍又は癌の細胞の成長、増殖、運動性又は侵襲性を低減又は抑制するための方法であって、該方法は、該転移に発展し得るか、転移を生じさせ得る新生物、腫瘍又は癌の細胞の成長、増殖、運動性又は侵襲性を低減又は抑制するのに有効な量の、請求項１～１５又は８７の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、あるいは請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の抗原を該対象に投与することを含む、方法。

【請求項１１９】

治療が必要な対象において、新生物、腫瘍又は癌の回帰、又は新生物、腫瘍又は癌の進行

を低減又は抑制するための方法であって、該方法は、該対象における新生物、腫瘍又は癌の回帰、又は新生物、腫瘍又は癌の進行を低減又は抑制するのに有効な量の、請求項１～１５又は８７の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、あるいは請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の抗原を該対象に投与することを含む、方法。

【請求項１２０】

対象において転移が形成又は確立された後に該転移の成長又は増殖を低減又は抑制するための方法であって、該方法は、該対象における該転移が形成又は確立された後に該転移の成長又は増殖を低減又は抑制するのに有効な量の、請求項１～１５又は８７の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、あるいは請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の抗原を該対象に投与することを含む、方法。

【請求項１２１】

対象において転移が形成又は確立された後に該対象におけるさらなる転移の形成又は確立を低減又は抑制するための方法であって、該方法は、該対象において転移が形成又は確立された後にさらなる転移の形成又は確立を低減又は抑制するのに有効な量の、請求項１～１５又は８７の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメント、あるいは請求項５９、６４、又は６５の何れか一項に記載の抗原を該対象に投与することを含む、方法。

【請求項１２２】

ＴＡＦ１５ポリペプチドとの配列同一性を有する抗原を検出又はスクリーニングする方法であって、該方法は：

ａ）生物学的物質又は試料と、請求項１～１６又は８７の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメントとを、ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する抗原への該抗体の結合を可能にする条件下で接触させる工程；ならびに、

ｂ）ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する該抗原への該抗体の結合をアッセイする工程であって、ここで該抗原への該抗体の結合はＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する該抗原の存在を検出する、工程；

を包含する、方法。

【請求項１２３】

ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する前記抗原が配列番号１１又は１２の配列と同一である配列を有する、請求項１２２記載の方法。

【請求項１２４】

ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する前記抗原が配列番号１１又は１２に示す１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００以上の近接アミノ酸と同一である配列を有する、請求項１２２記載の方法。

【請求項１２５】

ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する前記抗原が細胞膜結合型のＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォームである、請求項１２２記載の方法。

【請求項１２６】

ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する前記抗原が炭水化物部分を含む、請求項１２２記載の方法。

【請求項１２７】

前記生物学的物質又は試料を哺乳類対象から得る、請求項１２２記載の方法。

【請求項１２８】

前記抗体が、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体を含むか、又はこれとは異なる、請求項１２２記載の方法。

【請求項１２９】

新生物、腫瘍又は癌、又は転移を有するか、有する危険性が高い対象を診断する方法であって、該方法は：

ａ）該対象由来の生物学的物質又は試料と、請求項１～１６又は８７の何れか一項に記載の抗体又は機能的フラグメントとを、抗原への該抗体の結合を可能にする条件下で接触さ

せる工程；ならびに、
ｂ）該抗原への該抗体の結合に関してアッセイする工程であって、ここで、該抗原への該抗体の結合は、新生物、腫瘍又は癌、又は転移を有するか、有する危険性が高いものとして該対象を診断する、工程；
を包含する、方法。
【請求項１３０】
前記抗原がＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する、請求項１２９記載の方法。
【請求項１３１】
ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する前記抗原が配列番号１１又は１２の配列と同一である配列を有する、請求項１２９記載の方法。
【請求項１３２】
ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する前記抗原が配列番号１１又は１２に示す１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００以上の近接アミノ酸と同一である配列を有する、請求項１２９記載の方法。
【請求項１３３】
ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する前記抗原が細胞膜結合型のＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォームである、請求項１２９記載の方法。
【請求項１３４】
ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する前記抗原が炭水化物部分を含む、請求項１２９記載の方法。
【請求項１３５】
前記生物学的物質又は試料をヒトから得る、請求項１２９記載の方法。
【請求項１３６】
前記生物学的物質又は試料が生検試料を含む、請求項１２９記載の方法。
【請求項１３７】
前記生物学的物質又は試料が肺、膵臓、胃、乳房、食道、卵巣又は子宮の生検試料を含む、請求項１２９記載の方法。
【請求項１３８】
前記抗体がハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体を含むか、又はこれとは異なる、請求項１２９記載の方法。
【請求項１３９】
ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原に結合する抗体を生産する方法であって、該方法は：
ａ）ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原を投与された動物を、該細胞又は抗原に結合する抗体の発現に関して、スクリーニングする工程；
ｂ）該細胞又は抗原に結合する抗体を生産する動物を選択する工程；
ｃ）該選択された動物から該抗体を単離する工程；ならびに、
ｄ）該抗体が、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と、該細胞又は抗原への結合に関して、競合するか否かを決定する工程；
を包含する、方法。
【請求項１４０】
ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１、３、５又は７及び９で示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原に結合するヒトモノクローナル抗体を生産する方法であって、該方法は：

ａ）ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１、３、５又は７及び９で示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原に結合する抗体を生産するヒト免疫グロブリンを発現することができる非ヒト動物から脾細胞を単離する工程；
ｂ）該脾細胞を骨髄腫細胞と融合させてハイブリドーマを生産する工程；
ｃ）該細胞又は抗原に結合するヒトモノクローナル抗体の発現に関して該ハイブリドーマをスクリーニングする工程；ならびに
ｄ）該抗体が、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１、３、５又は７及び９で示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と、該細胞又は抗原への結合に関して、競合するか否かを決定する工程；
を包含する、方法。
【請求項１４１】
腫瘍又は癌の細胞により発現されるＴＡＦ１５ポリペプチドに結合する抗体を生産するための方法であって、該方法は：
ａ）腫瘍又は癌の細胞により発現されるＴＡＦ１５ポリペプチド又はそのサブ配列を投与された動物を、該ＴＡＦ１５ポリペプチド又はそのサブ配列に結合する抗体の生産に関してスクリーニングする工程；
ｂ）腫瘍又は癌の細胞により発現される該ＴＡＦ１５ポリペプチド又はそのサブ配列に結合する抗体を生産する動物を選択する工程；ならびに
ｃ）腫瘍又は癌により発現される該ＴＡＦ１５ポリペプチド細胞又はそのサブ配列に結合する該抗体を単離する工程；
を包含する、方法。
【請求項１４２】
細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォームに結合する抗体を生産するための方法であって、該方法は：
ａ）細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォーム又はそのサブ配列を投与された動物を、該細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォーム又はそのサブ配列に結合する抗体の生産についてスクリーニングする工程；
ｂ）該細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォーム又はそのサブ配列に結合する抗体を生産する動物を選択する工程；ならびに
ｃ）該細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォーム又はそのサブ配列に結合する該抗体を単離する工程；
を包含する、方法。
【請求項１４３】
ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に結合するＴＡＦ１５ポリペプチドに結合する抗体を生産するための方法であって、該方法は：
ａ）ＴＡＦ１５ポリペプチド又はそのサブ配列を投与された動物を、該ＴＡＦ１５ポリペプチドに結合する抗体の生産に関してスクリーニングする工程；
ｂ）該ＴＡＦ１５ポリペプチド又はそのサブ配列に結合する抗体を生産する動物を選択する工程；ならびに
ｃ）ＢＡＲＢ４抗体に結合する該ＴＡＦ１５ポリペプチド又はそのサブ配列に結合する該抗体を単離する工程；
を包含する、方法。
【請求項１４４】
炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチドに結合する抗体を生産するための方法であって、該方法は；
ａ）炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチド又はその炭水化物含有サブ配列を投与された動物を、炭水化物部分を含む該ＴＡＦ１５ポリペプチド又はその炭水化物含有サブ配

列に結合する抗体の生産に関してスクリーニングする工程；
ｂ）炭水化物部分を含む該ＴＡＦ１５ポリペプチド又はその炭水化物含有サブ配列に結合する抗体を生産する動物を選択する工程；ならびに
ｃ）炭水化物部分を含む該ＴＡＦ１５ポリペプチド又はその炭水化物含有サブ配列に結合する該抗体を単離する工程；
を包含する、方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
この出願は、２００８年１月７日に出願された出願第６１／０１９，５０２号、２００８年１月２４日に出願された出願第６１／０２３，３４５号、２００８年４月１０日に出願された出願第６１／０４３，９５０号、および２００８年７月３０日に出願された出願第６１／０８４，８１４号（これらの各々は、それらの全体が参考として援用される）への優先権を主張する。
【０００２】
発明の分野
本発明はＢＡＲＢ４として知られている抗体、及びＢＡＲＢ４標的と称される抗原に関する。ＢＡＲＢ４と称される抗体はＢＡＲＢ４標的に結合する。ＢＡＲＢ４標的はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子（ＴＡＴＡ－ｂｉｎｄｉｎｇ　ｐｒｏｔｅｉｎ－ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ　ｆａｃｔｏｒ）１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）と配列同一性を有する。ＢＡＲＢ４はＩｇＧであり、そして新生物、癌、腫瘍及び転移の種々の型に結合する。ＢＡＲＢ４は癌細胞の種々の型の成長を抑制し、そして癌細胞の種々の型のアポトーシスを刺激又は誘導する。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００３】
序論
新生物、腫瘍、癌及び転移を包含する細胞性の細胞過剰増殖性障害のような、望ましくない、又は異常な細胞の増殖を処置、スクリーニング及び診断する方法の必要性が存在している。本発明はこの必要性に着目し、そして関連する利益を提供する。
【課題を解決するための手段】
【０００４】
概要
本発明はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）と配列同一性を有するＢＡＲＢ４標的と称される単離及び精製された抗原及び抗原サブ配列を提供する。本発明は又、ＢＡＲＢ４標的と称される抗原に結合する単離及び精製された抗体及び機能的フラグメント（例えば２００７年１２月１９日に寄託されたハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１、３、５、７及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体）を提供する。
【０００５】
ＢＡＲＢ４標的と称される本発明の抗原は、例えば配列番号１１及び１２：
【０００６】

【化１】

1 msdsgsygqsggeqqsystygnpgsqgygqasqsysgygqttdssygqnysgyssygqsq
61 sgysqsyggyenqkqssysqqpynnqgqqqnmessgsqggrapsydqpdygqqdsydqqs
121
gydqhqgsydeqsnydqqhdsysqnqqsyhsqrenyshhtqddrrdvsrygednrgyggs
181
qgggrgrggydkdgrgpmtgssggdrggfknfgghrdygprtdadsesdnsdnntifvqg
241
lgegvstdqvgeffkqigiiktnkktgkpminlytdkdtgkpkgeatvsfddppsakaai
301
dwfdgkefhgniikvsfatrrpefmrgggsgggrrgrggyrgrggfqgrggdpksgdwvc
361
pnpscgnmnfarrnscnqcneprpedsrpsggdfrgrgyggergyrgrggrggdrggygg
421
drsgggyggdrssgggysgdrsgggyggdrsgggyggdrgggyggdrgggyggdrgggyg
481 gdrggyggdrgggyggdrggyggdrggyggdrggyggdrggyggdrsrgg
yggdrgggsg
541 yggdrsggyggdrsgggyggdrgggyggdrggyggkmggrndyrndqrnrpy

1 msdsgsygqsggeqqsystygnpgsqgygqasqsysgygqttdssygqnysgyssygqsy
61 sqsyggyenqkqssysqqpynnqgqqqnmessgsqggrapsydqpdygqqdsydqqsgyd
121
qhqgsydeqsnydqqhdsysqnqqsyhsqrenyshhtqddrrdvsrygednrgyggsqgg
181
grgrggydkdgrgpmtgssggdrggfknfgghrdygprtdadsesdnsdnntifvqglge
241
gvstdqvgeffkqigiiktnkktgkpminlytdkdtgkpkgeatvsfddppsakaaidwf
301
dgkefhgniikvsfatrrpefmrgggsgggrrgrggyrgrggfqgrggdpksgdwvcpnp
361
scgnmnfarrnscnqcneprpedsrpsggdfrgrgyggergyrgrggrggdrggyggdrs
421
gggyggdrssgggysgdrsgggyggdrsgggyggdrgggyggdrgggyggdrgggyggdr
481
ggyggdrgggyggdrggyggdrggyggdrggyggdrggyggdrsrggyggdrgggsgygg
541 drsggyggdrsgggyggdrgggyggdrggyggkmggrndyrndqrnrpy

に示すようなＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォーム１（ＮＰ＿６３１９６１）及び２（ＮＰ＿００３４７８０））と完全（１００％）又は部分的（例えば６０％、７０％、８０％、９０％、９５％以上）同一性を有するアミノ酸配列を包含する。

【０００７】

１つの実施形態において抗原又はそのサブ配列は配列番号１１又は１２に示すＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５と完全（１００％）又は部分的（例えば６０％、７０％、８０％、９０％、９５％以上）同一性を有するＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームである。別の実施形態においては、抗原（ＢＡＲＢ４標的）又はそのサブ配列は配列番号１１又は１２の１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００以上の近接アミノ酸に完全（１００％）又は部分的（例えば６０％、７０％、８０％、９０％、９５％以上）に同一である配列を有する。その他の実施形態において、抗原（ＢＡＲＢ４標的）又はそのサブ配列は炭水化物部分（例えばＮ連結炭水化物部分又はＯ連結炭水化物部分）を包含するか、又は腫瘍又は癌の細胞（例えば、膵臓の癌又は腫瘍の細胞、結腸の癌又は腫瘍の細胞、又は胃の癌又は腫瘍の細胞、例えばＢＸＰＣ－３細胞、ＨＴ－２９細胞又は２３１３２／８７細胞）により発現される。追加的実施形態において、抗原（ＢＡＲＢ４標的）又はそのサブ配列はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７及び９で示される

重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する抗原である。更に別の実施形態において、抗原（ＢＡＲＢ４標的）はドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）により測定した場合に約７０～８５ｋＤａの分子量を有する。追加的実施形態においては、抗原（ＢＡＲＢ４標的）はＴＡＦ１５ポリペプチドをコードする遺伝子の、又はその内部への染色体転座に起因する融合蛋白を包含する。更にその他の実施形態において、抗原（ＢＡＲＢ４標的）はＴＡＦ１５ポリペプチドをコードする遺伝子の、又はその内部への染色体転座に起因する融合蛋白ではない（例えば核受容体ＮＯＲ１に融合したＴＡＦ１５の染色体転座に起因する融合蛋白ではない）。特定の態様において、単離又は精製された抗原は哺乳類型（例えばヒト型）である。

【０００８】

本発明の抗体は例えば、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）に結合する抗体及び機能的フラグメントを包含する。１つの実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは未損傷のＢＡＲＢ４抗体（２００７年１２月１９日に寄託されたハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示される）が結合する細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）への結合に関して競合する。別の実施形態においては、抗体又は機能的フラグメントは、腺癌細胞又は扁平上皮癌、例えば胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道の扁平上皮癌への結合に関して、２００７年１２月１９日に寄託されたハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する。別の実施形態においては、抗体又は機能的フラグメントは、胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する。追加的実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは、膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する。

【０００９】

本発明の抗体及び機能的フラグメントは又、ＢＡＲＢ４抗体（ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示される）が結合する細胞又は抗原（ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）に結合する抗体及びその機能的フラグメントを包含する。１つの実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する腺癌細胞又は扁平上皮癌（例えば胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道の扁平上皮癌）に結合する。別の実施形態においては、抗体又は機能的フラグメントはハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫に結合する。追加的実施形態において、抗体又は機能的フラグメントはハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する膵

臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）に結合する。その他の実施形態において、抗体又はその機能的フラグメントは、ＴＡＦ１５ポリペプチド（例えば細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォーム、例えば配列番号１１又は１２）と完全（１００％）又は部分的（例えば６０％、７０％、８０％、９０％、９５％以上）な配列同一性を有する抗原のようなＢＡＲＢ４標的に結合する。

【００１０】

本発明の抗体及び機能的フラグメントは更に、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体により示される、又は配列番号１、３、５、７又は９に記載される、重鎖及び軽鎖配列の可変領域に約６０％以上（例えば６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％等）の同一性を有する重鎖又は軽鎖可変領域配列を包含する。１つの実施形態において、抗体又はそのサブ配列は配列番号１、３、５又は７として示す重鎖可変領域配列に少なくとも６０％以上同一である配列、及び／又は、配列番号９として示す軽鎖可変領域配列に少なくとも６０％以上（例えば６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％等）同一である配列を包含する。別の実施形態においては、抗体又はそのサブ配列は配列番号１、３、５又は７として示す重鎖可変領域配列におけるＣＤＲ１つ以上と少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、又は９５～１００％同一である配列、又は、配列番号９として示す軽鎖可変領域配列におけるＣＤＲ１つ以上と少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、又は９５～１００％同一である配列を包含する。

【００１１】

本発明の抗体及び機能的フラグメントは更に又、配列番号１、３、５、７；又は９のアミノ酸の付加、欠失又は置換１つ以上を有する単離及び精製された抗体及びその機能的フラグメントを包含する。特定の態様において、抗体又は機能的フラグメントは配列番号１、３、５又は７として示す重鎖可変領域配列に少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、又は９５～１００％同一である配列、又は、配列番号９として示す軽鎖可変領域配列に少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、又は９５～１００％同一である配列を包含する。別の態様において、抗体又は機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体により示される、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として記載される重鎖又は軽鎖配列の可変領域配列におけるＣＤＲ１つ以上に対して１００％同一性を有する重鎖又は軽鎖配列を有し、そしてハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体により示される、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として記載される重鎖又は軽鎖配列の可変領域配列におけるＣＤＲの外部の領域に１００％未満の同一性を有する。

【００１２】

本発明の抗体及び機能的フラグメントはさらに、抗原（ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又は細胞（例えば新生物、癌、腫瘍又は転移性細胞、例えば腺癌細胞又は扁平上皮癌、例えば胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道の扁平上皮癌）；又は胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣のヒト腺癌、扁平上皮癌、カルチノイド癌腫、侵襲性腺管癌、生殖細胞癌腫への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として記載される重鎖又は軽鎖配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合親和性の約１～５０００倍の範囲内の結合親和性を有する抗体及びその機能的フラグメントを包含する。その他の実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは、ＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームのようなＢＡＲＢ４標的への結合に関し、又は、膵臓癌細胞（例えばＢＸＰＣ－３細胞）、結腸癌細胞系統（例えばＨＴ－２９細胞）又は胃癌細胞（例えば２３１３２／８７細胞）への結合に関し、ＢＡＲＢ４抗体（ハイブリドーマＤＳ

ＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として記載される重鎖又は軽鎖配列により示される）の結合親和性の約１～５０００倍の範囲内の結合親和性を有する。更にその他の実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは、ＴＡＦ１５ポリペプチド（例えば配列番号１１又は１２）の細胞膜結合型アイソフォームのようなＢＡＲＢ４標的への結合に関し、又は上記した細胞又は細胞系統（例えば腺癌細胞、扁平上皮癌、胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、食道の扁平上皮癌等）の１つ以上への結合に関し、約ＫＤ１０$^{-5}$Ｍ～約ＫＤ１０$^{-13}$Ｍの範囲内の結合親和性を有する。

【００１３】

本発明はさらに、細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォームを発現する細胞又は細胞系統に結合する抗体及びその機能的フラグメント、並びに、細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォーム抗原に結合する抗体及びその機能的フラグメントを提供する。更に提供される抗体及びその機能的フラグメントは、細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォームのようなＴＡＦ１５ポリペプチド（例えば配列番号１１又は１２）への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８５９又は配列番号１及び２として記載される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合するものを包含する。

【００１４】

本発明の抗体はＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥ及びＩｇＤを包含する。種々の態様において、ＩｇＧはＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４である。

【００１５】

本発明の抗体及び機能的フラグメントは更に、細胞の増殖を抑制又は低減する、又はアポトーシスを刺激又は誘導するものを包含する。特定の実施形態においては、抗体及び機能的フラグメントは胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道の扁平上皮癌、胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫、又は膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）の１つ以上の増殖を抑制又は低減するか、アポトーシスを刺激又は誘導する。

【００１６】

本発明の抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）はその機能的フラグメント及びサブ配列を包含する。１つの実施形態において、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）の機能的フラグメントは炭水化物部分、例えばＮ－又はＯ－連結部分を含む。別の実施形態においては、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）の機能的フラグメントはＢＡＲＢ４抗体（ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として記載される重鎖又は軽鎖配列により示される）が結合するエピトープを包含する。

【００１７】

本発明の抗体はその機能的フラグメント及びサブ配列を包含する。１つの実施形態において、ＢＡＲＢ４抗体（ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として記載される重鎖又は軽鎖配列により示される）のような抗体の機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として記載される重鎖又は軽鎖配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と、細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合に関して競合するか、又は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；

及び９として記載される重鎖又は軽鎖配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への少なくとも部分的な結合を保持している。

【００１８】

特定の態様において、抗体の機能的フラグメント又はサブ配列は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、Ｆｄ、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、ジスルフィド連結Ｆｖｓ（ｓｄＦｖ）、$Ｖ_L$及び$Ｖ_H$、三重特異性（$Ｆａｂ_3$）、二重特異性（$Ｆａｂ_2$）、ダイアボディー（$（Ｖ_L－Ｖ_H）_2$又は$（Ｖ_H－Ｖ_L）_2$）、トリアボディー（３価）、テトラボディー（４価）、ミニボディー（$（ｓｃＦＶ－Ｃ_H３）_2$）、二重特異性単鎖Ｆｖ（Ｂｉｓ－ｓｃＦｖ）、ＩｇＧデルタ$Ｃ_H$２、ｓｃＦｖ－Ｆｃ又は$（ｓｃＦｖ）_2$－Ｆｃである。追加的態様において、完全長抗体の機能的フラグメント又はサブ配列（例えば重鎖又は軽鎖、又は重鎖又は軽鎖の可変領域）、又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）は２０～３０、３０～５０、５０～１００、１００～１５０、１５０～２００、２００～２５０、２５０～３００、３００～４００、４００～５００アミノ酸残基長を有する。

【００１９】

本発明は又、異種ドメインを包含する抗体、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）及びそのサブ配列を提供する。１つの実施形態において異種ドメインは検出可能な標識、タグ又は細胞毒性剤を包含する。特定の態様において、検出可能な標識又はタグは、酵素、酵素基質、リガンド、受容体、放射性核種、Ｔ７－、Ｈｉｓ－、ｍｙｃ－、ＨＡ－又はＦＬＡＧ－タグ、高電子密度試薬、エネルギー転移分子、常磁性標識、フルオロフォア、発色団、化学発光剤（ｃｈｅｍｉ－ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ　ａｇｅｎｔ）又は生物発光剤（ｂｉｏ－ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ　ａｇｅｎｔ）である。

【００２０】

本発明は更に、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）、抗体及びその機能的フラグメントをコードする核酸配列を提供する。１つの実施形態において、核酸配列はＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームのようなＢＡＲＢ４標的をコードする核酸配列と少なくとも７５～１００％相補又は同一である。別の実施形態においては、核酸配列はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の重鎖又は軽鎖の可変領域配列又はそのサブ配列をコードする核酸配列に少なくとも７５～１００％相補又は同一である。その他の実施形態において、核酸は、ＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームのようなＢＡＲＢ４標的のサブ配列をコードする。更にその他の実施形態において、核酸はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９の配列をコードする。特定の態様において、核酸配列は約１０～２０、２０～３０、３０～５０、５０～１００、１００～１５０、１５０～２００、２００～２５０、２５０～３００、３００～４００、４００～５００、又は５００～１０００ヌクレオチドの長さを有する。さらなる態様において、核酸配列はＴＡＦ１５ポリペプチド（例えば配列番号１１又は１２）の細胞膜結合型アイソフォームのようなＢＡＲＢ４標的をコードする核酸に特異的にハイブリダイズする。別の態様において、核酸配列は、配列番号１、３、５又は７又はそのサブ配列をコードする核酸に特異的にハイブリダイズするか、又は配列番号９又はそのサブ配列をコードする核酸配列に相補である核酸配列に特異的にハイブリダイズする。別の態様において、核酸はＴＡＦ１５ポリペプチド（例えば配列番号１１又は１２）の細胞膜結合型アイソフォームのようなＢＡＲＢ４標的をコードする核酸、又は配列番号１、３、５、７又は９をコードする核酸のような核酸配列に特異的にハイブリダイズするアンチセンスポリヌクレオチド、小型干渉ＲＮＡ、又はリボザイム核酸である。アンチセンスポリヌクレオチド、小型干渉ＲＮＡ、及びリボザイムポリヌクレオチドは約１０～２０、２０～３０、３０～５０、５０～１００、１００～１５０、１５０～２００、２００～２５０、２５０～

３００、３００～４００、４００～５００、５００～１０００、１０００～２０００ヌクレオチドの長さを有することができ、そして、ＴＡＦ１５ポリペプチド（例えば配列番号１１又は１２）の細胞膜結合型アイソフォームのようなＢＡＲＢ４標的をコードする、又は配列番号１、３、５、７又は９をコードする核酸配列又は何れかのそのサブ配列に少なくとも９０％相補又は同一であることができる。更にその別の態様において、核酸配列は発現制御配列又はベクター（例えばウィルス、細菌、カビ又は哺乳類のベクター）を包含できる。

【００２１】

本発明はさらにＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームのような抗原（ＢＡＲＢ４標的）を発現する単離及び精製された細胞並びに形質転換された宿主細胞、又は配列番号１、３、５、又は７に記載される、重鎖及び軽鎖配列の可変領域に少なくとも６０％以上（例えば６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％等）同一である配列を包含する抗体又はそのサブ配列、又は配列番号９に示すか、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の軽鎖可変領域配列に少なくとも６０％以上（例えば６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％等）同一である配列及びそのサブ配列を提供する。そのような細胞は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）、抗体又はそのサブ配列を安定に、又は一過性に発現できる、又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）、抗体又はそのサブ配列をコードする核酸又はベクターで安定に、又は一過性に形質転換され得る、真核生物及び非真核生物の細胞を包含する。

【００２２】

本発明は更にキットを提供する。種々の実施形態において、キットは、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）への、又は細胞（例えば新生物、癌、腫瘍又は転移性細胞）への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）又は抗体又はその機能的フラグメントを包含する。特定の態様において、キットは、腺癌細胞又は扁平上皮癌、例えば胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道の扁平上皮癌への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）又は抗体又はその機能的フラグメントを包含する。さらなる実施形態において、キットは膵臓癌細胞（例えばＢＸＰＣ－３細胞）、結腸癌細胞（例えばＨＴ－２９細胞）又は胃癌細胞（例えば２３１３２／８７細胞）への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する、抗体又はその機能的フラグメントを包含する。

【００２３】

本発明のキットは又、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）、又は細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）に結合する抗体又は機能的フラグメントを包含する。１つの実施形態において、キットはＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームのようなＢＡＲＢ４標的に結合する抗体又は機能的フラグメントを包含する。別の実施形態においては、キットは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する腺癌細胞又は扁平上皮癌、例えばハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列によ

り示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道の扁平上皮癌に結合する抗体又は機能的フラグメントを包含する。その他の実施形態において、キットは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣のヒト腺癌、扁平上皮癌、カルチノイド癌腫、侵襲性腺管癌、生殖細胞癌腫に結合する抗体又は機能的フラグメントを包含する。追加的実施形態において、キットはハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する膵臓癌細胞（例えばＢＸＰＣ－３細胞）、結腸癌細胞（例えばＨＴ－２９細胞）又は胃癌細胞（例えば２３１３２／８７細胞）に結合する抗体又は機能的フラグメントを包含する。

【００２４】

本発明のキットは更に、ＴＡＦ１５ポリペプチド又は重鎖又は軽鎖の可変領域配列に１００％以下の同一性を有する配列を包含する抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム、例えば配列番号１１又は１２）、抗体及び機能的フラグメントを包含する。１つの実施形態において、キットはＴＡＦ１５ポリペプチド配列に約６０％以上（例えば６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％等）の同一性を有する配列を包含する。別の実施形態においては、キットはハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の軽鎖及び重鎖可変領域配列に約６０％以上（例えば６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％等）の同一性を有する重鎖及び軽鎖の配列を包含する。別の実施形態においては、キットは配列番号１、３、５又は７に記載される、重鎖可変領域配列に対して、そして配列番号９として記載される軽鎖可変領域配列に少なくとも６０％以上（例えば６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％等）同一である配列に対して、少なくとも６０％以上（例えば６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％等）同一である配列を有する抗体又はそのサブ配列を包含する。その他の実施形態において、キットは、ＴＡＦ１５ポリペプチドに少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、９５％～１００％同一である配列、配列番号１、３、５又は７として記載される、重鎖可変領域配列中のＣＤＲ１つ以上に少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、９５％～１００％同一である配列、又は、配列番号９として記載される、軽鎖可変領域配列中のＣＤＲ１つ以上に少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、９５％～１００％同一である配列、を有する抗体又はサブ配列を包含する。

【００２５】

追加的実施形態においては、キットは又、抗細胞増殖又は免疫増強の処置又は治療薬、又は抗新生物、抗癌又は抗腫瘍剤、又は製造物品（例えば抗体、抗細胞増殖又は免疫増強の処置又は治療を対象内に局所的、局部的に又は全身的に送達するため）を包含する。特定の態様において、説明書は望ましくない細胞増殖又は細胞増殖性障害（例えば新生物、腫瘍、癌又は転移）を処置するためのものである。

【００２６】

本発明はなおさらに医薬組成物を提供する。１つの実施形態において、組成物は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はそのサブ配列及び製薬上許容しうる担体又は賦形剤を包含する。別の実施形態においては、組成物は抗体又は機能的フラグメント及び製薬上許容しうる担体又は賦形剤を包含する。その他の実施形態において、組成物は、細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡ

ＲＢ４抗体と競合する、又は、ＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）に結合する、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖配列の可変領域に約６０％以上の同一性を有する重鎖又は軽鎖可変領域配列、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域配列中のＣＤＲ１つ以上に少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、９５％～１００％同一である配列を包含する抗体、及び製薬上許容しうる担体又は賦形剤を包含する。

【００２７】

抗原、抗体、機能的フラグメント及び修飾された形態は、処置を必要とする対象を処置するために有用である。従って本発明は望ましくない細胞増殖、例えば細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害を有するか、有する危険のある対象の処置（例えば治療的又は予防的）において抗原、抗体及び機能的フラグメントを使用する方法を提供する。１つの実施形態において、方法は、望ましくない細胞増殖を抑制又は処置するために有効な量で、望ましくない細胞増殖（例えば細胞増殖性障害）を有するか、有する危険のある対象に、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はそのサブ配列を投与することを包含する。別の実施形態においては、方法は、望ましくない細胞増殖を抑制又は処置するために有効な量で、望ましくない細胞増殖（例えば細胞増殖性障害）を有するか、有する危険のある対象に、抗体又は機能的フラグメント（例えばハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体）を投与することを包含する。特定の態様において、細胞増殖性障害は転移性又は非転移性の、固形又は液状の新生物、悪性疾患、腫瘍又は癌である。その他の態様において、望ましくない細胞増殖（例えば細胞過剰増殖性障害）は、脳、頭頚部、乳房、食道、口腔、鼻咽頭、鼻又は副鼻腔（ｓｉｎｕｓ）、胃、十二指腸、回腸、空腸、肺、肝臓、膵臓、腎臓、副腎、甲状腺、膀胱、結腸、直腸、前立腺、子宮、子宮頚部、卵巣、骨髄、リンパ、血液、骨、精巣、皮膚又は筋肉、又は造血系を冒しているか、又は少なくとも部分的にそこに存在する。さらなる態様において、望ましくない細胞増殖（例えば細胞過剰増殖性障害）は、乳房、肺、甲状腺、頭頚部、鼻咽頭、鼻又は副鼻腔、脳、脊髄、副腎、甲状腺、リンパ、胃腸管、口腔、食道、胃、十二指腸、回腸、空腸、小腸、結腸、直腸、泌尿器管、子宮、卵巣、子宮頚部、膀胱、睾丸、陰茎、前立腺、腎臓、膵臓、副腎、肝臓、骨、骨髄、リンパ、血液、筋肉又は皮膚を冒しているか、又は少なくとも部分的にそこに存在する、又は造血系である、新生物、腫瘍、癌又は転移を包含する。その他の特定の態様において、新生物、腫瘍、癌又は転移は肉腫、癌腫、腺癌、黒色腫、骨髄腫、芽腫、神経膠腫、リンパ腫又は白血病である。さらなる特定の態様において、新生物、腫瘍又は癌は、肺の腺癌、肺癌腫、びまん性又は間質性の胃癌腫、結腸の腺癌、前立腺の腺癌、食道癌腫、乳癌腫、膵臓の腺癌、卵巣の腺癌、又は子宮の腺癌、又はその転移である。

【００２８】

その他の実施形態において、方法は、対象内の他の部位、位置又は領域への腫瘍、癌又は新生物の拡張又は播種を低減又は抑制するために有効な量で、転移を有するか、又は有する危険のある対象に、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はそのサブ配列を投与することを包含する。さらなる実施形態において、方法は、対象内の他の部位、位置又は領域への腫瘍、癌又は新生物の拡張又は播種を低減又は抑制するために有効な量で、転移を有するか、又は有する危険のある対象に、抗体又は機能的フラグメント（例えばハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体）を投与することを包含する。

【００２９】

種々の態様において、方法は、他の部位１つ以上における原発の腫瘍又は癌の転移、他

の部位１つ以上における転移の形成又は確立を低減又は抑制することにより腫瘍又は癌の回帰又は腫瘍又は癌の進行を抑制又は低減する。その他の態様において、方法は、優先的に、又は実際に転移を生じさせる腫瘍又は癌の細胞（例えば播種性腫瘍細胞）の成長、増殖、運動性（ｍｏｂｉｌｉｔｙ）又は侵襲性を低減又は抑制するか；原発の腫瘍又は癌とは区別される他の部位、位置又は領域１つ以上への原発の腫瘍又は癌から生じる転移の形成又は確立を低減又は抑制するか；転移が形成されるか樹立された後に原発の腫瘍又は癌とは区別される他の部位、位置又は領域１つ以上における転移の成長又は増殖を低減又は抑制するか；又は、転移が形成されるか樹立された後にさらなる転移の形成又は確立を低減又は抑制する。

【００３０】

その他の特定の態様において、新生物、腫瘍又は癌、又は転移は進行性に悪化するか、安定しているか、又は沈静化している。更に追加的な態様において、処置は、細胞増殖性障害、又は新生物、腫瘍又は癌に関連する有害な身体的症状１つ以上を軽減又は緩解するか、又は、新生物、腫瘍又は癌の容量を低減又は低下するか、新生物、腫瘍又は癌の容量の増加を抑制又は防止するか、新生物、腫瘍又は癌の進行又は悪化を抑制するか、新生物、腫瘍又は癌の細胞溶解又はアポトーシスを刺激するか、又は新生物、腫瘍又は癌の増殖又は転移を抑制、低減又は低下させるか、又は対象の寿命を長期化又は延長するか、又は対象のクオリティオブライフを改善する。

【００３１】

方法は、対象に局所的、局部的に又は全身的に投与することを包含する。例示される対象（例えば哺乳類、例えばヒト）は抗細胞増殖性又は抗過剰増殖性の障害（例えば抗新生物、抗腫瘍、抗癌又は抗転移）又は免疫増強の処置又は治療の候補であるか、それを受けているか、又は受けたことがあるものを包含する。

【００３２】

本発明は更になお、処置を必要とする対象における障害を処置するための複合的方法を提供する。１つの実施形態において、方法は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はそのサブ配列、及び、抗細胞増殖又は免疫増強の処置又は治療を対象に対して実施（例えば相互に前後して、又は実質的に同時）することを包含する。別の実施形態においては、方法は、細胞への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合するか、又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１及び２として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞に結合する抗体、及び抗細胞増殖又は免疫増強の処置又は治療を対象に対して実施（例えば相互に前後して、又は実質的に同時）することを包含する。種々の態様において、抗細胞増殖又は免疫増強の処置又は治療は、外科的切除、放射線療法、放射線照射療法、化学療法、免疫療法、温熱療法（ｈｙｐｅｒｔｈｅｒｍｉａ）、アルキル化剤、代謝拮抗剤、植物抽出物、植物性アルカロイド、ニトロソ尿素、ホルモン、ヌクレオシド又はヌクレオチドアナログ、リンパ球、プラズマ細胞、マクロファージ、樹状細胞、ＮＫ細胞又はＢ細胞、抗体、細胞成長因子、細胞生存因子、細胞分化因子、サイトカイン又はケモカインを包含する。

【００３３】

抗体及びその機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に結合する細胞、又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に結合する抗原（例えばＴＡＦ１５ポリペプチド）を検出する、それを目的物としてスクリーニングする、及びその存在を識別するために有用である。従って本発明は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそ

れぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に結合する細胞及び抗原（例えばＴＡＦ１５ポリペプチド）を検出するか、それを目的物としてスクリーニングするための方法、本発明の方法に従った処置に適合する対象を識別するための方法を提供する。１つの実施形態において、方法は生物学的物質又は試料を、抗体又は機能的フラグメントと、抗体又は機能的フラグメントとハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に結合する細胞又は抗原との間の結合を可能にする条件下に接触させること、及びハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に結合する細胞又は抗原への抗体又は機能的フラグメントの結合に関してアッセイすること、を包含する。ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に結合する細胞又は抗原への抗体又は機能的フラグメントの結合は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に結合する細胞又は抗原を生物学的物質が含有していることを示している。１つの態様において、生物学的物質又は試料は哺乳類（例えば霊長類、例えばヒト）の対象から得られる。

【００３４】

本発明は更に、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドに配列同一性を有する抗原（ＢＡＲＢ４標的）、例えば配列番号１１又は１２に記載する１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００以上（例えば完全長）の近接アミノ酸に同一な配列、細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォーム、又は炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチドを検出するか、それを目的物としてスクリーニングするための方法を提供する。１つの実施形態において、方法は生物学的物質又は試料を抗体又は機能的フラグメントにＴＡＦ１５ポリペプチドへの配列同一性を有する抗原への抗体の結合を可能とする条件下に接触させること；及びＴＡＦ１５ポリペプチドへの配列同一性を有する抗原への抗体の結合に関してアッセイすることを包含する。抗原への抗体の結合はＴＡＦ１５ポリペプチドへの配列同一性を有する抗原の存在を検出しているものである。

【００３５】

本発明は更に、望ましくない細胞増殖又は細胞増殖性障害（例えば新生物、腫瘍、癌又は転移）を有するか、有する危険が増大している対象を診断するための方法を提供する。種々の実施形態において、方法は対象に由来する生物学的物質又は試料を本明細書に記載する抗体又はその機能的フラグメントに抗体又は機能的フラグメントの結合を可能にする条件下に接触させること、及びＴＡＦ１５ポリペプチドに配列同一性を有する細胞又は抗原（ＢＡＲＢ４標的）、例えば配列番号１１又は１２に記載する１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００以上（例えば完全長）の近接アミノ酸に同一な配列、細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォーム、又は炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチドへの抗体の結合に関してアッセイすることを包含する。特定の態様において、対象を診断するための方法は、望ましくない細胞増殖又は細胞増殖性障害（例えば新生物、腫瘍、癌又は転移）を有するか、有する危険が増大しているものを識別する。例えば、ＴＡＦ１５ポリペプチドの存在又はＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞表面発現は、望ましくない細胞増殖又は細胞増殖性障害（例えば新生物、腫瘍、癌又は転移）を有する危険が増大していることを示すことができる。１つの態様において、生物学的物質又は試料は哺乳類（例えば霊長類、例えばヒト）の対象から得られる。追加的態様において、生物学的物質又は試料は生検試料、例えば肺、膵臓、胃、乳房、食道、卵巣又は子宮の生検試料を含む。

【図面の簡単な説明】

【００３６】

【図１】Ａ）及びＢ）膵臓癌細胞（ＢＸＰＣ－３）；Ｃ）及びＤ）胃癌細胞（２３１３２／８７）；及びＥ）及びＦ）結腸癌細胞（ＨＴ－２９）の、２４時間及び４８時間におけるＢＡＲＢ４細胞増殖抑制活性。
【図２】指定時間における胃癌細胞のＢＡＲＢ４細胞死活性。
【図３】ＢＡＲＢ４悪性黒色腫癌細胞（ＨＴＢ－６９）増殖抑制活性。
【図４】結合３０分後の膵臓癌細胞（ＢＸＰＣ－３）によるＢＡＲＢ４抗体のエンドサイトーシスを示すＢＡＲＢ４の免疫蛍光。
【図５】Ｏ－グリコシダーゼでは観察されなかったＮ－グリコシダーゼ処理ＢＸＰＣ－３癌細胞へのＢＡＲＢ４の結合の低減。
【図６】Ａ）ＢＡＲＢ４抗体は７０～８５ｋＤａの間の相対的分子質量を有する膜分子に結合する（矢印）；Ｂ）ＢＡＲＢ４標的の位置を示すリッチ化精製膜抽出物のクーマシー染色ゲル（矢印）。
【図７】Ａ）ＤＴＴで還元したＳＤＳ－ＰＡＧＥから単離し、ヨウ素アセトアミドでアルキル化し、トリプシンで一夜消化し、そしてＭＡＬＤＩＭＳで計測したＢＡＲＢ４標的；Ｂ）ＮＣＢＩデータベースにおけるヒト配列とのペプチド質量のデータベース比較。
【図８】４８時間後の未処置細胞又は非関連ｓｉＲＮＡ処置細胞（陰性対照）では観察されなかった、ヒトＴＡＦ１５ｍＲＮＡに対するｓｉＲＮＡで処置された細胞へのＢＡＲＢ４抗体の結合の低減を示すＦＡＣＳ分析。
【図９－１】２つの異なるＴＡＦ１５ポリペプチド、Ａ）抗ＴＡＦＩＩ６８；及びＣ）抗ＴＡＦ１５（ＡＲＰ３０１１１＿Ｔ１００、ＡＶＩＶＡ）を用いたウエスタンブロッティングにより確認したＢＡＲＢ４によるＴＡＦ１５の免疫沈降。
【図９－２】２つの異なるＴＡＦ１５ポリペプチド、Ａ）抗ＴＡＦＩＩ６８；及びＣ）抗ＴＡＦ１５（ＡＲＰ３０１１１＿Ｔ１００、ＡＶＩＶＡ）を用いたウエスタンブロッティングにより確認したＢＡＲＢ４によるＴＡＦ１５の免疫沈降。
【発明を実施するための形態】
【００３７】
詳細な説明
本発明はＢＡＲＢ４標的と称される糖蛋白抗原に少なくとも一部分は基づいている。ＢＡＲＢ４標的は変性（ＳＤＳ）ゲル電気泳動で測定した場合に約７０～８５キロダルトン（ｋＤａ）の範囲の見かけの分子量を有する。ＢＡＲＢ４標的の非限定的な例示される特徴は細胞表面上の発現である。別のＢＡＲＢ４標的の非限定的な例示される特徴は少なくとも１つの窒素（Ｎ）－又は酸素（Ｏ）－連結炭水化物部分の連結である。更に別のＢＡＲＢ４標的の非限定的な例示される特徴は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４と称される抗体はＢＡＲＢ４標的上に存在するエピトープに特異的に結合するということである。
【００３８】
ＢＡＲＢ４標的の配列分析によれば、ＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）、別名ＴＡＦ（ＩＩ）６８、ＴＡＦ２Ｎ及びＲＮＡ－結合蛋白５６（ＲＢＰ５６）との少なくとも部分的な配列同一性が明らかになった。ヒトＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）配列アイソフォームは配列番号１１及び１２に示す通りである。ＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）配列と同一と見られるＢＡＲＢ４標的の配列は以下の通り下線を付す。
【００３９】

【化２】

1 msdsgsyggqsggeqqsystygnpgsqgygqasqsysgygqttdssygqnysgyssygqsq
61 sgysqsyggyenqkqssysqqpynnqgqqqnmessgsqggrapsydqpdy
gqqdsydqqs
121
gydqhqgsydeqsnydqqhdsysqnqqsyhsqrenyshhtqddrrdvsrygednrgyggs

【００４０】
【化３】

181
qgggrgrggydkdgrgpmtgssggdrggfknfgghrdygprtdadsesdnsdnntifvqg
241
lgegvstdqvgeffkqigiiktnkktgkpminlytdkdtgkpkgeatvsfddppsakaai
301
dwfdgkefhgniikvsfatrrpefmrgggsgggrrgrggyrgrggfqgrggdpksgdwvc
361
pnpscgnmnfarrnscnqcneprpedsrpsggdfrgrgyggergyrgrggrggdrggygg
421
drsgggyggdrssgggysgdrsgggyggdrsgggyggdrgggyggdrgggyggdrgggyg
481
gdrggyggdrgggyggdrggyggdrggyggdrggyggdrggyggdrsrggyggdrgggsg
541 yggdrsggyggdrsgggyggdrgggyggdrggyggkmggrndyrndqrnrpy

即ち、ＢＡＲＢ４標的の別の非限定的な例示される特徴は配列番号１１又は１２に示すＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）配列との完全な、又は少なくとも部分的な配列の相同性／同一性である。

【００４１】

ＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）は細胞（細胞外）表面上発現されるものとしては特徴付けられていない。即ち、ＢＡＲＢ４標的の更に別の非限定的な例示される特徴はＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合アイソフォームとしてのその見かけ上の識別性である。

【００４２】

本発明によれば、ＢＡＲＢ４標的と称される単離及び精製された抗原及びＢＡＲＢ４標的のサブ配列が提供される。１つの実施形態においてＢＡＲＢ４標的は配列番号１１又は１２に記載するＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）との配列同一性、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドとの完全（１００％）又は部分的（例えば６０％、７０％、８０％、９０％、９５％以上）同一性を有する。別の実施形態においては、ＢＡＲＢ４標的又はそのサブ配列はＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームであり、配列番号１１又は１２に示されるＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）との配列同一性は、完全（１００％）又は部分的（例えば６０％、７０％、８０％、９０％、９５％以上）同一性である。その他の実施形態において、ＢＡＲＢ４標的又はそのサブ配列はＴＡＦ１５ポリペプチド（例えば配列番号１１又は１２）の１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００以上の近接アミノ酸に完全（１００％）又は部分的（例えば６０％、７０％、８０％、９０％、９５％以上）に同一である配列を有する。その他の実施形態において、ＢＡＲＢ４標的又はそのサブ配列は炭水化物部分（例えばＮ連結炭水化物部分又はＯ連結炭水化物部分）を包含するか、又は、腫瘍又は癌の細胞（例えば膵臓の癌又は腫瘍の細胞、結腸の癌又は腫瘍の細胞、又は胃の癌又は腫瘍の細胞、例えばＢＸＰＣ－３細胞、ＨＴ－２９細胞又は２３１３２／８７細胞）により発現される。追加的実施形態において、ＢＡＲＢ４標的又はそのサブ配列はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する抗原であるか、又はドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル

電気泳動（ＳＤＳ－ＰＡＧＥ）により測定する場合に約７０～８５ｋＤａの分子量を有する。ＢＡＲＢ４標的実施形態はＴＡＦ１５ポリペプチドをコードする遺伝子の、又はその内部への染色体転座に起因する融合蛋白を包含する。ＢＡＲＢ４標的実施形態はまた、ＴＡＦ１５ポリペプチドをコードする遺伝子の、又はその内部への染色体転座に起因する融合蛋白を排除している（例えばＢＡＲＢ４標的は核受容体ＮＯＲ１に融合したＴＡＦ１５の染色体転座に起因する融合蛋白ではない）。

【００４３】

本明細書において使用する場合、「アイソフォーム」という用語はレファレンス蛋白と比較して変異体である蛋白を指す。変異はレファレンス蛋白と比較した場合のアミノ酸配列における小さい相違のようなアミノ酸残基１つ以上において起こり得る。変異はレファレンス蛋白と比較した場合のアミノ酸残基１つ以上の挿入、欠失又は置換であることができる。ＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）のアイソフォームは配列番号１１及び１２に記載する通りであり、そしてさらなるアイソフォームはレファレンスＴＡＦ１５ポリペプチド（例えば配列番号３又は４）に対して部分的（例えば６０％、７０％、８０％、９０％、９５％以上）な配列同一性を有することができる。アイソフォームは同じポリペプチド配列を有し得るが、翻訳後プロセシング、例えばホスホリル化、グリコシル化、アミド化等の点において異なっていて良い。即ち、ＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）のアイソフォームは配列番号１１又は１２と完全（例えば１００％）な配列同一性を有することができるが、翻訳後プロセシングの点において異なることができる。アイソフォームは同じか又は異なる遺伝子によりコードされていて良い。アイソフォームは又レファレンスＴＡＦ１５ポリペプチドと比較して異なる機能又は異なる細胞局在性を有し得る。例えば、ＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）は核に典型的に存在する転写因子である。しかしながら配列番号１１及び１２に記載するＴＡＦ１５ポリペプチドと少なくとも部分的な配列同一性を有するＢＡＲＢ４標的は特定の腫瘍、癌及び新生物の細胞の細胞表面上に存在する。ＢＡＲＢ４標的は異なる細胞位置を有するため、ＢＡＲＢ４標的はＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５（ＴＡＦ１５ポリペプチド）アイソフォームと称することができる。

【００４４】

本明細書において使用する場合、「糖蛋白」という用語は蛋白を含むアミノ酸に共有結合した糖部分少なくとも１つを有する蛋白、ポリペプチド又はペプチドを指す。「炭水化物部分」とは２つ以上の糖残基、例えば単糖類、２糖類、３糖類等を指す。オリゴ糖及び多糖類という用語は炭水化物という用語と同義である。「炭水化物部分」とは抗体が結合する（例えば２００７年１２月１９日に寄託されたハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９で示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体）ＢＡＲＢ４標的上に存在するエピトープの全て又は部分を含むことができる。

【００４５】

糖類、炭水化物、オリゴ糖及び多糖類は典型的にはグリコシド結合によりアミノ酸残基に連結される。真核生物の場合、一連の糖の付加及び除去が翻訳後に起こることにより糖蛋白の炭水化物部分が形成される。例示される糖は、ガラクトース、アセチルガラクトース、マンノース、フコース、グルコース、アセチルグルコース、シアル酸、Ｎ－アセチルガラクトサミン、Ｎ－アセチルグルコサミン及びノイラミン酸のうち１つ以上を包含する。特定の態様においては、ＢＡＲＢ４標的はＮ又はＯ連結を介して例えばセリン、スレオニン又はアスパラギンの残基に結合したこのような特定の糖類の１つ以上を有する。

【００４６】

グリコシダーゼ酵素とのＢＡＲＢ４標的の接触は炭水化物部分を含む糖残基１つ以上の除去によりＢＡＲＢ４標的の見かけの分子量を低減する場合がある。即ち、１つの態様において、Ｎ－グリコシダーゼ酵素とのＢＡＲＢ４標的の接触はＢＡＲＢ４標的の見かけの分子量を７０～８５ｋＤａから低減する。

【００４７】

炭水化物部分の糖１つ以上又は全炭水化物構造を除去できるグリコシダーゼはセリン又はスレオニン残基の酸素（Ｏ）に連結した炭水化物部分を含む糖を典型的には切断するＯ－グリコシダーゼ、及びアスパラギン残基の窒素（Ｎ）に連結した炭水化物部分を含む糖を典型的には切断するＮ－グリコシダーゼを包含する。そのようなグリコシダーゼの特定の例はＯ－グリコシダーゼ、Ｎ－グリコシダーゼＦ、エンドグリコシダーゼＨ（エンドＨ）、ノイラミニダーゼ及びフコシダーゼである。Ｏ－グリコシダーゼはセリン－又はスレオニン－連結オリゴ糖を切断する。Ｎ－グリコシダーゼＦはオリゴ糖がキトビオースコア単位の最小長を有する場合にアスパラギン結合Ｎ－グリカンを切断する。エンドＨは、キトビオース内部で高マンノースのコア及び一部のハイブリッドのオリゴ糖をＮ－連結糖蛋白から切断するグルコシダーゼである。ノイラミニダーゼは末端アシルノイラミン残基を除去する。フコシダーゼはフコースを例えばラクトース及び複雑な炭水化物から除去する。このようなグリコシダーゼは、典型的には、切断される糖の連結の観点において、そして、炭水化物部分がＯ－又はＮ－連結であるかどうかについて少なくともある程度の特異性を有しており、そして従って、ＢＡＲＢ４標的炭水化物部分の組成及び構造を特性化するために使用できる。

【００４８】

ＢＡＲＢ４と称される抗体がＢＡＲＢ４標的に特異的に結合する実施形態において、ＢＡＲＢ４抗体は炭水化物部分（例えばＮ－又はＯ－連結炭水化物部分）を含むＢＡＲＢ４標的の少なくとも一部分（エピトープ）に結合する。Ｎ－グリコシダーゼ酵素とのＢＡＲＢ４標的の接触は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の糖蛋白への結合を、恐らくはＢＡＲＢ４の結合エピトープを包含する１つ、数個又は全ての糖の除去のために、低減している。従って、ＢＡＲＢ４標的へのＢＡＲＢ４の結合は、少なくとも部分的には、ＢＡＲＢ４標的エピトープのＮ－連結炭水化物部分を含む糖１つ以上を必要とするか、これにより媒介されていると考えられる。即ち、別の態様において、Ｎ－グリコシダーゼ酵素で処理したＢＡＲＢ４標的は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体のＢＡＲＢ４標的への見かけの結合親和性を低減する。

【００４９】

本発明は又種々の新生物、癌、腫瘍及び転移性細胞により発現される抗原（ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）に結合する抗体に少なくとも部分的には基づいている。非限定的な例示される抗体はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４と標記される。ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４は種々の新生物、癌、腫瘍及び転移性細胞に特異的に結合するヒトＩｇＧである。ＢＡＲＢ４は種々の新生物、癌、腫瘍及び転移性細胞の増殖を抑制又は低減することができる。ＢＡＲＢ４はまた種々の新生物、癌、腫瘍及び転移性細胞のアポトーシスを刺激又は誘導することができる。

【００５０】

本発明の抗体はポリクローナル及びモノクローナル抗体を包含する。抗体はアミド結合又は等価物により共有結合されたアミノ酸又は「残基」を包含する蛋白である。抗体に言及しながら使用する場合の「モノクローナル」という用語は何れかの真核生物、原核生物、又はファージクローンを包含する単一のクローンに基づくか、それから得られた、又はそれから誘導された抗体を指す。従って「モノクローナル」抗体は本明細書においては構造的に定義されるものであり、それが生産された方法ではない。

【００５１】

本発明の抗体は何れかの抗体のクラス、ＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、又

はサブクラスに属することができる。ＩｇＧの例示されるサブクラスはＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$及びＩｇＧ$_4$である。

【００５２】

本発明の抗体はカッパ又はラムダの軽鎖の配列の天然に存在する抗体の場合と同様の完全長、その混合物（即ちカッパ及びラムダ鎖配列の融合物）及びそのサブ配列／フラグメントの何れかを有することができる。天然に存在する抗体分子は２つのカッパ又は２つのラムダの軽鎖を含有する。カッパ及びラムダの軽鎖の間の主要な相違は定常領域の配列にある。

【００５３】

それぞれ配列番号１、３、５及び７；及び９により示されるＢＡＲＢ４重鎖及び軽鎖の可変領域配列のアミノ酸配列を示す。

【００５４】

ＢＡＲＢ４重鎖のアミノ酸配列（ＶＨ；配列番号１）：

【００５５】

【化４】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFRFTTHGMHWVRQAPGKGLEWV
AVISYNGRNKYYADYVNGRFTISRDDSRDTVFLQMNSLRPEDTAMYYCA
KVRGDGYGDYGYFDYWGHGTLVSVSS

ＢＡＲＢ４重鎖のアミノ酸配列（４．１ＶＨ；配列番号３）：

【００５６】

【化５】

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFRFTTHGMHWVRQAPGKGLEWV
AVISYNGRNKYYADYVNGRFTISRDDSRDTVFLQMNSLRPEDTAMYYCA
KVRGDGYGDYGYFDYWGHGTLVSVSS

ＢＡＲＢ４重鎖のアミノ酸配列（４．２ＶＨ；配列番号５）：

【００５７】

【化６】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFRFTTHGMHWVRQAPGKGLEWV

【００５８】

【化７】

AVISYNGRNKYYADYVNGRFTISRDDSRDTVFLQMNSLRPEDTAMYYCA
KVRGDGYGDYGYFDYWGHGTLVSVSS

ＢＡＲＢ４重鎖のアミノ酸配列（４．３ＶＨ；配列番号７）：

【００５９】

【化８】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFRFTTHGMHWVRQAPGKGLEWV
AVISYNGRNKYYADYVNGRFTISRDDSRDTVFLQMNSLRPEDTAMYYCA
KVRGDGYGDYGYFDYWGHGTLVTVSS

ＢＡＲＢ４軽鎖のアミノ酸配列（ＶＬ；配列番号９）：

【００６０】

【化９】

QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTYNYVSWYQQHPGKAPKLMIFDVSRR
SSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYGGTYLYVFGTGTT
VTVLGQ.

配列番号１及び２に示す重鎖及び軽鎖の配列の各々内に、うち３つが存在する予測ＣＤＲは、好都合には、本明細書においてはＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２及びＬＣ－ＣＤＲ３；及びＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２及びＨＣ－ＣＤＲ３と標記する。配列番号１

及び２の各々のＣＤＲ配列は相同生殖細胞系統配列とのアライメントにより決定した。種々の配列データベース、例えばＭＲＣ（ＶＢＡＳＥ，ＭＲＣ Ｃｅｎｔｒｅ ｆｏｒ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ）及びＩＭＧＴ（Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ Ｓｙｓｔｅｍ）データベースを使用することによりＣＤＲの位置を決定できる。特にＣＤＲの位置を決定するためにはＭＲＣ（ＶＢＡＳＥ，ＭＲＣ Ｃｅｎｔｒｅ ｆｏｒ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ）の配列データベースを使用した。典型的にはＩＭＧＴデータベースはラムダ軽鎖に関してより短いＣＤＲ領域を与える。

【００６１】

ＭＲＣデータベースに基づくと、ＢＡＲＢ４重鎖ＣＤＲ１、ＧＦＲＦＴＴＨＧＭＨ；ＣＤＲ２、ＶＩＳＹＮＧＲＮＫＹＹＡ；及びＣＤＲ３、ＶＲＧＤＧＹＧＤＹＧＹＦである。ＭＲＣデータベースに基づくと、ＢＡＲＢ４軽鎖ＣＤＲ１、ＴＧＴＹＮＹＶＳ；ＣＤＲ２、ＤＶＳＲＲＳＳ；及びＣＤＲ３、ＣＳＹＧＧＴＹＬＹである。追加的領域、例えばＤ－及びＪ－領域の位置もまた当業者の知る通りである。

【００６２】

本発明によれば、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に構造的及び／又は機能的に関連した単離及び精製された抗体及び機能的（例えば細胞又は抗原結合）フラグメントが提供される。種々の実施形態において、抗体及び機能的フラグメントは細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム、又はその上のエピトープ）への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する。追加的実施形態において、抗体及び機能的フラグメントは腺癌細胞又は扁平上皮癌への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する。その他の実施形態において、抗体及びその機能的フラグメントは胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道の扁平上皮癌の１つ以上への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する。更に追加的な実施形態において、抗体及び機能的フラグメントは胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する。更にその他の実施形態において、抗体及び機能的フラグメントは膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する。特定の態様において、抗体及び機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の、細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合を、少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上競合的に抑制する。

【００６３】

本発明によれば、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はエピトープに結合する抗体及び機能的フラグメントが提供される。１つの実施形態において、単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はエピトープに結合する。別の実施形態においては、単離又は精製された抗体又はその機能的フラグメントは配列番号１１又は１２に示すＴＡＴＡ結合蛋白会合因子１５に完全（１００％）又は部分的（例えば６０％、７０％、８０％、９０％、９５％以上）な配列同一性を有する抗原のようなＢＡＲＢ４標的に結合する。特定の態様において、抗体又はその機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する腺癌細胞又は扁平上皮癌上に存在する細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はエピトープに結合する。さらなる特定の態様において、抗体又はその機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道の扁平上皮癌の１つ以上の上に存在する細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はエピトープに結合する。その他の特定の態様において、抗体又はその機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示される未損傷のＢＡＲＢ４抗体が結合する胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣のヒト腺癌、扁平上皮癌、カルチノイド癌腫、侵襲性腺管癌、生殖細胞癌腫上に存在する細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はエピトープに結合する。更にその他の特定の態様において、抗体又はその機能的フラグメントはハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示される未損傷のＢＡＲＢ４抗体が結合する膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）上に存在する細胞又は抗原又はエピトープに結合する。

【００６４】

細胞（例えば新生物、癌、腫瘍又は転移性細胞）、細胞系統（例えば新生物、癌、腫瘍又は転移性細胞系統）又は抗体が結合する抗原は、ＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜アイソフォーム、炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチド、及びＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜アイソフォームを含む抗原を発現する細胞及び細胞系統を包含する。従って本発明は更に、ＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム、炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチドを発現する細胞又は細胞系統に結合する抗体及びその機能的フラグメント、並びに細胞膜結合型のＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォームの抗原に結合する抗体及びその機能的フラグメントを提供する。更に提供される抗体及びその機能的フラグメントは、ＴＡＦ１５ポリペプチド配列（例えば細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチド、炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチド、又は配列番号１１又は１２）への結合に関してマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体

と競合するものを包含する。

【００６５】

「結合する」又は「結合している」という用語は抗体又は機能的フラグメントに言及しながら使用する場合、抗体又は機能的フラグメントが細胞又は抗原上に存在する相当するエピトープ（抗原決定基）と、分子レベルにおいて相互作用することを意味している。アミノ酸を含む抗原のエピトープは典型的には、例えば約５～１５アミノ酸長の相対的に短い配列を包含する。エピトープは近接又は非近接のものであり得る。非近接アミノ酸配列エピトープは蛋白の折り畳みにより形成される。エピトープを同定するための手法は当該分野で知られており、そして、抗体への結合に関するオーバーラップオリゴペプチドのスクリーニング（例えば米国特許４，７０８，８７１）、エピトープマッピングのために市販されているファージディスプレイペプチドライブラリキット（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　ＢｉｏＬａｂｓ）を包含する。エピトープはまた、エピトープの長さのペプチド配列を使用して動物を免疫化し、これからペプチド配列に結合する抗体を得る場合には推定により識別され、そしてコンピュータープログラム、例えばＢＥＰＩＴＯＰＥ（Ｏｄｏｒｉｃｏら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｒｅｃｏｇｎｉｔ．１６：２０（２００３））を用いながら予測することができる。

【００６６】

本発明は更に細胞の成長又は増殖を抑制、低下又は低減するか、又は細胞死、溶解又はアポトーシスを刺激又は誘導する抗体及び機能的フラグメントを提供する。特定の実施形態においては、新生物、腫瘍又は癌又は転移性細胞へのハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合は細胞の成長又は増殖を抑制、低下又は低減するか、又は細胞死、溶解又はアポトーシスを刺激又は誘導する。別の実施形態においては、ＢＸＰＣ－３又は２３１３２／８７細胞へのハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合は、細胞の成長又は増殖を抑制、低下又は低減するか、又は細胞死、溶解又はアポトーシスを刺激又は誘導する。

【００６７】

本発明は更に、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に構造的及び／又は機能的に関連する抗体及び機能的フラグメントを提供し、ここで重鎖又は軽鎖可変領域配列はそれぞれ配列番号１、３、５、７；又は９とある程度の同一性を示すか、配列番号１、３、５、７；又は９内部の配列（例えば１つ以上のＣＤＲ）と同一性を示す。従って本発明の抗体及び機能的フラグメントはハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に少なくとも部分的な配列同一性を有するものを包含する。

【００６８】

特定の実施形態においては、抗体及び機能的フラグメントはハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の重鎖又は軽鎖の配列の可変領域、又は配列番号１、３、５、７；又は９内部の配列（例えば１つ以上のＣＤＲ）に約６０％以上の同一性を有する重鎖又は軽鎖可変領域配列を包含する。他の特定の実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の重鎖又は軽鎖の配列の可変領域、又は配列番号１、３、５、７；又は９内部の配列（例えば１つ以上のＣＤＲ）に約６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、

９０％、９５％以上の同一性を有する重鎖又は軽鎖を包含する。さらなる特定の実施形態において抗体又は機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体におけるＣＤＲ１つ以上に少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、９５～１００％の同一性を有する重鎖又は軽鎖可変領域配列を包含する。特定の態様において、抗体又はその機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体における各々の重鎖又は軽鎖の可変領域配列における１つ、２つ又は３つのＣＤＲに９５～１００％の同一性を有する重鎖又は軽鎖可変領域配列を包含する。

【００６９】

抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）、抗体及び機能的フラグメントのパーセント同一性の観点において、同一性は、レファレンス配列に対して、６０％もの低値であることができ、又は、より高値（例えば６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％等）であることができる。パーセント同一性は、ＢＡＲＢ４標的（例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の全配列長、又は、ＢＡＲＢ４標的（例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の内部の近接した領域又は領域に渡って伸張できる。特定の態様において、パーセント同一性を共有する配列の長さは、５以上の近接アミノ酸、例えば５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５などの近接アミノ酸である。さらなる特定の態様において、パーセント同一性を共有する配列の長さは、２５以上の近接アミノ酸、例えば２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５等の近接アミノ酸である。その他の特定の態様において、パーセント同一性を共有する配列の長さは、３５以上の近接アミノ酸、例えば３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４５、４７、４８、４９、５０等の近接アミノ酸である。更にその他の特定の態様において、パーセント同一性を共有する配列の長さは、５０以上の近接アミノ酸、例えば５０～５５、５５～６０、６０～６５、６５～７０、７０～７５、７５～８０、８０～８５、８５～９０、９０～９５、９５～１００、１００～１１０等の近接アミノ酸である。更に特定の抗体又はサブ配列の態様において、パーセント同一性を共有する配列の長さは、ＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体のような、可変領域配列の何れかのＣＤＲ、又はＣＤＲ外であるが重鎖又は軽鎖の配列の可変領域内部にある領域の長さに等しい。

【００７０】

「同一性」という用語及びその文法的変化形は、２つ以上の言及された実体が同じであることを意味する。即ち、２つの抗原又は抗体の配列が同一である場合、それらは少なくとも言及されている領域又は部分の内部において同じアミノ酸配列を有する。２つの核酸配列が同一である場合、それらは少なくとも言及されている領域又は部分の内部において同じポリヌクレオチド配列を有する。同一性は配列の所定の領域（領域又はドメイン）に渡ることができる。「同一性の領域」とは同じである言及された実体２つ以上の一部分を指す。即ち、２つの蛋白又は核酸の配列が配列領域１つ以上に渡って同一である場合、それらはその領域の内部において同一性を共有している。例示される抗原、抗体及び機能的フラグメントは、レファレンスＢＡＲＢ４標的（例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜

結合型アイソフォーム）、例えば配列番号１１又は１２として示すＴＡＦ１５ポリペプチドに対し、又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体又はその機能的フラグメントに対し、５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％以上のアミノ酸配列同一性を有する。

【００７１】

「相同である」又は「相同性」という用語は、２つ以上の照合された実体がある領域又は部分に渡って同一性を共有していることを意味している。相同性又は同一性の「領域、領域又はドメイン」とは２つ以上の照合された実体の一部分が相同性を共有しているか、又は同じであることを意味している。即ち２つの配列が１つ以上の配列領域に渡って同一である場合、それらはその領域において同一性を共有している。「実質的な相同性」とは、ある分子が、相同性を共有しているレファレンス分子、又はレファレンス分子の該当／相当する領域又は部分の構造又は機能（例えば生物学的機能）の１つ以上の少なくとも部分的な構造又は機能を有するか、有することが予測されるように、構造的又は機能的に保存されていることを意味する。実質的な相同性を有する抗原、抗体又は機能的フラグメントは、レファレンス抗体の少なくとも部分的な活性又は機能を有するか、又は有すると予測される。例えば抗原の種々の実施形態において、ＢＡＲＢ４標的（例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム、配列番号１１又は１２）又はそのサブ配列は細胞膜上に発現される能力を保持するか、炭水化物部分を有するか、又はＢＡＲＢ４抗体に結合する。抗体に関する特定の実施形態においては、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体は、１つ以上の修飾（例えば配列番号１、３、５、７又は９の置換、欠失又は付加）がハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の細胞又は抗原への結合に関して少なくとも部分的に競合する能力を保持しているか、又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原への部分的結合を少なくとも保持している場合、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体への実質的相同性を有すると考えられる。

【００７２】

２つの配列の間の同一性（相同性）の範囲は、当該分野で知られたコンピュータープログラム及び数学的アルゴリズムを使用して確認できる。パーセント配列同一性（相同性）を計算するそのようなアルゴリズムは一般的に比較の領域又は領域に渡る配列のギャップ及びミスマッチを説明している。例えばＢＬＡＳＴ（例えばＢＬＡＳＴ２．０）検索アルゴリズム（例えばＡｌｔｓｃｈｕｌら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３（１９９０）参照、ＮＣＢＩより公的に入手可能）では例示される検索パラメーターは以下の通りである。即ち、ミスマッチ－２；ギャップオープン５；ギャップエクステンション２。ポリペプチド配列比較に関してはＢＬＡＳＴＰアルゴリズムは典型的にはＰＡＭ１００、ＰＡＭ２５０、ＢＬＯＳＵＭ６２又はＢＬＯＳＵＭ５０のようなスコアリングマトリックスと組み合わせて使用される。ＦＡＳＴＡ（例えばＦＡＳＴＡ２及びＦＡＳＴＡ３）及びＳＳＥＡＲＣＨ配列比較プログラムもまた同一性の程度を定量するために使用される（Ｐｅａｒｓｏｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８５：２４４４（１９８８）；Ｐｅａｒｓｏｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ．１３２：１８５（２０００）；及びＳｍｉｔｈら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１４７：１９５（１９８１））。Ｄｅｌａｕｎａｙ系の位相幾何学的マッピングを用いた蛋白構造類似性を定量するためのプログ

ラムもまた開発されている（Ｂｏｓｔｉｃｋら、Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｒｅｓ Ｃｏｍｍｕｎ．３０４：３２０（２００３））。

【００７３】

本発明の抗原、抗体及び機能的フラグメントは、抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の少なくとも１つ以上の部分的な活性又は機能を保持しているものを包含する。本明細書に開示する通り、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する抗原は、配列番号１１又は１２として示すＴＡＦ１５ポリペプチドとの配列同一性を有する。種々の形態においてＢＡＲＢ４標的はＴＡＦ１５ポリペプチドの見かけの細胞膜結合型アイソフォームであり、炭水化物部分を含有し、そして種々の悪性及び非悪性の新生物、腫瘍及び癌細胞により発現される。即ち、種々の実施形態においてＢＡＲＢ４標的又はそのサブ配列は１つ以上の配列番号１１又は１２として示すＴＡＦ１５ポリペプチドとの配列同一性、細胞膜上で発現される能力を保持しているか、炭水化物部分を有するか、又はＢＡＲＢ４抗体に結合する。

【００７４】

同様に本明細書に開示される通り、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４、軽鎖及び重鎖はそれぞれ種々の悪性及び非悪性の新生物、腫瘍及び癌細胞に結合する。ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４、軽鎖及び重鎖に結合し、そしてこれによりＢＡＲＢ４の標的抗原を発現する細胞の非限定的な例として、胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかの胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道扁平上皮癌、ヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫、又は膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）が挙げられる。即ち、種々の実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかの胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道扁平上皮癌、ヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫、又は膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７）、結腸癌細胞系統ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌細胞系統２３１３２／８７（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１）のような細胞１つ以上に結合する。

【００７５】

ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原に結合する抗体及び機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体よりも、細胞又は抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）に対して相対的に高値又は低値の結合親和性を有し得る。従って本発明のさらなる抗体及び機能的フラグメントは、細胞又は抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として

示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体、軽鎖及び重鎖の結合親和性より高値、同程度、又は低値を有するものを包含する。例えば、本発明の抗体又は機能的フラグメントはハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体よりも２～５、５～１０、１０～１００、１００～１０００又は１０００～１０，０００倍高値の親和性又は低値の親和性、又はこの値内又はこの値を包含する何れかの数値又は範囲を有し得る。種々の実施形態において抗体又はその機能的フラグメントは、抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合に関し、又は新生物、癌、腫瘍又は転移性細胞への結合に関し、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合親和性の約１～５０００倍の範囲内の結合親和性を有する。他の実施形態において、抗体又はその機能的フラグメントは、抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合に関し、又は腺癌細胞又は扁平上皮癌、例えば、胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道扁平上皮癌への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合親和性の約１～５０００倍の範囲内の結合親和性を有する。その他の実施形態において、抗体又はその機能的フラグメントは、抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合に関し、又は胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫への結合に関し、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合親和性の約１～５０００倍の範囲内の結合親和性を有する。さらなる実施形態において、抗体又はその機能的フラグメントは、抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合に関し、又は膵臓癌ＢＸＰＣ－３細胞、癌細胞ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ寄託番号ＨＴＢ－３８）又は胃癌２３１３２／８７細胞への結合に関し、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合親和性の約１～５０００倍の範囲内の結合親和性を有する。上記した実施形態において、結合親和性は、抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又は細胞への結合に関して、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の結合親和性の約１～５０００倍高値又は低値であり得る。

【００７６】

抗体及び機能的フラグメントは特定の抗原に対して他のものよりも高値の親和性を有するものを包含する。特定の実施形態においては、抗体は非腫瘍又は非癌細胞において発現されるＴＡＦ１５ポリペプチドに対する結合親和性よりも高値の腫瘍又は癌細胞により発現されるＴＡＦ１５ポリペプチドに対する結合親和性を有し；抗体は細胞膜結合型ではないか、細胞内のものであるＴＡＦ１５ポリペプチドに対する結合親和性よりも高値の細胞膜結合型ＴＡＦ１５ポリペプチドアイソフォームに対する結合親和性を有し；そして、抗体は炭水化物部分（例えばＮ－連結炭水化物又はＯ－連結炭水化物）を欠いたＴＡＦ１５ポリペプチドに対する結合親和性よりも高値の、炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチドに対する結合親和性を有する。

【００７７】

結合親和性は会合（K_a）及び解離（K_d）速度により決定され得る。平衡親和性定数

KはK$_a$／K$_d$の比である。会合（K$_a$）及び解離（K$_d$）速度は表面プラズモン共鳴（ＳＲＰ）を用いて計測できる（Ｒｉｃｈ ａｎｄ Ｍｙｓｚｋａ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１１：５４（２０００）；Ｅｎｇｌｅｂｉｅｎｎｅ，Ａｎａｌｙｓｔ．１２３：１５９９（１９９８））。結合速度のリアルタイムの検出及びモニタリングのための機器及び方法は知られており、商業的に入手可能である（ＢｉａＣｏｒｅ２０００，Ｂｉａｃｏｒｅ ＡＢ，Ｕｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ；及びＭａｌｍｑｖｉｓｔ，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓ．２７：３３５（１９９９））。

【００７８】

さらなる特異的な非限定的な抗体及び機能的フラグメントは、約K$_d$１０$^{-2}$Ｍ～約K$_d$１０$^{-15}$Ｍの範囲内、又は約K$_d$１０$^{-5}$Ｍ～約K$_d$１０$^{-12}$Ｍの範囲内における、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の細胞又は抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）に対する結合親和性を有する。特定の実施形態においては、結合親和性は５×１０$^{-2}$Ｍ、１０$^{-2}$Ｍ、５×１０$^{-3}$Ｍ、１０$^{-3}$Ｍ、５×１０$^{-4}$Ｍ、１０$^{-4}$Ｍ、５×１０$^{-5}$Ｍ、１０$^{-5}$Ｍ、５×１０$^{-6}$Ｍ、１０$^{-6}$Ｍ、５×１０$^{-7}$Ｍ、１０$^{-7}$Ｍ、５×１０$^{-8}$Ｍ、１０$^{-8}$Ｍ、５×１０$^{-9}$Ｍ、１０$^{-9}$Ｍ、５×１０$^{-10}$Ｍ、１０$^{-10}$Ｍ、５×１０$^{-11}$Ｍ、１０$^{-11}$Ｍ、５×１０$^{-12}$Ｍ、１０$^{-12}$Ｍ、５×１０$^{-13}$Ｍ、１０$^{-13}$Ｍ、５×１０$^{-14}$Ｍ、１０$^{-14}$Ｍ、５×１０$^{-15}$Ｍ及び１０$^{-15}$Ｍ未満である。さらなる特定の実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）、又は新生物、癌、腫瘍又は転移性細胞への結合に関して、約K$_d$１０$^{-5}$Ｍ～約K$_d$１０$^{-13}$Ｍの範囲内の結合親和性を有する。その他の特定の実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合に関して、又は腺癌細胞又は扁平上皮癌、例えば、胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道扁平上皮癌への結合に関して、約K$_d$１０$^{-5}$Ｍ～約K$_d$１０$^{-13}$Ｍの範囲内の結合親和性を有する。他の特定の実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは、抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合に関して、又は胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫に対する結合に関して、約K$_d$１０$^{-5}$Ｍ～約K$_d$１０$^{-13}$Ｍの範囲内の結合親和性を有する。更にその他の特定の実施形態において、抗体又は機能的フラグメントは、抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への結合に関して、又は（ｏｆ）膵臓癌ＢＸＰＣ－３細胞、結腸癌ＨＴ－２９細胞又は胃癌２３１３２／８７細胞への結合に関して約K$_d$１０$^{-5}$Ｍ～約K$_d$１０$^{-13}$Ｍの範囲内の結合親和性を有する。

【００７９】

抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はエピトープに、又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞に結合するか、又は抗原又はエピトープ又は細胞への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する抗体及び機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体よりも、相対的に高値又は低値の細胞増殖抑制又は低減活性、又は相対的に高値又は低値の細胞アポトーシス誘導又は刺激活性を有し得る。従って本発明の抗体及び機能的フラグメントは、ＢＡＲ

Ｂ４抗体が結合する細胞又は抗原又はエピトープに結合するか、細胞又は抗原又はエピトープへの結合に関してＢＡＲＢ４と競合し、そしてハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体よりも、相対的に高値又は低値の細胞増殖抑制又は低減活性、又は相対的に高値又は低値の細胞アポトーシス誘導又は刺激活性を有するものを包含する。

【００８０】

従って本発明の抗体は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体とは異なる配列を有するが、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の活性又は機能１つ以上を少なくとも部分的に保持しているものを包含する。例示される活性及び機能は、例えば、ＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞への結合；抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はＢＡＲＢ４抗体が結合するエピトープへの結合；細胞又は抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はエピトープへの結合に関してＢＡＲＢ４抗体と競合すること；細胞の成長又は増殖を抑制又は低減するか、細胞死、溶解又はアポトーシス（例えば新生物性、腫瘍又は癌又は転移性細胞）を刺激又は誘導すること；胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかの腺癌細胞又は扁平上皮癌、例えば、胃の腺癌細胞、肺の腺癌細胞、膵臓の腺癌細胞、結腸の腺癌細胞、乳房の腺癌細胞、又は食道扁平上皮癌、又はヒト腺癌、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、又はヒト生殖細胞癌腫の１つ以上に結合すること；ＢＸＰＣ－３、ＨＴ－２９又は２３１３２／８７細胞の成長又は増殖を抑制すること、又はＢＸＰＣ－３、ＨＴ－２９又は２３１３２／８７の細胞死、溶解又はアポトーシスを刺激又は誘導すること；等を包含する。

【００８１】

即ち、本発明によれば、修飾された抗体及び機能的フラグメントも提供されるが、ただし、修飾された形態は、未修飾又はレファレンスの抗体又は機能的フラグメントの活性又は機能を少なくとも一部分は保持する。１つの実施形態において、抗体又はその機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の１つ以上のアミノ酸の付加、欠失又は置換を有する重鎖又は軽鎖可変領域配列を包含するが、ただし、前記抗体又は機能的フラグメントは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示される未損傷完全長のＢＡＲＢ４抗体の少なくとも部分的な活性又は機能を保持する。種々の態様において、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の１つ以上のアミノ酸の付加、欠失又は置換を有する抗体又は機能的フラグメントは、細胞又は抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合するエピトープへの結合に関して競合する。他の態様において、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の１つ以上のアミノ酸の欠失、置換又は付加を有する抗体又は機能的フラグメントは、細胞又は抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はＢＡＲＢ４抗体が結合するエピト

ープに結合する。追加的態様において、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の１つ以上のアミノ酸の欠失、置換又は付加を有する抗体又は機能的フラグメントは、ＢＡＲＢ４抗体が増殖を抑制又は低減する細胞の増殖を抑制又は低減する。その他の態様において、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の１つ以上のアミノ酸の欠失、置換又は付加を有する抗体又は機能的フラグメントは、ＢＡＲＢ４抗体が死滅、溶解又はアポトーシスを刺激又は誘導する細胞の死滅、溶解又はアポトーシスを刺激又は誘導する。更にその他の特定の態様において、細胞の成長又は増殖は対照（未処理）細胞と相対比較して少なくとも２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７５％以上、又はこのようなパーセント値内又はこれを包含する何れかの数値又は範囲で抑制、低下又は低減される。なおその他の特定の態様において、細胞死、溶解又はアポトーシスは対照（未処理）細胞と相対比較して少なくとも２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７５％以上、又はこのようなパーセント値内又はこれを包含する何れかの数値又は範囲にある。

【００８２】

本明細書において使用する場合、「修飾する」という用語及びその文法的変化形は、組成がレファレンス組成から逸脱することを意味する。そのように修飾された蛋白、核酸及び他の組成物はレファレンスの未修飾の蛋白、核酸又は組成物より高値又は低値の活性、又はそれとは区別可能な機能を有し得る。

【００８３】

置換、付加及び欠失を包含する修飾はまた、「変異体」とも称することができる。アミノ酸変異体の具体的な非限定的な例として、抗原（例えば、ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）及びＢＡＲＢ４抗体フラグメント及びサブ配列が挙げられる。例示されるＢＡＲＢ４標的サブ配列及びフラグメントは、例えば、ＢＡＲＢ４標的の一部分、例えばＴＡＦ１５ポリペプチド配列の一部分、ＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームの一部分、炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチド配列又はＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームの一部分、又は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に結合する一部分を含む。例示されるＢＡＲＢ４抗体のサブ配列及びフラグメントは、例えば、細胞又は抗原への結合に関してＢＡＲＢ４抗体と少なくとも部分的に競合するか、又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原に対して少なくとも部分的に結合活性を保持しているか、又はＢＡＲＢ４抗体が増殖を抑制又は低減する細胞の増殖を抑制又は低減する能力を保持しているか、又はＢＡＲＢ４抗体が死滅、溶解又はアポトーシスを刺激又は誘導する細胞の死滅、溶解又はアポトーシスを刺激又は誘導する能力を保持している、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の一部分を含む。

【００８４】

本明細書において使用する場合、「フラグメント」又は「サブ配列」という用語は完全長の分子の一部分を意味する。即ち、抗原又は抗体のフラグメント又はサブ配列は完全長未損傷のレファレンスの抗原又は抗体よりも１つ以上少ないアミノ酸を有する（例えば重鎖又は軽鎖の可変又は定常領域のアミノ又はカルボキシ末端の何れかからの、１つ以上の内部又は末端のアミノ酸の欠失）。核酸フラグメントは完全長の比較核酸配列よりも少なくとも１つ少ないヌクレオチドを有する。従ってフラグメントは何れかの長さから完全長のネイティブの分子であることができる。

【００８５】
「機能的フラグメント」及び「機能的サブ配列」という用語は、抗体に言及している場合、機能又は活性を有する抗体の一部分を指す。例えば、機能的フラグメントは、未損傷のレファレンスの抗原又は抗体としての、１つ以上の部分的機能又は活性を保持し得る。例えば、ＢＡＲＢ４標的は、配列番号１１又は１２と少なくとも部分的に同一である配列を有する一部分、ＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームの一部分、炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチド配列又はＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォームの一部分、又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に結合する一部分を含む。ＢＡＲＢ４抗体に関しては、機能的サブ配列は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示される完全長実損傷のＢＡＲＢ４抗体の細胞又は抗原又はエピトープへの結合に関して競合するか、又は、完全長の未損傷ＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原又はエピトープに結合するサブ配列を包含することができ、そして機能的サブ配列とみなされる。

【００８６】
単鎖抗体を包含する抗体フラグメントは全て又は一部分の重鎖又は軽鎖の可変領域（例えば１つ以上のＣＤＲ、例えばＣＤＲ１、ＣＤＲ２又はＣＤＲ３）を単独で、又はヒンジ領域、ＣＨ１、ＣＨ２、及びＣＨ３ドメインの１つ以上の全て又は一部分と組み合わせて包含できる。また包含されるものはヒンジ領域、ＣＨ１、ＣＨ２、及びＣＨ３ドメインとの重鎖又は軽鎖の可変領域（例えば１つ以上のＣＤＲ、例えばＣＤＲ１、ＣＤＲ２又はＣＤＲ３）の何れかの組み合わせの抗原結合サブ配列である。

【００８７】
本発明の例示される抗体サブ配列及びフラグメントは、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、Ｆｄ、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、ジスルフィド連結Ｆｖｓ（ｓｄＦｖ）、V_L及びV_Hドメインフラグメント、三重特異性（Ｆａｂ$_3$）、二重特異性（Ｆａｂ$_2$）、ダイアボディー（（V_L-V_H）$_2$又は（V_H-V_L）$_2$）、トリアボディー（３価）、テトラボディー（４価）、ミニボディー（（ｓｃＦＶ－C_H３）$_2$）、二重特異性単鎖Ｆｖ（Ｂｉｓ－ｓｃＦｖ）、ＩｇＧデルタＣＨ２、ｓｃＦｖ－Ｆｃ及び（ｓｃＦｖ）$_2$－Ｆｃを包含する。このようなサブ配列及びフラグメントは完全長抗体としての結合親和性、完全長抗体としての結合特異性、又は完全長抗体としての活性又は機能の１つ以上、例えば、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の機能又は活性を有することができる。

【００８８】
抗体のサブ配列及びフラグメントは組み合わせることができる。例えばV_L又はV_Hサブ配列はリンカー配列により連結してV_L-V_Hキメラを形成できる。特にハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１、３、５又は７として示される重鎖可変配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の重鎖可変配列はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号９として示される軽鎖可変配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の軽鎖可変配列と組み合わせることができる。従って本発明は１）ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号１、３、５又は７として示される重鎖可変配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の重鎖可変配列；及び２）ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又は配列番号９として示される軽鎖可変配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の軽鎖可変配列を、単独又は相互に組み合わせて、提供するものである。単鎖Ｆｖｓ（ｓｃＦｖ）サブ配列の組み合わせは、リンカー配列により連結することによりｓｃＦｖ－ｓｃＦＶキメラを形成できる。抗体配列及びフラグメントは単独又は他のサブ配列の全て又は一部分と組み合わせた単鎖の抗体又は

可変領域を包含する。

【００８９】

修飾された蛋白は更に、アミノ酸置換を包含する。置換は保存的又は非保存的であることができる。抗体の場合、置換はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の定常又は可変（例えば超可変、例えばＣＤＲ又はＦＲ）領域にあり得る。特定の実施形態において、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示される修飾されたＢＡＲＢ４抗体は１つ又は数個の保存的又は非保存的なアミノ酸置換を有する。

【００９０】

抗原結合に寄与する抗体の構造決定因子、例えば超可変領域内部の相補性決定領域（ＣＤＲ、そのうち３つは各々重鎖及び軽鎖配列にあり、簡便のためにＨＣ－ＣＤＲ１、ＨＣ－ＣＤＲ２及びＨＣ－ＣＤＲ３；及びＬＣ－ＣＤＲ１、ＬＣ－ＣＤＲ２及びＬＣ－ＣＤＲ３と称される）は当業者の知る通りである。Ｄ及びＪ領域のような追加的領域の位置もまた当業者の知る通りである。ＣＤＲ配列１つ以上がハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に対して十分な配列同一性を有している抗体及びそのサブ配列は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の機能又は活性、例えば細胞又は抗原（配列番号１１又は１２に少なくとも部分的に同一である配列の一部分を含むＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）結合、結合親和性（例えばK_d）、細胞増殖抑制、又は細胞アポトーシスの刺激又は誘導等、を少なくとも部分的に保持している。

【００９１】

従って、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の定常又は可変領域におけるアミノ酸置換は耐容されると考えられる。ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体のＣＤＲの外部の可変領域にある１つ又は数個の置換もまた、少なくとも部分的な細胞又は抗原結合活性が保持されているか、又は部分的な細胞増殖抑制又はアポトーシス刺激又は誘導活性が保持されている程度にまでは、少なくとも同様に耐容されると考えられる。ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体のＣＤＲにおける１つ又は数個の保存的置換もまた、少なくとも部分的な細胞又は抗原の結合活性が保持されている（即ち細胞又は抗原の結合が破壊されていない）か、又は部分的な細胞増殖抑制又はアポトーシス刺激又は誘導活性が保持されている程度にまでは、少なくとも同様に耐容されると考えられる。ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の超可変領域（例えばＣＤＲ）における多くのアミノ酸の非保存的置換は、細胞又は抗原の結合活性、結合親和性（例えばK_d）、又は抗体の機能又は活性、例えば細胞増殖抑制、細胞のアポトーシスを刺激又は誘導すること等の１つ以上に影響すると考えられる。

【００９２】

「保存的置換」は１つのアミノ酸の、生物学的、化学的又は構造的に類似の残基による置き換えである。生物学的に類似とは、置換が、生物学的活性、例えば細胞結合又は細胞増殖抑制又はアポトーシス誘導又は刺激活性を破壊しないことを意味している。構造的に

類似とは、アミノ酸が類似の長さ、例えばアラニン、グリシン及びセリン、又は同様の大きさを有する側鎖を有することを意味する。化学的類似性は、残基が同じ電荷を有するか、両方とも親水性又は疎水性であることを意味する。特定の例として、１つの疎水性残基、例えばイソロイシン、バリン、ロイシン又はメチオニンが別の残基で置換、又は１つの極性残基が別の残基で置換、例えばアルギニンがリジンで置換、グルタミンがアスパラギン酸で置換、又はグルタミンがアスパラギンで置換、セリンがスレオニンで置換等が挙げられる。

【００９３】

特定の実施形態においては、重鎖又は軽鎖の超可変領域の配列又はその内部の領域、例えばＣＤＲ（ＣＤＲ１、ＣＤＲ２又はＣＤＲ３）又はＦＲは１～１０、１～５、１～３以下（例えば１又は２）のアミノ酸置換を有する。さらなる実施形態においては、重鎖又は軽鎖の超可変領域配列内部のアミノ酸置換は１つのより多いＣＤＲ内にはない。追加的実施形態において、重鎖又は軽鎖の超可変領域配列内部の置換はＣＤＲ内にはない。別の実施形態においては、超可変領域配列内部の置換はＦＲ内にはない。

【００９４】

所定の修飾の作用は、細胞又は抗原（ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）結合活性、親和性又は抗体機能又は未修飾の抗体、例えばハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の活性の少なくとも一部分を保持している抗体及び機能的フラグメントを識別するために、容易にアッセイできる。例えば、可変領域（例えばハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７又は９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体のＣＤＲ１，ＣＤＲ２又はＣＤＲ３の内部又は外部）におけるアミノ酸置換は、細胞又は抗原（ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）結合、細胞増殖抑制又は低減活性、細胞死、溶解又はアポトーシスを誘導又は刺激すること等に関してアッセイできる。

【００９５】

局部的突然変異可能性分析は相補性決定領域（ＣＤＲ）及びフレームワーク領域（ＦＲ）における特定の置換の作用を予測するために使用できる（Ｓｈａｐｉｒｏら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６３：２５９（１９９９））。概説すると、配列の比較は、多かれ少なかれ突然変異可能である領域を予測するＩｇイントロンＤＮＡ内部に位置するジ及びトリヌクレオチド配列のうち、突然変異可能性の階層構造を示す。定量的構造－活性関連性（ＱＳＡＲ）を用いることにより抗体認識ドメイン、ひいてはリガンド結合に関与するアミノ酸の性質を識別することができる。ＯＳＡＲに基づく予測的モデルは次に置換（突然変異）の作用を予測するために使用できる。例えば抗体がそれ自体の抗原と相互作用する場合の会合及び解離の速度に対する突然変異の作用は、両方の速度（K_a及びK_d）定数に関わる定量的予測的モデルを構築するために使用されており、これらは次に抗体に対する他の突然変異の作用を予測するために使用される（Ｄｅ　Ｇｅｎｓｔら、Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ．２７７：２９８９７（２００２））。従って当業者は、そのような分析を用いることにより、非置換の抗体又は機能的フラグメントの少なくとも部分的な活性又は機能を保持している抗体又は機能的フラグメントをもたらすと考えられる抗体及び機能的フラグメントのアミノ酸置換を識別することができる。

【００９６】

アミノ酸置換は天然に存在するＬ－アミノ酸がＤ－型のアミノ酸で置換されることを除き、同じアミノ酸によるものであってよい。従って修飾はＬ－アミノ酸に対して置換されたＤ－アミノ酸の１つ以上、又はＬ－アミノ酸に対して置換されたＤ－アミノ酸の混合物を包含する。修飾はまた、構造的及び機能的な類縁体、例えば合成又は非天然のアミノ酸又はアミノ酸の類縁体又は誘導体の形態を有するペプチドミメティックを包含する。

【００９７】

修飾された形態は更に、誘導体化された配列、例えば、遊離のアミノ基がアミン塩酸塩を形成するアミノ酸、ｐ－トルエンスルホニル基、カルボベンゾキシ基；塩、メチル及びエチルエステル由来の遊離のカルボキシ基；Ｏ－アシル又はＯ－アルキル誘導体を形成する遊離のヒドロキシル基、並びに天然に存在するアミノ酸誘導体、例えばプロリンに関しては４－ヒドロキシプロリン、リジンに関しては５－ヒドロキシリジン、セリンに関してはホモセリン、リジンに関してはオルニチン等を包含する。修飾は当該分野で知られた方法（例えばＰＣＲ系部位指向性の欠失及び挿入の突然変異誘発、化学的な修飾及び突然変異誘発、交差結合等）を用いて生じさせることができる。

【００９８】

修飾された形態は付加及び挿入を包含する。例えば付加は、蛋白（例えば抗体）、核酸又は他の組成物への何れかの型の分子の共有結合又は非共有結合による連結であることができる。典型的には、付加及び挿入により異なる機能又は活性がもたらされる。

【００９９】

付加及び挿入は融合（キメラ）ポリペプチド又は核酸配列を包含し、これは配列に共有結合したレファレンスのネイティブ（野生型）配列中に通常は存在しない分子１つ以上を有する配列である。特定の例は多機能性の蛋白（例えば多重特異性抗体）を生成するための別の蛋白（例えば抗体）のアミノ酸配列である。

【０１００】

本発明によれば、異種ドメインを包含する抗体、核酸、及び他の組成物が提供される。即ち、異種ドメインは種々の異なる型の何れかの小型又は大型の機能的部分よりなることができる。そのような部分は核酸、ペプチド、炭水化物、脂質又は小型の有機化合物、例えば薬物（例えば細胞増殖剤）、金属（金、銀）などを包含する。異種ドメインはアミノ酸の付加又は挿入であることができる。

【０１０１】

異種ドメインの特定の非限定的な例として、例えばタグ、検出可能な標識及び細胞毒性剤が挙げられる。タグ及び検出可能な標識の具体的な例として、酵素（セイヨウワサビパーオキシダーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、アルカリホスファターゼ、ベーターガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ）；酵素基質；リガンド（例えばビオチン）；受容体（アビジン）；放射性核種（例えばC^{14}、S^{35}、P^{32}、P^{33}、H^{3}、I^{125}、I^{131}、ガリウム－６７及び６８、スカンチウム－４７、インジウム－１１１、ラジウム－２２３）；Ｔ７－タグ、Ｈｉｓ－タグ、ｍｙｃ－タグ、ＨＡ－タグ及びＦＬＡＧ－タグ；高電子密度試薬；エネルギー転移分子；常磁性標識；フルオロフォア（フルオレセイン、ローダミン、フィコエリスリン）；発色団；ケミルミネセント（イミダゾール、ルシフェラーゼ）；及び生物発光剤が挙げられる。細胞毒性剤の具体的な例として、ジフテリア、毒素、コレラ毒素及びリシンが挙げられる。

【０１０２】

異種ドメインのさらなる例として、例えば抗細胞増殖剤（例えば抗新生物、抗腫瘍又は抗癌又は抗転移剤）が挙げられる。抗細胞増殖剤の具体的な非限定的な例は本明細書に開示する通りであり、そして当該分野で知られている。

【０１０３】

リンカー配列は、２つの実体が少なくとも部分的に区別される機能又は活性を維持するように、蛋白（例えば抗体）、核酸、又は他の組成物及び付加又は挿入（例えば異種ドメイン）の間に挿入してよい。リンカー配列は可撓性の構造、秩序のある二次構造を形成できないこと、又は、いずれかのドメインを促進又はこれと相互作用できる疎水性又は荷電した性質を包含する特性の１つ以上を有し得る。可撓性蛋白領域中に典型的に見られるアミノ酸はＧｌｙ、Ａｓｎ及びＳｅｒを包含する。他のほぼ中性のアミノ酸、例えばＴｈｒ及びＡｌａもまたリンカー配列において使用され得る。リンカー配列の長さは変動し得る（例えば米国特許６，０８７，３２９参照）。リンカーは更に、化学的交差結合及びコンジュゲート形成剤、例えばスルホスクシンイミジル誘導体（スルホ－ＳＭＣＣ、スルホ－ＳＭＰＢ）、ジスクシンイミジルズベレート（ＤＳＳ）、ジスクシンイミジルグルタレー

ト（ＤＳＧ）及びジスクシンイミジルタートレート（ＤＳＴ）を包含する。

【０１０４】

付加のさらなる例として、グリコシル化、脂肪酸、脂質、アセチル化、ホスホリル化、アミド化、ホルミル化、ユビキチン化、及び保護／ブロッキング基による誘導体化、及び多くの化学修飾の何れかが挙げられる。他の順列及び可能性は当業者に明らかであり、本発明の範囲内に包含されるものとみなす。

【０１０５】

組成物の修飾語として使用される「単離された」という用語は、組成物が人間の手により作成されるか、又は他の成分１つ以上からそれらが天然に存在するインビボの環境において分離されることを意味する。一般的にこのようにして分離された組成物はそれらが自然界で通常会合している物質１つ以上、例えば蛋白、核酸、脂質、炭水化物、細胞膜１つ以上を実質的に伴わない。即ち、単離された組成物は、組成物が天然に存在する生物の細胞野中の他の生物学的成分から、又はそれが（例えば合成によるか、細胞培養を介して）生産された人工的な培地から、実質的に分離されている。例えば、単離されたポリペプチドは、他のポリペプチド及び核酸から実質的に分離され、そして例えばポリペプチド、ゲノム又はｃＤＮＡライブラリのようなポリペプチド又は核酸配列の数百万の中に存在するポリペプチド又はポリヌクレオチドのライブラリを包含しない。単離された核酸は他のポリペプチド及び核酸から実質的に分離され、そして例えばポリペプチド、ゲノム又はｃＤＮＡライブラリのようなポリペプチド又は核酸配列の数百万の中に存在するポリペプチド又はポリヌクレオチドのライブラリを包含しない。「単離された」という用語は組成物の代替的な物理的形態を排除せず、例えば、単離された蛋白は、蛋白の多量体、翻訳後修飾（例えばグリコシル化、ホスホリル化）又は誘導体化された形態を包含し得る。

【０１０６】

組成物の修飾語として使用される「精製された」という用語は、それ自体が典型的には自然界で会合している物質の大部分又は全てを伴っていない組成物を指す。即ち、細胞から分離された蛋白は、標準的な方法により細胞成分から分離されている場合に実質的に精製されているとみなされるのに対し、化学合成された核酸配列はその化学的前駆体から分離されている場合に実質的に精製されたとみなされる。従って精製されたとは、完全に純粋であることを必要としない。更に又、「精製された」組成物は他の分子１つ以上と組み合わせることができる。即ち、「精製された」という用語は組成物の組み合わせを排除しない。

【０１０７】

「精製された」蛋白及び核酸は、標準的な精製方法により生産された蛋白及び核酸を包含する。用語は又、宿主細胞内の組み換え発現、並びに化学合成により生産された蛋白及び核酸を包含する。「精製された」とは又、夾雑物のレベルがヒト及び非ヒト動物への投与に関する規制機関、例えば食品医薬品局（ＦＤＡ）に許容されるレベル未満である組成物を指す。

【０１０８】

実質的に純粋であることは、質量において分子の少なくとも約６０％以上であり得る。純度は又約７０％又は８０％以上であり得、そしてより高値、例えば９０％以上であり得る。純度は例えば薬学的担体においては低値であり得、分子の重量％による量は６０％未満であり得るが、分子の相対的比率は、それが通常会合している他の成分と比較してより高値となる。純度は何れかの適切な方法、例えばＵＶスペクトル分析、クロマトグラフィー（例えばＨＰＬＣ、気相）、ゲル電気泳動（例えば銀又はクーマシー染色）及び配列分析（ペプチド及び核酸）により測定できる。

【０１０９】

ポリクローナル及びモノクローナル抗体を作成する方法は当該分野で知られている。例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム、又はその免疫原性フラグメントは場合により担体、例えばキーホールリンペットヘモシアニン（ＫＬＨ）又は卵白アルブミン（例えばＢＳＡ）にコンジュゲートするか、又はアジュ

バント、例えばフロイントの完全又は不完全アジュバントと混合し、そして動物を免疫化するために使用する。従来のハイブリドーマ技術を用いながら、ＢＡＲＢ４標的に応答する免疫化された動物に由来する脾細胞を単離し、骨髄腫細胞に融合させることができる。ハイブリドーマにより生産されたモノクローナル抗体はＢＡＲＢ４標的との反応性を目標としてスクリーニングすることができる。

【０１１０】

細胞又は抗原への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する抗体は従来の競合的結合アッセイを用いながらスクリーニングし、そして同定することができる。スクリーニングされた抗体は細胞又は抗原への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合する能力に基づいて選択される。細胞又は抗原への結合に関してＢＡＲＢ４抗体と競合する、又は、細胞又は抗原へのＢＡＲＢ４抗体の結合を抑制、防止又はブロックする抗体の能力は、当該分野で知られた種々のアッセイ、例えば酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）により測定できる。

【０１１１】

蛋白及び抗体、そのサブ配列及びフラグメント、並びに他の修飾された配列は、遺伝子的方法により作成できる。そのような手法はＣｏｓ細胞又は大腸菌のような宿主細胞内への蛋白又は抗体をコードする遺伝子の全て又は一部分の発現を包含する。そのような宿主細胞は完全長又はフラグメント、例えばｓｃＦｖを発現できる（例えばＷｈｉｔｌｏｗら、Ｉｎ：Ｍｅｔｈｏｄｓ：Ａ　Ｃｏｍｐａｎｉｏｎ　ｔｏ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ２：９７（１９９１），Ｂｉｒｄら、Ｓｃｉｅｎｃｅ２４２：４２３（１９８８）；及び米国特許４，９４６，７７８参照）。抗体及び機能的フラグメント及び核酸配列は又、当業者に知られた方法を用いた化学合成により作成することもでき、例えば自動化ペプチド合成装置を使用できる（例えばＡｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，ＣＡ参照）。抗体及び機能的フラグメントは当該分野で知られた種々のアッセイ、例えば酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ファージディスプレイ、リボソームを介した蛋白－ｍＲＮＡ連結及びｍＲＮＡディスプレイ、コウボ、細菌、哺乳類細胞又はレトロウィルス上のディスプレイ、インビトロのコンパートメント化を介したマイクロビーズ、蛋白－ＤＮＡディスプレイ、コウボ２－ハイブリッドを介した成長選択、蛋白フラグメント相補（Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ，Ｒ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２３：１１０５（２００５））を用いながらスクリーニング又は選択することができる。

【０１１２】

抗体を形成するために適当である細胞又は抗原（ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）は当該分野で知られた種々の何れかの標準的な蛋白精製又は組み換え発現の手法により作成できる。例えば、ＢＡＲＢ４標的は細胞、例えばＢＸＰＣ－３細胞（ＡＴＣＣ寄託番号ＣＲＬ－１６８７；Ｐ．Ｏ．Ｂｏｘ１５４９　Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ，２０１０８，ＵＳＡ）又は２３１３２／８７細胞（ＤＳＭＺ寄託番号ＡＣＣ２０１；Ｄｅｕｔｓｃｈｅ　Ｓａｍｍｌｕｎｇ　ｖｏｎ　Ｍｉｋｒｏｏｒｇａｎｉｓｍｅｎ　ｕｎｄ　Ｚｅｌｌｋｕｌｔｕｒｅｎ　ＧｍｂＨ（Ｇｅｒｍａｎ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ　ｏｆ　Ｍｉｃｒｏｏｒｇａｎｉｓｍｓ　ａｎｄ　Ｃｅｌｌ　Ｃｕｌｔｕｒｅｓ），Ｉｎｈｏｆｆｅｎｓｔｒａｓｅ７Ｂ３８１２４　Ｂｒａｕｎｓｃｈｗｅｉｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ）上に存在する。従って、そのような細胞の全細胞、又は調製物、細胞抽出液又は画分は、細胞又は抗原への結合に関してハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と競合するか、又は例えばハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、

又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原（ＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）に結合する抗体を作成するために動物を免疫化するために使用できる。

【０１１３】

免疫化され得る動物は、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、ウシ又は虚勢ウシ、モルモット又は霊長類を包含する。初回及び何れかの最適なその後の免疫化を、静脈内、腹腔名、筋肉内、又は皮下の経路を通して行ってよい。その後の免疫化はＢＡＲＢ４抗原プレパレーションの同じか異なる濃度であってよく、そして定期的又は不定期の間隔であってよい。

【０１１４】

動物はヒトＩｇＧ遺伝子遺伝子座を包含するように遺伝子的に修飾されたものを包含し、したがってそれはヒト抗体を作成するために使用できる。内因性免疫グロブリンを発現しないヒト免疫グロブリン遺伝子の１つ以上を有するトランスジェニック動物は、例えば米国特許５，９３９，５９８に記載されている。ヒトポリクローナル抗体及びヒトモノクローナル抗体を作成するためのさらなる方法も記載されている（例えばＫｕｒｏｉｗａら、Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２０：８８９（２００２）；ＷＯ９８／２４８９３；ＷＯ９２／０１０４７；ＷＯ９６／３４０９６；ＷＯ９６／３３７３５；米国特許５，４１３，９２３；５，６２５，１２６；５，６３３，４２５；５，５６９，８２５；５，６６１，０１６；５，５４５，８０６；５，８１４，３１８；５，８８５，７９３；５，９１６，７７１；及び５，９３９，５９８参照）。ヒト抗体を作成するための技術の概説はＬｏｎｂｅｒｇ ａｎｄ Ｈｕｓｚａｒ（Ｉｎｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３：６５（１９９５））に記載されている。

【０１１５】

抗体は又、他の手法、例えばハイブリドーマ、組み換え体、及びファージディスプレイ技術、又はこれらの組み合わせを用いて形成することもできる（米国特許４，９０２，６１４、４，５４３，４３９及び４，４１１，９９３参照；更にＭｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ：Ａ Ｎｅｗ Ｄｉｍｅｎｓｉｏｎ ｉｎ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｎａｌｙｓｅｓ，Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｒｅｓｓ，Ｋｅｎｎｅｔｔ，ＭｃＫｅａｒｎ，ａｎｄ Ｂｅｃｈｔｏｌ（編）、１９８０、及びＨａｒｌｏｗら、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、第２版１９８８参照）。

【０１１６】

抗体のサブ配列及びフラグメントは例えば抗体全体のペプシン又はパパイン消化による、抗体の蛋白分解性加水分解により製造できる。ペプシンによる酵素的切断により作成された抗体のサブ配列及びフラグメントはＦ（ａｂ’）$_2$と標記される５Ｓフラグメントを与える。このフラグメントを更にチオール還元剤で切断して３．５ＳＦａｂ’１価フラグメントを生成できる。或いは、ペプシンを用いた酵素的切断は２つの１価のＦａｂ’フラグメント及びＦｃフラグメントを直接生成する（例えば米国特許４，０３６，９４５及び４，３３１，６４７；及びＥｄｅｌｍａｎら、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｙｍｏｌ．１：４２２（１９６７）参照）。単鎖Ｆｖ及び抗体は米国特許４，９４６，７７８及び５，２５８，４９８；Ｈｕｓｔｏｎら、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．２０３：４６（１９９１）；Ｓｈｕら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９０：７９９５（１９９３）；及びＳｋｅｒｒａら、Ｓｃｉｅｎｃｅ２４０：１０３８（１９８８）に記載の通り作成できる。抗体を切断するその他の方法、例えば重鎖の分離により１価の軽鎖－重鎖フラグメントを形成すること、更にフラグメントを切断すること、又は他の酵素的又は化学的方法も使用し得る。

【０１１７】

改変された特性、例えば増大した結合親和性を有する修飾された抗体及び機能的フラグメントは当業者に公知の方法を用いて作成できる。例えば親和性成熟の手法を用いること

により抗体の結合親和性を向上させることができる（ＵＳ２００４／０１６２４１３Ａ１；米国特許６，６５６，４６７、６，５３１，５８０、６，５９０，０７９及び５，９５５，３５８；Ｆｉｅｄｌｅｒら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．１５：９３１（２００２）；Ｐａｎｃｏｏｋら、Ｈｙｂｒｉｄ．Ｈｙｂｒｉｄｏｍｉｃｓ２０：３８３（２００１）；Ｄａｕｇｈｅｒｔｙら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．１１：８２５（１９９８）；Ｗｕら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９５：６０３７（１９９８）；及び、Ｏｓｂｏｕｒｎら、Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ２：１８１（１９９６））。

【０１１８】

抗体は当該分野で公知の種々の方法、例えば、ＣＤＲ－グラフティング（ＥＰ２３９，４００；Ｗ０９１／０９９６７；米国特許５，２２５，５３９；５，５３０，１０１；及び５，５８５，０８９）、ベニアリング又はリサーフィシング（ＥＰ５９２，１０６；ＥＰ５１９，５９６；Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２８：４８９（１９９１）；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ７：８０５（１９９４）；Ｒｏｇｕｓｋａ．ら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９１：９６９（１９９４））及びチェインシャフリング（米国特許５，５６５，３３２）を用いてヒト化できる。ヒトコンセンサス配列（Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３１：１６９（１９９４）；及びＰａｄｌａｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２８：４８９（１９９１））は以前にヒト化抗体を製造するために使用されている（Ｃａｒｔｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８９：４２８５（１９９２）；及びＰｒｅｓｔａら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２６２３（１９９３））。

【０１１９】

キメラ抗体を製造するための方法は当業者の知る通りである（例えばＭｏｒｒｉｓｏｎ，Ｓｃｉｅｎｃｅ２２９：１２０２（１９８５）；Ｏｉら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ４：２１４（１９８６）；Ｇｉｌｌｉｅｓら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １２５：１９１（１９８９）；及び米国特許５，８０７，７１５；４，８１６，５６７；及び４，８１６，３９７）。１つの種の抗体に由来する可変ドメインが別の種の可変ドメインに対して置換されているキメラ抗体は例えばＭｕｎｒｏ，Ｎａｔｕｒｅ３１２：５９７（１９８４）；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒら、Ｎａｔｕｒｅ３１２：６０４（１９８４）；Ｓｈａｒｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ３０９：３６４（１９８４）；Ｍｏｒｒｉｓｏｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８１：６８５１（１９８４）；Ｂｏｕｌｉａｎｎｅら、Ｎａｔｕｒｅ３１２：６４３（１９８４）；Ｃａｐｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ３３７：５２５（１９８９）；及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒら、Ｎａｔｕｒｅ３３９：６８（１９８９）に記載されている。

【０１２０】

抗体の方法においてさらに使用され得る適当な手法は親和性精製、非変性ゲル精製、ＨＰＬＣ又はＲＰ－ＨＰＬＣ、サイズエクスクルージョン、プロテインＡカラム上の精製、又はこれらの手法の何れかの組み合わせを包含する。抗体アイソタイプはＥＬＩＳＡアッセイを用いながら決定することができ、例えば、ヒトＩｇはマウスＩｇ吸収抗ヒトＩｇを用いながら識別できる。

【０１２１】

本発明によれば、抗体及び機能的フラグメントを製造する方法が更に提供される。１つの実施形態において方法は、動物に抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム、ＢＡＲＢ４抗体に結合するＴＡＦポリペプチド、又は炭水化物部分を含むＴＡＦポリペプチド）、又は抗原（ＢＡＲＢ４標的、例えば腫瘍又は癌細胞により発現されるＴＡＦ１５ポリペプチド）を発現する細胞を投与すること、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）を発現する細胞に結合する抗体の発現のために動物をスクリーニングすること、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）を発現する細胞に結合する抗体を生産する動物を選択すること、及び選択された動物から抗体を単離すること、を包含する。別の実施形態においては、方法はヒト免疫グロブリンを発現することができる動物に抗原（例えばＢＡＲ

Ｂ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム、ＢＡＲＢ４抗体に結合するＴＡＦポリペプチド、又は炭水化物部分を含むＴＡＦポリペプチド）、又は抗原（ＢＡＲＢ４標的、例えば腫瘍又は癌細胞により発現されるＴＡＦ１５ポリペプチド）を発現する細胞を投与すること、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）を発現する細胞に結合する抗体を生産する動物から脾細胞を単離すること、脾細胞を骨髄腫細胞と融合してハイブリドーマを作成すること、及び抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的）を発現する細胞に結合する抗体の発現のためにハイブリドーマをスクリーニングすること、を包含する。

【０１２２】

本発明によれば、本明細書に記載する通り、抗原、抗体及び抗体の機能的フラグメントを発現する宿主細胞が提供される。特定の実施形態においては、宿主細胞は精製又は単離され、そして場合により、発現された抗原、抗体又は機能的フラグメントをコードする核酸により形質転換されていない。追加的実施形態において、宿主細胞は、配列番号１１又は１２のようなＴＡＦポリペプチドに対して５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％以上の配列同一性を有する配列を有する抗原を発現する。その他の実施形態において、宿主細胞はＢＡＲＢ４抗体、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に対して５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％以上の配列同一性を有する重鎖又は軽鎖の配列を包含する抗体又は機能的フラグメントを発現する。更にその他の実施形態において、宿主細胞はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の重鎖可変領域配列又は軽鎖可変領域配列におけるＣＤＲ１つ以上に対して少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、９５～１００％同一性を有する重鎖又は軽鎖配列を発現する。

【０１２３】

本発明によれば、単離及び精製された核酸が提供される。本発明の核酸は、特に、１）抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）をコードする、２）ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に構造的又は機能的に関連する抗体及び機能的フラグメントをコードする；３）配列番号１、３、５、７又は９、又は配列番号１、３、５、７又は９の配列の全て又は一部分（例えばＣＤＲ１つ以上）を包含する抗体及び機能的フラグメントをコードする；４）抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）をコードする核酸配列とある程度の相補性又は同一性を示す；５）ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と配列同一性を有する抗体及び機能的フラグメントをコードする核酸配列とある程度の相補性又は同一性を示す；６）抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）をコードする配列にハイブリダイズする；及び７）ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体と配列同一性を有する抗体及び機能的フラグメントをコードする配列にハイブリダイズする核酸配列を包含する。

【０１２４】

特定の実施形態においては、核酸配列はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の重鎖又は軽鎖の配列又はその機能的フラグメントをコードする。別の実施形態においては、核酸配列は配列番号１、

３、５又は７をコードする核酸配列に７５～１００％相補又は同一である。その他の実施形態において、核酸配列は配列番号９をコードする核酸配列に７５～１００％相補又は同一である。

【０１２５】

ＢＡＲＢ４、それぞれ配列番号２、４、６及び８；及び１０で示される重鎖及び軽鎖の可変領域配列を示す。

ＢＡＲＢ４重鎖の核酸配列（ＶＨ：配列番号２）：

【０１２６】

【化１０】

```
CAGGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGGAGGC GTGGTCCAGC
CTGGGAGGTC CCTAAGACTC TCCTGTGCAG CCTCTGGATT
CAGGTTCACT ACACACGGCA TGCACTGGGT CCGCCAGGCT
CCAGGCAAGG GGCTGGAGTG GGTGGCAGTT ATATCATATA
ATGGAAGAAA CAAATACTAT GCAGACTACG TGAACGGCCG
ATTCACCATC TCCAGAGACG ATTCCAGGGA CACGGTGTTT
CTGCAAATGA ACAGCCTGAG ACCTGAGGAC ACGGCTATGT
ACTACTGTGC GAAAGTTAGG GGCGATGGCT ACGGTGACTA
TGGCTACTTT GACTACTGGG GCCACGGAAC CCTGGTCAGC
GTCTCCTCA
```

ＢＡＲＢ４重鎖の核酸配列（４．１ＶＨ；配列番号４）：

【０１２７】

【化１１】

```
GAGGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGGAGGC GTGGTCCAGC
CTGGGAGGTC CCTAAGACTC TCCTGTGCAG CCTCTGGATT
CAGGTTCACT ACACACGGCA TGCACTGGGT CCGCCAGGCT
CCAGGCAAGG GGCTGGAGTG GGTGGCAGTT ATATCATATA
ATGGAAGAAA CAAATACTAT GCAGACTACG TGAACGGCCG
ATTCACCATC TCCAGAGACG ATTCCAGGGA CACGGTGTTT
CTGCAAATGA ACAGCCTGAG ACCTGAGGAC ACGGCTATGT
ACTACTGTGC GAAAGTTAGG
GGCGATGGCT ACGGTGACTA TGGCTACTTT GACTACTGGG
GCCACGGAAC CCTGGTCAGC GTCTCCTCA
```

ＢＡＲＢ４重鎖の核酸配列（４．２ＶＨ；配列番号６）：

【０１２８】

【化１２】

```
GAAGTGCAGC TGGTGGAAAG CGGCGGCGGC CTGGTGCAGC
CGGGCGGGTC CCTGAGACTC TCCTGTGCAG CCTCTGGATT
```

【０１２９】

【化１３】

```
CAGGTTCACT ACACACGGCA TGCACTGGGT CCGCCAGGCT
CCAGGCAAGG GGCTGGAGTG GGTGGCAGTT ATATCATATA
ATGGAAGAAA CAAATACTAT GCAGACTACG TGAACGGCCG
ATTCACCATC TCCAGAGACG ATTCCAGGGA CACGGTGTTT
CTGCAAATGA ACAGCCTGAG ACCTGAGGAC ACGGCTATGT
ACTACTGTGC GAAAGTTAGG GGCGATGGCT ACGGTGACTA
TGGCTACTTT GACTACTGGG GCCACGGAAC CCTGGTCAGC
GTCTCCTCA
```

ＢＡＲＢ４重鎖の核酸配列（４．３ＶＨ；配列番号８）：

【０１３０】

【化１４】

```
CAGGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGGAGGC GTGGTCCAGC
CTGGGAGGTC CCTAAGACTC TCCTGTGCAG CCTCTGGATT
CAGGTTCACT ACACACGGCA TGCACTGGGT CCGCCAGGCT
CCAGGCAAGG GGCTGGAGTG GGTGGCAGTT ATATCATATA
ATGGAAGAAA CAAATACTAT GCAGACTACG TGAACGGCCG
ATTCACCATC TCCAGAGACG ATTCCAGGGA CACGGTGTTT
CTGCAAATGA ACAGCCTGAG ACCTGAGGAC ACGGCTATGT
ACTACTGTGC GAAAGTTAGG
GGCGATGGCT ACGGTGACTA TGGCTACTTT GACTACTGGG
GCCACGGAAC CCTGGTCACC GTCTCCTCA
```

ＢＡＲＢ４軽鎖の核酸配列（ＶＬ；配列番号１０）：

【０１３１】
【化１５】
CAGTCTGCCC TGACTCAGCC TCGCTCAGTG TCCGGGTCTC
CTGGACAGTC AGTCACCATC TCCTGCACTG GAACTTATAA
CTATGTCTCC TGGTACCAAC AGCACCCAGG CAAAGCCCCC
AAACTCATGA TTTTTGATGT CAGTAGGCGG TCCTCAGGGG
TCCCTGATCG CTTCTCTGGC TCCAAGTCTG GCAACACGGC
CTCCCTGACC ATCTCTGGGC TCCAGGCTGA GGATGAGGCT
GATTATTACT GCTGCTCATA TGGAGGCACC TACCTTTATG
TCTTCGGAAC TGGGACTACG GTCACCGTCC TTGGTCAG

アミノ酸の置換、付加又は欠失を包含する抗原及び抗体のような蛋白は核酸によりコードされ得る。その結果、アミノ酸の置換、付加又は欠失を包含する蛋白をコードする核酸配列も提供される。

【０１３２】
「核酸」及び「ポリヌクレオチド」などのような用語は、ホスホエステル結合又は等価物を介して連結されたリボ－又はデオキシ－リボ核酸の塩基対（ヌクレオチド）の少なくとも２つ以上を指す。核酸はポリヌクレオチド及びポリヌクレオシドを包含する。核酸は単分子、二重又は三重、環状又は線状の分子を包含する。例示される核酸は限定しないが、ＲＮＡ、ＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノム核酸、天然に存在する核酸及び天然に存在しない核酸、例えば合成核酸を包含する。

【０１３３】
核酸は種々の長さのものであることができる。核酸の長さは典型的には約２０ヌクレオチド～２０Ｋｂの範囲、又はそのような長さの範囲内又はそれを包含する何れかの数値又は範囲、１０ヌクレオチド～１０Ｋｂ、１～５Ｋｂ以下、１０００～約５００ヌクレオチド以下の長さである。核酸は又、より短い、例えば１００～約５００ヌクレオチド、又は約１２～２５、２５～５０、５０～１００、１００～２５０、又は約２５０～５００ヌクレオチド長、又はそのような長さの範囲内又はそれを包含する何れかの数値又は範囲であることができる。特定の実施形態においては、核酸配列は約１０～２０、２０～３０、３０～５０、５０～１００、１００～１５０、１５０～２００、２００～２５０、２５０～３００、３００～４００、４００～５００、５００～１０００、１０００～２００００ヌクレオチド、又はそのような長さの範囲内又はそれを包含する何れかの数値又は範囲の長さを有する。より短いポリヌクレオチドは一般的には「オリゴヌクレオチド」又は１本鎖又は２本鎖ＤＮＡの「プローブ」と称される。しかしながら、そのようなオリゴヌクレオチドの長さに上限はない。

【０１３４】
ポリヌクレオチドはＬ－又はＤ－型及びその混合物を包含し、これはさらに修飾されることにより対象への投与のときに分解に対して耐性となり得る。特定の例として、対象の種々の組織又は体液中に存在するエンドヌクレアーゼ及びエキソヌクレアーゼに対して耐性の５’及び３’連結が挙げられる。

【０１３５】
本発明によれば、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の全て又はフラグメントをコードする核酸にハイブリダイズする核酸配列が提供される。１つの実施形態において、核酸配列は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はそのサブ配列をコードする核酸に特異的にハイブリダイズする。別の実施形態においては、核酸配列は配列番号１、３、５又は７又はその一部分をコードする核酸に特異的にハイブリダイズする。その他の実施形態において、核酸配列は配列番号９又はその一部分をコードする核酸に特異的にハイブリダイズする。さらなる実施形態において、核酸配列は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産さ

れる抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の全て又はサブ配列又はフラグメントをコードする核酸配列に少なくとも７５～１００％相補的又は相同である。

【０１３６】

「ハイブリダイズする」という用語及びその文法的変化形は核酸配列間の結合を指す。ハイブリダイズしている配列は一般的にレファレンス核酸又はレファレンス配列に相補な配列に対して約５０％超の相同性（例えば５０％、６０％、７０％、８０％、９０％以上の同一性）を有することになる。レファレンス配列に対して、例えばレファレンス配列のアミノ酸配列をコードする核酸に対して１００％又は完全に相補である、ハイブリダイズしている配列は、１００％の塩基対形成を示し、ミスマッチは有さない。ハイブリダイズしている配列間のハイブリダイゼーションの領域は典型的には、少なくとも約１２～１５ヌクレオチド、１５～２０ヌクレオチド、２０～３０ヌクレオチド、３０～５０ヌクレオチド、５０～１００ヌクレオチド、１００～２００ヌクレオチド以上、又はそのような長さの範囲内又はこれを包含する何れかの数値又は範囲である。

【０１３７】

本発明によれば、アンチセンスポリヌクレオチド、小型干渉ＲＮＡ、及びリボザイム核酸がさらに提供される。特定の実施形態においては、アンチセンスポリヌクレオチド、小型干渉ＲＮＡ、又はリボザイム核酸は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はそのサブ配列をコードする核酸配列に特異的にハイブリダイズし、そして場合により抗原の発現を低減するか、又は配列番号１、３、５、７又は９、又はその一部分に特異的にハイブリダイズし、そして場合により配列番号１、３、５、７又は９の発現を低減する。別の実施形態においては、アンチセンスポリヌクレオチド、小型干渉ＲＮＡ、又はリボザイム核酸は、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）、配列番号１、３、５、７又は９、又はそのサブ配列をコードする核酸配列に対し少なくとも６０％以上（例えば６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％等）相補的又は相同である。アンチセンスポリヌクレオチドは約１０～２０、２０～３０、３０～５０、５０～１００、１００～１５０、１５０～２００、２００～２５０、２５０～３００、３００～４００、４００～５００、５００～１０００、１０００～２０００ヌクレオチド、又はそのような長さの範囲内又はそれを包含する何れかの数値又は範囲の長さを有することができる。

【０１３８】

本明細書において使用する場合、「アンチセンス」という用語は特定のＤＮＡ又はＲＮＡ配列に結合することができるポリヌクレオチド又はペプチド核酸を指す。アンチセンスは、１本、２本、３本鎖以上のＲＮＡ及びＤＮＡポリヌクレオチド及びＲＮＡ転写物又はＤＮＡに結合するペプチド核酸（ＰＮＡ）を包含する。特定の例としては、センスＲＮＡに結合するＲＮＡ及びＤＮＡアンチセンスが挙げられる。例えば、１本鎖核酸は細胞由来のグリコーゲンの代謝、異化、除去又は分解に関与する蛋白転写物をターゲティングすることができる（例えばｍＲＮＡ）。アンチセンス分子は典型的にはセンス鎖に９５～１００％相補であるが、「部分的に」相補であることができ、その場合ヌクレオチドの一部のみがセンス分子に結合し（１００％未満の相補性、例えば９５％、９０％、８０％、７０％、及び場合により、より低値）、或いはこのようなパーセント値の範囲内又はこれを包含する何れかの数値又は範囲である。

【０１３９】

トリプレックス形成アンチセンスは２本鎖ＤＮＡに結合することにより遺伝子の転写を抑制することができる。遺伝子の転写開始部位から誘導されたオリゴヌクレオチド、例えば開始部位からの－１０位と＋１０位の間が特に例示される。

【０１４０】

遺伝子発現を抑制するための短鎖干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ又はＲＮＡｉと称される）は当該分野で知られている（例えばＫｅｎｎｅｒｄｅｌｌら、Ｃｅｌｌ９５：１０１７（１

９９８）；Ｆｉｒｅら、Ｎａｔｕｒｅ、３９１：８０６（１９９８）；ＷＯ０２／４４３２１；ＷＯ０１／６８８３６；ＷＯ００／４４８９５、ＷＯ９９／３２６１９、ＷＯ０１／７５１６４、ＷＯ０１／９２５１３、ＷＯ０１／２９０５８、ＷＯ０１／８９３０４、ＷＯ０２／１６６２０；及びＷＯ０２／２９８５８参照）。ＲＮＡｉサイレンシングは「ヘアピン」構造を形成するＲＮＡをコードする核酸により、或いは、コードしている核酸の末端各々からＲＮＡを発現させてハイブリダイズするＲＮＡ分子２つを形成することにより、誘導することができる。

【０１４１】

ＲＮＡの特異的切断を触媒する酵素的ＲＮＡ分子であるリボザイムは、コードされた蛋白の発現を抑制するために使用できる。リボザイムは相補標的ＲＮＡと配列特異的ハイブリッドを形成し、次にこれが切断される。特定の例としては、例えばグリコーゲンの代謝、異化、除去又は分解に関与する蛋白をコードする配列のエンドヌクレアーゼ的切断を特異的及び効率的に触媒することができる操作されたハンマーヘッドモチーフのリボザイム分子が挙げられる。

【０１４２】

アンチセンス、リボザイム、ＲＮＡｉ及びトリプレックス形成核酸は本明細書においては総称して「抑制性核酸」又は「抑制性ポリヌクレオチド」と称する。そのような抑制性核酸又はポリヌクレオチドはそれが結合又はターゲティングする配列、延いては適宜コードされた蛋白の発現を抑制又は低減することができる。

【０１４３】

抑制性ポリヌクレオチドはインビボで機能するために発現制御エレメントを必要としない。抑制性ポリヌクレオチドは細胞により吸収されるか、又は受動拡散を介して細胞に進入することができる。抑制性ポリヌクレオチドは場合によりベクターを用いて細胞内部に導入できる。抑制性ポリヌクレオチドはそれが転写されるように核酸によりコードされてよい。更に又、抑制性ポリヌクレオチドをコードする核酸は、場合により細胞内又はインビボにおいて、コードされたアンチセンスの持続性又は増大した発現のための発現制御エレメントに作動可能に連結されてよい。抑制性核酸は本明細書に開示した蛋白及び核酸配列に基づいて設計するか、又はデータベースにおいて入手することができる。

【０１４４】

核酸配列は更に、ヌクレオチド及びヌクレオシドの置換、付加及び欠失、並びに誘導体化された形態及び融合／キメラの配列（例えば組み換えポリペプチドをコードする）を包含する。例えば遺伝子コードの縮重により、核酸は、コードする核酸に関して縮重した配列及びサブ配列、その修飾された形態及び変異体を包含する。他の例はコードする配列に相補的な核酸である。

【０１４５】

核酸の欠失（サブ配列及びフラグメント）は約１０～２５、２５～５０又は５０～１００ヌクレオチドを有することができる。そのような核酸はポリペプチド鎖部配列を発現するため、遺伝子操作のため（ＰＣＲ増幅用のプライマー及び鋳型として）、そして細胞、培地、生物学的試料（例えば組織、臓器、血液又は血清）中の、又は対象における蛋白をコードする配列の存在又は量を検出（例えばハイブリダイゼーションを介して）するためのプローブとして、有用である。

【０１４６】

核酸は種々の標準的なクローニング及び化学合成の手法を用いて製造できる。手法は限定しないが、核酸増幅、例えば抗体をコードする配列にアニーリングすることができるプライマー（例えば縮重プライマー混合物）を用いたゲノムＤＮＡ又はｃＤＮＡ標的によるポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）を包含する。核酸はまた、化学合成（例えば固相ホスホロアミダイト合成）又は遺伝子からの転写により製造できる。次に製造された配列をインビトロで翻訳するか、プラスミド内にクローニングして増殖させ、そして次に細胞中（例えば宿主細胞、例えばコウボ又は細菌、真核生物、例えば動物又は哺乳類の細胞又は植物中）で発現させることができる。

【０１４７】
本発明によれば本発明の核酸配列を含むベクターが更に提供される。１つの実施形態において、ベクターは本明細書に記載した抗体又は機能的フラグメントをコードする核酸配列を包含する。別の実施形態においては、ベクターはコードしている核酸配列を包含する。
【０１４８】
ベクターはウィルス、原核生物（細菌）及び真核生物（植物、カビ、哺乳類）のベクターを包含する。ベクターはインビトロ又はインビボで核酸の発現のために使用できる。「発現ベクター」と称されるそのようなベクターは、核酸、例えば抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）、及びハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体、そのサブ配列及びフラグメントをコードする核酸、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の可変領域の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の修飾された形態又は変異体をコードする核酸、抑制性核酸をコードする核酸を導入し、そしてコードされた蛋白又は抑制性核酸を発現する（例えば溶液中又は固相中で）ために、細胞中、又は対象中インビボにおいて有用である。
【０１４９】
ベクターはまた、核酸の操作のために使用できる。遺伝子操作のためには「クローニングベクター」を使用することができ、挿入された核酸を転写又は翻訳する。
【０１５０】
ベクターは一般的にインビトロ又はインビボの細胞中の増殖のための複製起点を含有する。ベクター内部に存在する制御エレメント、例えば発現制御エレメントは適宜、転写及び翻訳を容易にするために包含させることができる。
【０１５１】
ベクターは選択マーカーを包含できる。「選択マーカー」は遺伝子を含有する細胞の選択を可能にする遺伝子である。「陽性選択」とは選択マーカーを含有している細胞が陽性選択への曝露時に生存するという過程を指す。薬剤耐性は陽性選択マーカーの一例であり、マーカーを含有する細胞は選択薬剤を含有する培養基中で生存することになり、マーカーを欠いている細胞は死滅することになる。選択マーカーはＧ４１８への耐性を付与するｎｅｏ；ハイグロマイシンへの耐性を付与するｈｙｇｒ；及びピューロマイシンへの耐性を付与するｐｕｒｏのような薬剤耐性遺伝子を包含する。他の陽性選択マーカーはマーカーを含有する細胞の識別又はスクリーニングを可能にする遺伝子を包含する。これらの遺伝子はとりわけ、蛍光蛋白（ＧＦＰ及びＧＦＰ様発色団、ルシフェラーゼ）に関する遺伝子、ｌａｃＺ遺伝子、アルカリホスファターゼ遺伝子、及び表面マーカー、例えばＣＤ８等を包含する。「陰性選択」とは陰性選択マーカーを含有する細胞が適切な陰性選択剤への曝露時に殺傷される過程を指す。例えば単純ヘルペスウィルスチミジンキナーゼ（ＨＳＶ－ｔｋ）遺伝子を含有する細胞（Ｗｉｇｌｅｒら、Ｃｅｌｌ　１１：２２３（１９７７））は薬剤ガンシクロビル（ＧＡＮＣ）に対して感受性である。同様にｇｐｔ遺伝子は細胞を６－チオキサンチンに対して感受性とする。
【０１５２】
ウィルスベクターはレトロウィルス（分裂中並びに非分裂中の細胞を感染させるためのレンチウィルス）、フォーミーウィルス（米国特許５，６２４，８２０、５，６９３，５０８、５，６６５，５７７、６，０１３，５１６及び５，６７４，７０３；ＷＯ９２／０５２６６及びＷＯ９２／１４８２９）、アデノウィルス（米国特許５，７００，４７０、５，７３１，１７２及び５，９２８，９４４）、アデノ関連ウィルス（ＡＡＶ）（米国特許５，６０４，０９０）、単純ヘルペスウィルスベクター（米国特許５，５０１，９７９）、サイトメガロウィルス（ＣＭＶ）系ベクター（米国特許５，５６１，０６３）、レオウィルス、ロタウィルスゲノム、シミアンウィルス４０（ＳＶ４０）又はパピローマウィ

ルス（Coneら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA81：6349（1984）；Eukaryotic Viral Vectors, Cold Spring Harbor Laboratory, Gluzman編、1982；Sarverら、Mol. Cell. Biol. 1：486（1981）；米国特許5,719,054）に基づくものを包含する。アデノウィルスは緩徐複製及び／又は終末分化の細胞を効率的に感染させ、そして、緩徐複製及び／又は終末分化の細胞をターゲティングするために使用できる。発現のために有用なさらなるウィルスベクターはパルボウィルス、ノーウォークウィルス、コロナウィルス、パラミクソ及びラブドウィルス、トガウィルス（例えばシンドビスウィルス及びセムリキフォレストウィルス）及び水疱性口内炎ウィルス（VSV）を包含する。

【0153】

核酸は核酸が発現制御エレメントに作動可能に連結されている場合に発現されることができる。本明細書においては、「作動可能に連結」という用語は、言及されているエレメント間の、それらをそれらの意図する態様において作動することができるようにする、物理的又は機能的な関連性を指す。即ち、核酸に「作動可能に連結」された発現制御エレメントとは、制御エレメントが核酸の転写、及び、適宜、転写物の翻訳をモジュレートすることを意味する。

【0154】

「発現制御エレメント」という用語は作動可能に連結した核酸の発現に影響する核酸を指す。プロモーター及びエンハンサーは発現制御エレメントの具体的な非限定的な例である。「プロモーター配列」は下流（3’方向）配列の転写を開始することができるDNA調節領域である。プロモーター配列は転写開始を促進するヌクレオチドを包含する。エンハンサーはまた遺伝子発現も調節するが、それが作動可能に連結されている遺伝子の転写開始部位から隔たって機能することができる。エンハンサーは遺伝子の5’又は3’末端の何れかにおいて、並びに遺伝子内部（例えばイントロン又はコーディング配列内）で機能する。さらなる発現制御エレメントは、リーダー配列及び融合パートナー配列、マルチジーン形成のための内部リボソーム結合部位（IRES）エレメント、又はポリシストロン、メッセージ、イントロンに対するスプライシングシグナル、mRNAのインフレーム翻訳を可能にする遺伝子の正しい読み枠の維持、目的の転写物の適切なポリアデニル化をもたらすためのポリアデニル化シグナル、及び停止コドンを包含する。

【0155】

発現制御エレメントは、作動可能に連結された核酸の転写がシグナル又は刺激の存在がなくても起こる「構成」エレメントを包含する。作動可能に連結した核酸の発現を増大又は低下させるシグナル又は刺激に応答した発現を与える発現制御エレメントは「調節可能」である。シグナル又は刺激に応答して作動可能に連結した核酸の発現を増大させる調節可能なエレメントは「誘導エレメント」と称する。シグナル又は刺激に応答して作動可能に連結した核酸の発現を低下させる調節可能なエレメントは「抑制エレメント」と称する（即ちシグナルが発現を低下させ；シグナルが除去されるか不在の場合は、発現が増大する）。

【0156】

発現制御エレメントは「組織特異的発現制御エレメント」と称される特定の組織又は細胞型において活性なエレメントを包含する。組織特異的な発現制御エレメントは典型的には、特定の細胞又は組織型においてより活性となるが、その理由はそれらが他の細胞又は組織型と比較してその特定の細胞又は組織型において活性な転写活性化蛋白又は他の転写調節物質により認識されるためである。

【0157】

組織特異的発現制御エレメントは、新生物、腫瘍及び癌、及び転移を包含する細胞増殖性障害のような過剰増殖細胞において活性なプロモーター及びエンハンサーを包含する。そのようなプロモーターの具体的な非限定的な例は、ヘキソキナーゼII、COX－2、α－フェトプロテイン、胎児性癌抗原、DE3／MUC1、前立腺特異的抗原、C－er

Ｂ２／ｎｅｕ、テロメラーゼ逆転写酵素及び低酸素応答性プロモーターである。

【０１５８】

細菌発現に関しては、構成プロモーターはＴ７、並びに誘導プロモーター、例えばバクテリオファージλのｐＬのような誘導プロモーター、ｐｌａｃ、ｐｔｒｐ、ｐｔａｃ（ｐｔｒｐ－ｌａｃハイブリッドプロモーター）を包含する。昆虫細胞系においては、構成又は誘導プロモーター（例えばエクジソン）が使用され得る。コウボにおいては、構成プロモーターは例えばＡＤＨ又はＬＥＵ２及び誘導プロモーター、例えばＧＡＬ（例えばＡｕｓｕｂｅｌら、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、第２巻、第１３章、編、Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈ．Ａｓｓｏｃ．＆Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ、１９８８；Ｇｒａｎｔら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ、１５３：５１６－５４４（１９８７）、編者Ｗｕ ＆ Ｇｒｏｓｓｍａｎ、１９８７、Ａｃａｄ．Ｐｒｅｓｓ，Ｎ．Ｙ．；Ｇｌｏｖｅｒ、ＤＮＡ Ｃｌｏｎｉｎｇ、第２巻、第３章、ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ，Ｗａｓｈ．，Ｄ．Ｃ．、１９８６；Ｂｉｔｔｅｒ、Ｉｎ：Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ、１５２：６７３－６８４（１９８７）、編者Ｂｅｒｇｅｒ ＆ Ｋｉｍｍｅｌ、Ａｃａｄ．Ｐｒｅｓｓ，Ｎ．Ｙ．；及びＳｔｒａｔｈｅｒｎら、Ｔｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ｏｆ ｔｈｅ Ｙｅａｓｔ Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、編Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ、第１巻および第２巻（１９８２）参照）を包含する。

【０１５９】

哺乳類発現に関しては、ウィルス又は他の起源の構成プロモーターが使用され得る。例えば、ＳＶ４０又はウィルス長末端リピート（ＬＴＲ）等、又は哺乳類細胞のゲノムから誘導した誘導プロモーター（例えばメタロチオネインＩＩＡプロモーター；熱ショックプロモーター、ステロイド／甲状腺ホルモン／レチン酸応答エレメント）又は哺乳類ウィルス由来のもの（例えばアデノウィルス後期プロモーター；マウス乳癌ウィルスＬＴＲ）を使用する。

【０１６０】

本発明によれば、本発明の核酸及びベクターで形質転換又はトランスフェクトされた宿主細胞が提供される。１つの実施形態において、細胞は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はそのサブ配列をコードする核酸で安定又は一過性に形質転換される。別の実施形態においては、細胞は抗体、機能的フラグメント、重鎖又は軽鎖の配列、又は重鎖又は軽鎖の配列の一部分（例えば可変領域、又は１つ以上のＣＤＲ）をコードする核酸で安定又は一過性に形質転換される。別の実施形態においては、宿主細胞はアンチセンス又は抑制性の核酸で安定又は一過性に形質転換される。

【０１６１】

宿主細胞は限定しないが原核生物及び真核生物の細胞、例えば細菌、カビ（コウボ）、植物、昆虫、及び動物（例えば哺乳類、例えば霊長類及びヒト）の細胞を包含する。細胞は一次細胞単離体、細胞培養物（例えば掲題されるか、樹立されるか、不朽化された細胞系統）又は複数の細胞の部分、又はエクスビボ又は対象内（インビボ）の組織又は臓器であってよい。例えば組み換えバクテリオファージ核酸、プラスミド核酸又はコスミド核酸の発現ベクターで形質転換された細菌；組み換えコウボ発現ベクターで形質転換されたコウボ；組み換えウィルス発現ベクター（例えばカリフラワーモザイクウィルス、ＣａＭＶ；タバコモザイクウィルス、ＴＭＶ）を感染させた、又は組み換えプラスミド発現ベクター（例えばＴｉプラスミド）で形質転換された植物細胞系；組み換えウィルス発現ベクター（例えばバキュロウィルス）を感染させた昆虫細胞系；及び組み換えウィルス発現ベクター（例えばレトロウィルス、アデノウィルス、ワクシニアウィルス）を感染させた動物細胞系、又は安定的発現のために操作された形質転換動物細胞系が挙げられる。

【０１６２】

「形質転換された」又は「トランスフェクトされた」という用語は、細胞（例えば宿主細胞）又は生物に言及して使用する場合、細胞内への外因性の分子、例えば蛋白又は核酸

（例えばトランスジーン）の取り込み後の細胞における遺伝子的な変化を意味する。即ち、「トランスフェクトされた」又は「形質転換された」細胞は、外因性の分子が人間の手により、例えば組み換えＤＮＡ手法により導入されている細胞又はその子孫である。

【０１６３】

核酸は細胞又はその子孫において安定的又は一過性にトランスフェクト又は形質転換（発現）されることができる。従って宿主細胞は抗体、機能的フラグメント又は核酸を安定的又は一過性に発現するものを包含する。細胞を増殖させ、そして導入された抗体を発現させるか、又は核酸を転写させることができる。トランスフェクト又は形質転換された細胞の子孫は、複製の間に突然変異が生じる場合があるため、親細胞と同一である必要はない。

【０１６４】

典型的には、細胞のトランスフェクション又は形質転換は、「ベクター」を使用し、これは、プラスミド、ウィルス、例えばウィルスベクター、又は核酸の挿入又は取り込みにより操作できる当業者の知る他のビヒクルを指す。

【０１６５】

ウィルス粒子又は小胞は標的細胞のリガンド又は受容体に結合する表面上の蛋白の封入により特定の細胞型（例えば過剰増殖細胞）に対してターゲティングされるように設計できる。或いは、標的細胞中で核酸を発現させるために細胞型特異的なプロモーター及び／又はエンハンサーをベクター内に包含させることができる。即ち、ウィルス粒子又は小胞そのもの、ウィルスベクター、又はウィルス表面上の蛋白は、インビトロ、エクスビボ又はインビボにおけるトランスフェクション又は形質転換のために細胞をターゲティングさせることができる。

【０１６６】

組成物（例えば蛋白及び核酸）の標的細胞（例えば宿主細胞）内への導入はまた、当業者の知る方法、例えば浸透圧ショック（例えばリン酸カルシウム）、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、細胞融合等により実施できる。核酸及びポリペプチドのインビトロ、エクスビボ及びインビボの導入はまた、他の手法を用いて達成できる。例えば、重合体物質、例えばポリエステル、ポリアミン酸、ヒドロゲル、ポリビニルピロリドン、エチレン－ビニルアセテート、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、プロタミンスルフェート、又はラクチド／グリコリド共重合体、ポリラクチド／グリコリド共重合体、又はエチレンビニルアセテート共重合体が挙げられる。核酸はコアセルベーション手法によるか、又は界面重合により、例えばそれぞれヒドロキシメチルセルロース又はゼラチンマイクロカプセル、又はポリ（メチルメタクロレート）マイクロカプセルの使用により製造されたマイクロカプセル中に、又はコロイド系中に、捕獲することができる。コロイド分散系は巨大分子複合体、ナノカプセル、微小球、ビーズ、及び脂質系、例えば水中油エマルジョン、ミセル、混合ミセル、及びリポソームを包含する。

【０１６７】

細胞内に種々の組成物を導入するためのリポソームは当該分野で知られており、例えばホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、リポフェクチン及びＤＯＴＡＰ（例えば米国特許４，８４４，９０４、５，０００，９５９、４，８６３，７４０、及び４，９７５，２８２；及びＧＩＢＣＯ－ＢＲＬ、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、Ｍｄ）を包含する。遺伝子療法に有用なピペラジン系の両親媒性カチオン性脂質もまた知られている（例えば米国特許５，８６１，３９７参照）。カチオン性脂質系もまた知られている（例えば米国特許５，４５９，１２７参照）。重合体物質、マイクロカプセル及びコロイド分散系、例えばリポソームは総称して、本明細書においては「小胞」と称する。従って、インビトロ、インビボ及びエクスビボの細胞、組織又は臓器内への送達のウィルス及び非ウィルスベクターの手段が包含される。

【０１６８】

本発明はインビボの方法を包含する。例えばＢＡＲＢ４抗体又は機能的フラグメントが結合する望ましくない増殖細胞又は細胞増殖性の障害のような細胞は、例えば哺乳類（例

えばヒト対象）のような対象において存在する場合がある。従ってそのような細胞を有する対象は、例えば、そのような細胞に結合する抗体、又はそのサブ配列又はフラグメントを投与することにより治療され得る。

【０１６９】

本発明によれば、対象における望ましくない細胞増殖又は細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害を治療する方法が提供される。そのような方法は本明細書に記載した抗体、機能的フラグメント、修飾された、又は変異体の形態の何れかを用いて実施できる。１つの実施形態において、方法は対象における望ましくない細胞増殖又は細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害を治療するために有効量のハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体を対象に投与することを包含する。別の実施形態においては、方法は対象における望ましくない細胞増殖又は細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害を治療するために有効量の抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）を対象に投与することを包含する。

【０１７０】

本明細書において使用する場合、「細胞増殖性障害」及び「細胞過剰増殖性障害」及びその文法的変化形は、細胞、組織又は臓器に言及して使用される場合、何れかの望ましくない、過剰な、又は異常な、細胞、組織又は臓器の成長、増殖、分化又は生存を指す。過剰増殖性細胞とは、自身の成長、増殖又は生存が望ましい、例えばレファレンス正常細胞、例えば同じ組織又は臓器のものであるが過剰増殖性細胞ではない細胞よりも高値である細胞、又は正常に分化することができない細胞を意味する。望ましくない細胞の増殖及び過剰増殖性の障害は、対象における望ましくない、過剰な、又は異常な、細胞の数、細胞の成長、細胞の増殖、細胞の生存又は分化により特徴付けられる疾患及び生理学的状態であって共に良性の形成亢進性の状態を包含する。そのような障害の特定の例として、転移及び非転移の新生物、腫瘍及び癌（悪性疾患）が挙げられる。

【０１７１】

種々の実施形態において、方法は、対象における細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害を治療するために有効量のハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）を対象に投与することを包含する。特定の態様において、障害は新生物、腫瘍又は転移又は非転移性の癌（悪性疾患）である。さらなる態様において、障害は、乳房、肺、甲状腺、頭頚部、鼻咽頭、鼻又は副鼻腔、脳、脊髄、副腎、甲状腺、リンパ、胃腸（口腔、食道、胃、十二指腸、回腸、空腸（小腸）、結腸、直腸）、泌尿器管（子宮、卵巣、子宮頚部、膀胱、精巣、陰茎、前立腺）、腎臓、膵臓、副腎、肝臓、骨、骨髄、リンパ、血液、筋肉、皮膚、又は造血系を冒しているか、又は少なくともこれらにおいて部分的に存在している。

【０１７２】

「腫瘍」、「癌」及び「新生物」という用語は互換的に使用され、自身の成長、増殖又は生存が正常な該当細胞の成長、増殖又は生存よりも高値である細胞又は細胞の集団、例えば細胞増殖性又は分化性の障害を指す。典型的には、成長は制御不能である。「悪性疾患」という用語は近傍の組織の侵襲を指す。「転移」という用語は対象内の他の部位、位置又は領域への腫瘍、癌又は新生物の拡張又は播種を指し、その場合、その部位、位置又は領域は元の腫瘍又は癌とは異なる。

【０１７３】

本発明の方法は、原発の腫瘍又は癌の他の部位への転移、又は原発の腫瘍又は癌から遠位の他の部位における転移の腫瘍又は癌の形成又は確立を低減又は抑制することにより、腫瘍又は癌の回帰又は腫瘍又は癌の進行を抑制又は低減するために使用できる。即ち、本発明の方法は特に、１）潜在的又は実際に転移を発症する腫瘍又は癌細胞（例えば播種性

腫瘍細胞、ＤＴＣ）の成長、増殖、運動性又は侵襲性を低減又は抑制すること；２）原発の腫瘍又は癌から生じた、原発の腫瘍又は癌とは区別される１つ以上の他の部位、位置又は領域への転移の形成又は確立を低減又は抑制すること；３）転移が形成されるか樹立された後に原発の腫瘍又は癌とは区別可能な１つ以上の他の部位、位置又は領域における転移の成長又は増殖を低減又は抑制すること；及び、４）転移が形成されるか樹立された後にさらなる転移の形成又は確立を低減又は抑制すること、を包含する。

【０１７４】

新生物、腫瘍及び癌は肉腫、癌腫、腺癌腫、黒色腫、骨髄腫、芽腫、神経膠腫、リンパ腫又は白血病を包含する。例示される癌は例えば癌腫、肉腫、腺癌腫、黒色腫、神経（芽腫、神経膠腫）、中皮種及び網内皮、リンパ又は造血系の新生物性障害（例えば骨髄腫、リンパ腫又は白血病）を包含する。特定の態様において、新生物、腫瘍又は癌は、肺の腺癌腫、肺癌腫、播種性又は間質性の胃癌腫、結腸腺癌腫、前立腺癌腫、食道癌腫、乳癌腫、膵臓腺癌腫、卵巣腺癌腫、又は子宮腺癌腫を包含する。

【０１７５】

新生物、腫瘍及び癌は良性、悪性、転移及び非転移の型を包含し、何れかの病期（Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ又はＶ期）又は等級（Ｇ１、Ｇ２、Ｇ３等）の新生物、腫瘍又は癌、又は進行中、悪化中、安定化又は沈静化している新生物、腫瘍、癌又は転移を包含する。

【０１７６】

新生物、腫瘍及び癌は、複数の原発の腫瘍、例えば限定しないが乳房、肺、甲状腺、頭頚部、鼻咽頭、鼻又は副鼻腔、脳、脊髄、副腎、甲状腺、リンパ、胃腸（口腔、食道、胃、十二指腸、回腸、空腸（小腸）、結腸、直腸）、泌尿器管（子宮、卵巣、子宮頚部、膀胱、精巣、陰茎、前立腺）、腎臓、膵臓、副腎、肝臓、骨、骨髄、リンパ、血液、筋肉、皮膚、又は造血系から生じる場合があり、そして二次的な部位に転移する場合がある。

【０１７７】

「固形の新生物、腫瘍又は癌」とは典型的には相互に凝集して塊を形成する新生物、腫瘍又は癌（例えば転移）を指す。特定の例として、内臓の腫瘍、例えば黒色腫、乳房、膵臓、子宮及び卵巣の癌、精巣癌、例えば精巣悪性腫瘍、胃又は結腸の癌、ヘパトーマ、副腎、腎臓及び膀胱の癌腫、肺、頭頚部の癌、及び脳の腫瘍／癌が挙げられる。

【０１７８】

癌腫は上皮又は内分泌の組織の悪性疾患を指し、呼吸器系の癌腫、胃腸系の癌腫、泌尿器系の癌腫、精巣の癌腫、乳房の癌腫、前立腺の癌腫、内分泌系の癌腫、及び黒色腫を包含する。用語はまた、例えば癌腫性及び肉腫性の組織からなる悪性の腫瘍を包含する癌肉腫も包含する。腺癌腫は腺組織の癌腫、又は腫瘍が腺様の構造を形成するものを包含する。黒色腫は、皮膚、眼（網膜を包含する）又は他の身体の領域に生じる場合があるメラノサイト及び色素細胞起源から誘導された他の細胞の悪性腫瘍を指す。さらなる癌腫は子宮／子宮頚部、肺、頭／頚部、結腸、膵臓、精巣、副腎、腎臓、食道、胃、肺及び卵巣から形成される場合がある。

【０１７９】

肉腫は間葉細胞起源の悪性腫瘍を指す。例示される肉腫は例えばリンパ肉腫、脂肪肉腫、骨肉種、軟骨肉腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫及び線維肉腫を包含する。

【０１８０】

神経の新生物は神経膠腫、神経膠芽細胞腫、髄膜腫、神経芽腫、網膜芽腫、星状細胞種、稀突起神経膠細胞種を包含する。

【０１８１】

治療に適する新生物、腫瘍及び癌の具体的な非限定的な例として、悪性及び非悪性の新生物、腫瘍及び癌、及び転移が挙げられる。特に、胃腸（胃）胃の組織、肺の扁平上皮癌、及び肺の腺癌腫細胞の何れかの病期（例えばＩＡ、ＩＢ、ＩＩＡ、ＩＩＢ、ＩＩＩＡ、ＩＩＩＢ又はＩＶ期）又は等級（例えばＧ１、Ｇ２又はＧ３等級）のものが挙げられる。さらなる非限定的な例として、腺癌腫又は扁平上皮癌、例えば胃の腺癌腫、肺の腺癌腫、膵臓の腺癌腫、結腸の腺癌腫、乳房の腺癌腫、又は食道の扁平上皮癌が挙げられる。その

他の非限定的な例として、胃、肺、結腸、膵臓、食道、前立腺、乳房又は精巣の何れかのヒト腺癌腫、ヒト扁平上皮癌、ヒトカルチノイド癌腫、ヒト侵襲性腺管癌、ヒト生殖細胞癌腫が挙げられる。

【０１８２】

「液体の新生物、腫瘍又は癌」とは、網内皮又は造血系の新生物、腫瘍又は癌、例えばリンパ腫、黒色腫、又は白血病、又は播種性の性質を有する新生物を指す。白血病の特定の例として、急性及び慢性のリンパ芽球性、骨髄芽球性及び多発性の骨髄腫が挙げられる。典型的には、このような疾患は分化の乏しい急性の白血病、例えば、正赤芽球性白血病及び急性巨核芽球性白血病から生じる。特定の骨髄様障害は、限定しないが、急性前骨髄様白血病（ＡＰＭＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）及び慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）；リンパ様悪性疾患、例えば限定しないが急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、例えば、Ｂ－細胞系統ＡＬＬ及びＴ－細胞系統ＡＬＬ、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、前リンパ球性白血病（ＰＬＬ）、ヘアリー細胞白血病（ＨＬＬ）及びワルデンストレームマクログロブリン血症（ＷＭ）を包含する。特定の悪性リンパ腫は非ホジキンリンパ腫、及び変異体、末梢血Ｔ細胞リンパ腫、成人Ｔ細胞白血病／リンパ腫（ＡＴＬ）、皮膚Ｔ－細胞リンパ腫（ＣＴＣＬ）、大型顆粒球リンパ性白血病（ＬＧＦ）、ホジキン病及びリード－スターンバーグ疾患を包含する。

【０１８３】

本明細書において使用する場合、「治療する」、「治療している」、「治療」及びこれらの文法的変化形は個体患者をプロトコル、投薬法、プロセス又は治療法に付すことを意味し、その場合、その患者において生理学的な応答又は結果が得られることが望ましい。各々の治療された患者は特定の治療プロトコル、投薬法、プロセス又は治療法に応答しない場合があるため、治療は、所望の生理学的応答又は結果が各々の患者又は患者集団において達成されることを要件としない。従って、所定の患者又は患者集団は治療に対して応答不可能であるか、又は不十分な応答を示す場合がある。

【０１８４】

本発明の方法は何れかの様式の投与によるか、又は何れかの経路、全身、局部的及び局所への投与により、実施され得る。例示される投与経路は、静脈内、動脈内、皮内、筋肉内、皮下、胸膜内、経皮（局所）、経粘膜、頭蓋内、脊髄内、眼内、直腸、経口（混餌）及び粘膜を包含する。

【０１８５】

本発明の方法は特に、所定の対象の状態における検出可能又は計測可能な改善、例えば、細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害、新生物、腫瘍又は癌、又は転移の存在に関連する有害（身体的）な症状又は帰結の１つ以上を軽減又は緩解すること、即ち治療上の利益又は有益な作用をもたらす方法を包含する。

【０１８６】

治療上の利益又は有益な作用は、細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害、例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移に関連するかこれにより誘発される有害症状の、状態又は病態における他覚的又は自覚的、一過性、一時的、又は長期の改善、又はその発症、重症度、持続期間又は頻度の低減である。本発明による治療方法の満足できる臨床的終点は例えば１つ以上の関連する病態、有害症状又は合併症の重症度、持続時間又は頻度における漸増的又は部分的な低減、又は細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害、例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移の生理学的、生化学的又は細胞上の顕在性又は特徴の１つ以上の抑制又は逆行があった場合に、達成される。従って治療上の利点又は改善は治癒、例えば標的増殖細胞（例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移）の破壊、又は細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害、例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移に関連するかこれにより誘発される病態、有害症状又は合併症の１つ以上、殆ど又は全ての除去である。しかしながら、治療上の利益又は改善は、治癒、又は全ての標的増殖細胞（例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移）の完全な破壊、又は細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害、例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移に関連するかこれにより誘発される全ての病態、有害症状又は合併症の除去であ

る必要はない。例えば、腫瘍又は癌細胞の塊の部分的破壊、又は腫瘍又は癌の進行又は悪化を抑制することによる腫瘍又は癌の質量、大きさ又は細胞数の安定化は、腫瘍又は癌の質量、大きさ又は細胞の一部分又は全体が残存していた場合でも、死亡率を低減し、そして僅か数日、数週又は数ヶ月であっても寿命を延長することができる。

【０１８７】

治療上の利点の具体的な非限定的な例として、新生物、腫瘍又は癌又は転移の体積（大きさ又は細胞の質量）又は細胞数の低減、新生物、腫瘍又は癌の体積の増加を抑制又は防止すること（例えば安定化）、新生物、腫瘍又は癌の進行、悪化又は転移を緩徐化又は抑制すること、新生物、腫瘍又は癌の細胞溶解又はアポトーシスを刺激、誘導又は増大させること、又は新生物、腫瘍又は癌の増殖、成長又は転移を抑制することが挙げられる。本発明の方法は即座に有効とならなくてもよい。例えば治療は、新生物、腫瘍又は癌の細胞の数又は質量の増大が後続してもよいが、所定の対象における腫瘍細胞の質量、大きさ又は細胞数の経時的な最終的な安定化又は低減が、その後、新生物、腫瘍又は癌又は転移性細胞の溶解又はアポトーシスの後に起こってよい。

【０１８８】

抑制、低減、低下、遅延又は防止されることができる新生物、腫瘍又は癌及び転移に関連するさらなる有害症状及び合併症は、例えば吐き気、食欲欠乏、嗜眠、疼痛及び不快感を包含する。即ち、細胞過剰増殖性障害に関連するかこれにより誘発される有害症状又は合併症の重症度、持続期間又は頻度における部分的又は完全な低下又は低減、対象の健康状態における改善、例えば向上した活力、食欲、心理学的健康状態は全て、治療上の利点の具体的な非限定的な例である。治療関節運利点又は改善は従って、治療された対象のクオリティオブライフにおける自覚的改善も包含することができる。

【０１８９】

種々の実施形態において、方法は、新生物、腫瘍又は癌、又は転移の体積を低減又は低下するか、新生物、腫瘍又は癌の体積の増大を抑制又は防止するか、新生物、腫瘍又は癌の進行又は悪化を抑制又は遅延するか、新生物、腫瘍又は癌、又は転移性細胞の溶解又はアポトーシスを刺激するか、又は、新生物、腫瘍又は癌の増殖又は転移を抑制、低減、低下又は遅延させる。さらなる実施形態において、方法は対象の寿命を長期化又は延長する。その他の実施形態において、方法は対象のクオリティオブライフを改善する。

【０１９０】

新生物、腫瘍又は癌、又は転移を含有する生検試料（例えば血液又は組織の試料）の検査は、新生物、腫瘍又は癌の細胞の体積又は細胞の数、そしてこれにより、新生物、腫瘍又は癌の細胞の質量又は数の低減又は安定化、又は新生物、腫瘍又は癌の細胞の増殖、成長又は生存の抑制（アポトーシス）が起こったかどうかを明確化することができる。固形の新生物、腫瘍又は癌の場合は、侵襲性及び非侵襲性の画像化方法により新生物、腫瘍又は癌の大きさ又は体積を確認することができる。例えば細胞の集団、数及び型（例えば造血系細胞の過剰増殖性障害）に関する血液又は血清の検査は、新生物、腫瘍又は癌の細胞の質量又は数の低減又は安定化、又は新生物、腫瘍又は癌の増殖、成長又は生存の抑制（アポトーシス）が起こったかどうかを明確化できる。

【０１９１】

本発明の組成物及び方法は、所望の作用を与える何れかの他の治療又は療法と組み合わせることができる。特に抗細胞増殖の活性又は機能を有するものとして特徴付けられている治療及び療法が適用可能である。例示される治療及び施療は抗細胞増殖又は免疫増強の剤又は薬品を包含する。

【０１９２】

治療及び療法は本発明の何れかの他の方法、例えば抗再王増殖又は抗細胞過剰増殖性障害（例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移）よりも前に、実質的には同時に実施できる。

【０１９３】

従って本発明は、抗体、機能的フラグメント、及び修飾又は変異体の形態の何れかが、何れかの治療投薬法、治療プロトコル又は組成物、例えば本明細書に記載する、又は当該

分野で知られている抗細胞増殖プロトコル、薬剤又は薬品と組み合わせて使用される本発明の方法における複合的方法を提供する。１つの実施形態において、方法はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体及び抗細胞増殖又は免疫増強の治療、薬剤又は薬品を投与することを包含する。別の実施形態においては、方法は、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）及び抗細胞増殖又は免疫増強の治療、薬剤又は薬品を投与することを包含する。抗細胞増殖又は免疫増強の治療、薬剤又は薬品はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体の投与又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）の投与の前、実質的に同時、又は後に投与できる。

【０１９４】

本明細書において使用する場合、「抗細胞増殖」、「抗新生物」、「抗腫瘍」又は「抗癌」の治療、施療、活性又は作用とは、以上又は望ましくない細胞増殖（細胞過剰増殖）、細胞過剰増殖性障害、新生物、腫瘍又は癌、又は転移に関連するか、これにより誘発される病態、有害症状又は合併症を治療する場合に有用である何れかの療法、治療投薬法、薬剤、薬品、プロトコル又はプロセスを意味する。特定の療法、治療投薬法、薬剤、薬品、プロトコル又はプロセスは細胞増殖、細胞成長、細胞過剰増殖、新生物、腫瘍、又は癌（悪性）の成長、増殖、生存又は転移を抑制、低下、緩徐化、低減、遅延、又は防止することができる。そのような治療、療法、投薬法、プロトコル、薬剤及び薬品は
細胞周期の進行又は細胞増殖又は成長を途絶、低減、抑制又は緩徐化すること；細胞のアポトーシス、溶解又は死滅を増大、刺激又は増強すること；核酸又は蛋白の合成又は代謝を抑制すること；細胞分裂を低減、低下、抑制又は緩徐化すること；又は細胞の生存、又は細胞生存因子、成長因子又はシグナリング経路（細胞外又は細胞内）の生産又は利用を低下、低減又は抑制すること；により作動することができる。

【０１９５】

抗細胞増殖治療及び療法の例としては、化学療法、免疫療法、放射線療法（イオン化又は化学的）、局所又は局部的な温熱（高温）療法及び外科的切除が挙げられる。
抗細胞増殖性の薬剤及び薬品の具体的な非限定的なクラスは、アルキル化剤、代謝拮抗剤、植物抽出物、植物アルカロイド、ニトロソ尿素、ホルモン（ステロイド）、ヌクレオシド及びヌクレオチドアナログを包含する。微生物毒素の具体的な非限定的な例として、細菌性コレラ毒素、百日咳毒素、炭疽菌毒素、ジフテリア毒素、及び植物毒素リシンが挙げられる。薬品の特定の例としては、シクロホスファミド、アザチオプリン、シクロスポリンＡ、メルファラン、クロラムブシル、メクロレタミン、ブスルファン、メトトレキセート、６－メルカプトプリン、チオグアニン、５－フルオロウラシル、５－フルオロウリジン、シトシン、アラビノシド、ＡＺＴ、５－アザシチジン（５－ＡＺＣ）及び５－アザシチジン関連化合物、ブレオマイシン、アクチノマイシンＤ、ミトラマイシン、マイトマイシンＣ、カルムスチン、カリケアマイシン、ロムスチン、セムスチン、ストレプトゾトシン、テニポシド、エトポシド、ヒドロキシ尿素、シスプラチン、カルボプラチン、レバミソール、ミトタン、プロカルバジン、ダカルバジン、タキソール、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、ドキソルビシン、ダウノマイシン及びジブロモマンニトールが挙げられる。ホルモンの具体的な非限定的な例としては、プレドニゾン、プレドニソロン、ジエチルスチルベステロール、フルタミド、ロイプロリド及びゴナトロフィン放出ホルモン拮抗剤が挙げられる。

【０１９６】

放射線療法は対象への内部又は外部からの送達を包含する。例えば、α、β、γ及びＸ線は、対象内在化やその他の放射性同位体への物理的接触を行うことなく外部から対象に投与できる。Ｘ線の線量の特定の例は長期間の場合は一日当たり線量５０～２００レントゲン（３～５回／週）～単回線量２０００～６０００レントゲンの範囲である。線量は広

範に変動し、そして曝露期間、同位体の半減期、放出する放射線の型、治療すべき細胞の型及び位置、及び、疾患の進行段階に応じたものとなる。放射性核種の具体的な非限定的な例として、例えば^{47}Ｓｃ、^{67}Ｃｕ、^{72}Ｓｅ、^{88}Ｙ、^{90}Ｓｒ、^{90}Ｙ、^{97}Ｒｕ、^{99}Ｔｃ、^{105}Ｒｈ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{149}Ｔｂ、^{153}Ｓｍ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{194}Ｏｓ、^{203}Ｐｂ、^{211}Ａｔ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{212}Ｐｂ、^{223}Ｒａ、^{225}Ａｃ、^{227}Ａｃ、及び^{228}Ｔｈが挙げられる。

【０１９７】

腫瘍細胞に結合する抗体は、抗細胞増殖の治療又は療法の特定の例である。抗腫瘍抗体は例えば白血病細胞ＣＤ３３抗原に結合するＭ１９５抗体（米国特許６，５９９，５０５）；卵巣癌腫ＣＡ６腫瘍関連抗原に結合するモノクローナル抗体ＤＳ６（米国特許６，５９６，５０３）；上皮細胞表面Ｈ抗原に結合するヒトＩＢＤ１２モノクローナル抗体（米国特許４，８１４，２７５）；及び結腸、乳房、卵巣、及び肺の癌腫により発現されるＬｅ^{x}炭水化物エピトープに結合するＢＲ９６抗体を包含する。使用できるさらなる抗腫瘍抗体は、例えばヘルセプチン（抗－Ｈｅｒ－２ｎｅｕ抗体）、リツキサン（Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標））、ゼバリン、ベバシツマブ（アバスチン）、ベキサール、カンパス（Ｃａｍｐａｔｈ（登録商標））、オンコリム、１７－１Ａ（エドレコロマブ）、３Ｆ８（抗神経芽腫抗体）、ＭＤＸ－ＣＴＬＡ４、ＩＭＣ－Ｃ２２５（セツキシマブ）及びミログが挙げられる。

【０１９８】

本明細書において使用する場合、「免疫増強」という用語は、治療、施療、薬剤又は薬品に言及しながら使用される場合、治療、施療、薬剤又は薬品が、体液性又は細胞媒介性の免疫応答の増大、刺激、誘導又は促進をもたらすことを意味する。そのような施療は一般的に免疫応答を増強するか、特定の標的、例えば細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害、例えば新生物、腫瘍又は癌又は転移に対する免疫応答を増強する場合がある。

【０１９９】

免疫増強剤の具体的な非限定的な例として、抗体、細胞成長因子、細胞生存因子、細胞分化因子、サイトカイン及びケモカインが挙げられる。免疫増強剤及び治療のさらなる例として、免疫細胞、例えばリンパ球、プラズマ細胞、マクロファージ、樹状細胞、ＮＫ細胞及びＢ細胞が挙げられ、これらは細胞増殖性障害に対する抗体を発現するか、又は別様に、細胞増殖性障害に対する免疫応答を惹起する。免疫原性を増強又は刺激するサイトカインはＩＬ－２、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＩＬ－３、ＩＬ－６、ＩＬ－７、顆粒球－マクロファージ－コロニー刺激因子（ＧＭＣＳＦ）、ＩＦＮ－γ、ＩＬ－１２、ＴＮＦ－α、及びＴＮＦβを包含し、これらは又免疫増強剤の非限定的な例でもある。ＭＩＰ－１α、ＭＩＰ－１β、ＲＡＮＴＥＳ、ＳＤＦ－１、ＭＣＰ－１、ＭＣＰ－２、ＭＣＰ－３、ＭＣＰ－４、エオタキシン、エオタキシン－２、Ｉ－３０９／ＴＣＡ３、ＡＴＡＣ、ＨＣＣ－１、ＨＣＣ－２、ＨＣＣ－３、ＰＡＲＣ、ＴＡＲＣ、ＬＡＲＣ／ＭＩＰ－３α、ＣＫβ、ＣＫβ６、ＣＫβ７、ＣＫβ８、ＣＫβ９、ＣＫβ１１、ＣＫβ１２、Ｃ１０、ＩＬ－８、ＥＮＡ－７８、ＧＲＯα、ＧＲＯβ、ＧＣＰ－２、ＰＢＰ／ＣＴＡＰＩＩＩβ－ＴＧ／ＮＡＰ－２、Ｍｉｇ、ＰＢＳＦ／ＳＤＦ－１、及びリンホタクチンを包含するケモカインは免疫増強剤の別の非限定的な例である。

【０２００】

本発明の方法は又、特に、他の治療プロトコル又は施療投薬法、プロセス又は治療法を必要性又は使用を低減させる方法を包含する。例えば、新生物、腫瘍又は癌、又は転移に関して、本発明の方法はそれが所定の対象において、新生物、腫瘍又は癌、又は転移の治療又は療法のための抗細胞増殖（例えば抗新生物、抗腫瘍又は抗癌）又は免疫増強の治療又は療法、例えば化学療法剤、放射線療法、免疫療法、又は手術の低頻度又は低用量又は排除をもたらす場合に、治療上の利益を有する。

【０２０１】

本発明によれば、抗細胞増殖（例えば抗新生物、抗腫瘍、抗癌又は抗転移）治療又は療

法の必要性又は使用を低減する方法が提供される。種々の実施形態において、方法は、細胞過剰増殖性障害（例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移）を治療するため、及び抗細胞増殖（例えば抗新生物、抗腫瘍又は抗癌又は抗転移）又は免疫増強の療法の必要性を低減又は排除するために有効な量のハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）を、対象に投与することを包含する。方法は抗新生物、腫瘍、癌又は転移、又は免疫増強の療法の施行の前、実質的同時、又は後に実施できる。

【０２０２】

治療上の利益又は改善を達成することが望まれる治療又は療法の方法における用量又は「有効量」又は「十分量」は例えば、計測可能か検出可能な範囲までの標的（例えば細胞過剰増殖性障害）に関連するかこれにより誘発される１種、数種又は全ての病態、有害症状又は合併症の何れかの他覚的又は自覚的な軽減又は緩解を包含するが、標的（例えば細胞過剰増殖性障害）の病態、有害症状又は合併症の進行又は悪化を防止、抑制又は遅延することも満足できる結果である。即ち、細胞過剰増殖性障害の場合において、量は所定の対象に対して治療上の利益をもたらすため、又は所定の対象における障害の病態、有害症状又は合併症を軽減又は緩解するために十分なものとなる。用量は治療又は療法の標的（例えば細胞過剰増殖性障害）の状態、又は治療又は療法の何れかの副作用により示される通り、比例的に増量又は低減され得る。

【０２０３】

例示される非限定的な量（用量）は約０．１ｍｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇの範囲及びその範囲内の何れかの数値又は範囲又は値である。より高値又は低値の量（用量）、例えば０．０１～５００ｍｇ／ｋｇ及びその範囲内の何れかの数値又は範囲又は値を投与できる。さらなる例示される非限定的な量（用量）は約０．５～５０ｍｇ／ｋｇ、１．０～２５ｍｇ／ｋｇ、１．０～１０ｍｇ／ｋｇの範囲、及びその範囲内の何れかの数値又は範囲又は値である。

【０２０４】

本発明の方法は一日当たり、週当たり、月当たり、又は年当たり１回以上（例えば１～１０、１～５又は１～３回）実施され得る。投与を遅延又は中断する適切な時期は当業者の知る通りである。例示される非限定的な用量計画は週当たり１～７回を１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０週間以上で、及びその範囲内の何れかの数値又は範囲又は値である。

【０２０５】

当然ながら、何れかの治療又は療法に関して典型的である通り、異なる対象は治療に対して異なる応答を示し、そして一部のものは特定の治療プロトコル、投薬法又はプロセスに対して応答しないか、不十分に応答するのみである。従って有効又は十分な量は
治療すべき障害（例えば細胞増殖、良性の過形成又は新生物、腫瘍又は癌、及び型又は病期、例えば腫瘍又は癌の等級及びそれが進行、後期又は早期の病期であるか）、所望の治療効果、並びに個体対象（例えば対象内での生体利用性、性別、年齢等）及び遺伝的及び後成的な変動性（例えば薬学ゲノム）に基づいた治療への対象の応答に、少なくとも部分的に依存している。

【０２０６】

細胞毒性及び生存性（細胞のアポトーシス、溶解、成長増殖等）は、当該分野で知られた比色、ルミネセンス、放射能測定、又は蛍光測定によるアッセイに基づいた種々の方法により計測できる。比色による手法、例えばトリパンブルー排出は細胞の生存性を測定するために使用できる。概説すると細胞をトリパンブルーで染色し、血球計算器を用いて係数する。生細胞は染料を排出するのに対し、死滅した、又は死滅中の細胞は青色染料を取り込み、そして光学顕微鏡下で容易に区別可能である。ニュートラルレッドは生細胞には吸収され、細胞のリソソーム中に濃縮され；生細胞はニュートラルレッド染色細胞の数を

定量することにより光学顕微鏡で測定することができる。

【０２０７】

細胞生存性を測定するための蛍光測定の手法は例えばヨウ化プロピジウム、蛍光ＤＮＡインターカレーション剤を包含する。ヨウ化プロピジウムは生細胞から排出されるが死細胞の核は染色する。次にヨウ化プロピジウム標識細胞のフローサイトメトリーを用いて生細胞及び死細胞を定量することができる。ラクテートデヒドロゲナーゼ（ＬＤＨ）の放出は細胞の構造的損傷及び死滅を示しており、そして分光分析による酵素アッセイにより計測できる。ブロモデオキシウリジン（ＢｒｄＵ）は新しく合成されたＤＮＡ内に取り込まれ、そして蛍光色素標識抗体により検出できる。蛍光染料Ｈｏｅｃｈｓｔ３３２５８でＤＮＡを標識し、細胞の増殖を定量するために使用できる（例えばフローサイトメトリー）。蛍光染料カルボキシフルオレセインジアセテートスクシンイミジルエステル（ＣＦＳＥ又はＣＦＤＡ－ＳＥ）の定量的取り込みは細胞分裂の分析を可能にする（例えばフローサイトメトリー）。この手法はインビトロ又はインビボの何れにおいても使用できる。７－アミノアクチノマイシンＤ（７－ＡＡＤ）はＤＮＡとの会合時にスペクトルのシフトを起こす蛍光インターカレーターであり、そして細胞分裂の分析を可能にする（例えばフローサイトメトリー）。

【０２０８】

細胞増殖を測定するための放射線測定の手法は例えば［^{3}Ｈ］－チミジンを包含し、これは生細胞の新規合成ＤＮＡ内に取り込まれ、そして細胞の増殖を測定するために頻繁に使用されている。シンチレーション計数により死細胞からのクロム（^{51}Ｃｒ）放出を定量することにより細胞の生存性を定量することができる。

【０２０９】

細胞の生存性を測定するためのルミネセンス手法は、例えばＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏルミネセンス細胞生存性アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ　Ｍａｄｉｓｏｎ　ＷＩ）を包含する。この手法はＡＴＰ存在量を定量することにより生細胞数を測定する。

【０２１０】

細胞の生存性及び細胞の増殖を測定するための市販のキットは例えば細胞増殖バイオトラックＥＬＩＳＡ（Ａｍｅｒｓｈａｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）；蛍光試薬の異なる取り込みに基づいた迅速な細胞数と生存性の測定を可能にするＧｕａｖａＶｉａＣｏｕｎｔ^{TM}アッセイ（Ｇｕａｖａ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｈａｙｗａｒｄ，ＣＡ）；ＣｙＱＵＡＮＴ（登録商標）細胞増殖アッセイキット（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）；及びＣｙｔｏＬｕｘアッセイキット（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｉｎｃ．，Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ）を包含する。ＤＥＬＦＩＡ（登録商標）アッセイキット（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｉｎｃ．，Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ）は時間分解蛍光測定法を用いて細胞増殖及び生存性を測定できる。Ｑｕａｎｔｏｓ^{TM}細胞増殖アッセイは溶解した細胞からのＤＮＡ染料複合体の蛍光を計測する蛍光系のアッセイである（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ，Ｌａ　Ｊｏｌｌａ，ＣＡ）。ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ細胞生存性アッセイは細胞生存性を計測するためのルミネセンスアッセイである（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ　ＷＩ）。

【０２１１】

「対象」及び「患者」という用語は本明細書においては互換的に使用され、そして動物、典型的には哺乳類、例えばヒト、非ヒト霊長類（ゴリラ、チンパンジー、オランウータン、マカク、ギボン）、ペット（イヌ及びネコ）、牧場動物（ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ）、実験動物（マウス、ラット、ウサギ、モルモット）を指す。対象はインビボの薬効を研究するための疾患モデル動物（例えばマウス、ラット及び非ヒト霊長類）を包含する（例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移の動物モデル）。ヒト対象は小児、例えば新生児、乳児、幼児及び１０代、１～５、５～１０及び１０～１８歳、１８～６０歳の成人、及び高齢者、例えば６０～６５、６５～７０及び７０～１００歳を包含する。

【０２１２】

対象は治療を要する哺乳類（例えばヒト）、即ち、望ましくない、又は異常な細胞増殖（細胞過剰増殖）又は細胞過剰増殖性障害を有する者を包含する。対象はまた、望ましくない細胞の増殖又は細胞過剰増殖性障害を有する危険性を有する者を包含する。対象は更に、抗細胞増殖又は免疫増強の治療又は療法が、そのような治療を要求している検査室又は病院の診断のために必要となっている対象、抗細胞増殖又は免疫増強の療法を受けている対象、及び抗細胞増殖又は免疫増強の療法を受けており、そして回帰又は再発の危険性を有する対象を包含する。

【０２１３】

危険性を有する対象は、家族の病歴、遺伝子的素因を有するもの、又は細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害（例えば良性の過形成、新生物、腫瘍又は癌、又は転移）の病歴を有するか、回帰又は再発の危険性を有するものを包含する。危険性を有する対象は更に、発癌性物質又は突然変異誘発物質への環境上の曝露、例えば喫煙者、又は職業上（工業、化学、農業）の環境にあるものを包含する。そのような対象、新生物、腫瘍又は癌のような細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害を発症する危険性を有する対象は、腫瘍関連の遺伝子、遺伝子の欠失又は遺伝子の突然変異を目標物とした遺伝子スクリーニングにより識別できる。例えばＢｒｃａｌを欠失している対象は乳癌を発症する危険性がある。結腸癌を発症する危険性を有する対象は欠失又は突然変異した腫瘍抑制遺伝子、例えば結腸腺腫様ポリープ（ＡＰＣ）を有する。細胞増殖性障害に関する特定の遺伝的素因を有する危険性のある対象が知られている（例えばＴｈｅ Ｇｅｎｅｔｉｃ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｈｕｍａｎ Ｃａｎｃｅｒ 第２版、Ｂｅｒｔ Ｖｏｇｅｌｓｔｅｉｎ（編者）、Ｋｅｎｎｅｔｈ Ｗ．Ｋｉｎｚｌｅｒ（編者）（２００２）ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ Ｐｒｏｆｅｓｓｉｏｎａｌ；Ｔｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｈｕｍａｎ Ｃａｎｃｅｒ．、編者ＷＢ Ｃｏｌｅｍａｎ及びＧＪ Ｔｓｏｎｇａｌｉｓ（２００１）Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ；及びＴｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ．、Ｍｅｎｄｅｌｓｏｈｎら、ＷＢ Ｓａｕｎｄｅｒｓ（１９９５）参照）。

【０２１４】

従って危険性を有する対象は、細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害の発症を抑制するかその可能性を低減するために、又は細胞増殖性障害が治癒した、同じか又は異なる細胞増殖性又は細胞過剰増殖性障害の回帰又は再発に罹患した後に、治療されることができる。そのような治療の結果は、細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害を発症する危険性を低減すること、又は治療された危険性を有する対象における細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害又はその病態、有害症状又は合併症を防止することであり得る。

【０２１５】

本発明は更に、場合によりキットの成分を用いるための説明書、例えば本発明の方法を実施するための説明書と組み合わせて、適当なパッケージ材料中にパッケージされた抗原、抗体、機能的フラグメント、修飾及び変異体の形態、核酸、薬剤、薬品及び医薬品製剤を包含するキットを提供する。種々の実施形態において、キットは、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）、又は抗体、例えばハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体を包含する。１つの態様において、説明書は望ましくない細胞増殖又は過剰増殖、又は細胞過剰増殖性障害を治療することに関するものである。別の態様において、説明書は新生物、腫瘍又は癌、又は転移を治療することに関するものである。その他の実施形態において、キットは、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体、及び望ましくない細胞増殖又は過剰増殖、又は細胞過剰増殖性障害を治療することに関する説明書、及び抗細胞増殖又は免疫増強の治療、薬剤又は薬品を包含する。種々の態様において、キットは抗新生物、抗癌又は抗腫瘍の薬剤を包含する。更にその他の態様において、キットは製造物品、例えば局所的、局部的又は全身投与により対象に抗体又は核酸、抗細胞増殖又は免疫増強の治

療、薬剤又は薬品を送達するための製造物品を包含する。

【０２１６】

「パッケージ材料」という用語はキットの成分を収容する物理的構造を指す。パッケージ材料は成分を無菌的に維持することができ、そのような目的のために一般的に使用されている材料（例えば紙、波状線維、ガラス、プラスチック、ホイル、アンプル等）から作成できる。ラベル又は添付文書（ｐａｃｋａｇｉｎｇ　ｉｎｓｅｒｔ）は適切な書面による説明書を包含でき、例えば本発明の方法の実施、例えば、細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害を治療すること、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞等を目標としてスクリーニングするか、これを検出するか、又は識別するためのアッセイを含む。即ち、追加的実施形態においては、キットは溶液中、インビトロ、インビボ又はエクスビボにおいて本発明の方法を実施するための説明書を包含するラベル又は添付文書を包含する。

【０２１７】

従って説明書は本明細書に記載した本発明の方法の何れかを実施するための説明書を包含する。例えば、本発明の医薬組成物は細胞増殖性又は細胞過剰増殖性の障害、例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移を治療するための対象への投与に関する説明書と共に容器、パック又はディスペンサー内に包含することができる。説明書は更に、満足できる臨床上の終点の説明又は生じ得る何れかの有害症状又は合併症、保存に関する情報、有効期日、又はヒト対象における使用に関する食品医薬品局のような規制当局の要求する何れかの情報が含まれ得る。

【０２１８】

説明書は「印刷物」上、例えばキット内の紙又は厚紙上、キット又はパッケージ材料に固定されるか、キットの成分を含有するバイアル又はチューブに接着されたラベル上にあってよい。説明書は音声又はビデオテープを含み、そしてさらにコンピューターで読み取り可能な媒体上、例えばディスク（フロッピー（登録商標）ディスケット又はハードディスク）、光学ＣＤ、例えばＣＤ又はＤＶＤ－ＲＯＭ／ＲＡＭ、磁気テープ、電気的保存媒体、例えばＲＡＭ及びＲＯＭ及びこれらの複合物、例えば磁気／光学保存媒体に包含されて良い。

【０２１９】

本発明のキットはさらに緩衝剤、保存料、又は蛋白／核酸安定化剤を包含できる。キットは又活性をアッセイするための対照成分、例えば対照試料又は標準物質を包含できる。キットの各成分は個別の容器内に、又は混合物として封入されることができ、そして種々の容器の全てが単一又は多数のパッケージ内に内包され得る。

【０２２０】

本発明の抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）、抗体（例えばハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体、核酸、及び他の組成物及び方法は医薬品製剤中に包含されるか、これを使用することができる。そのような医薬品製剤はインビボ又はエクスビボでの対象の治療、又は対象への投与又は送達のために有用である。

【０２２１】

医薬品製剤は「製薬上許容し得る」及び「生理学的に許容される」担体、希釈剤又は賦形剤を包含する。本明細書において使用する場合、「製薬上許容し得る」及び「生理学的に許容される」という用語は、医薬品の投与に適合する溶媒（水性又は非水性）、溶液、乳液、分散媒体、コーティング、等張性付与及び吸収促進又は遅延剤を包含する。そのような製剤は液体；乳液、懸濁液、シロップ又はエリキシル又は固体形態；錠剤（コーティング又は未コーティング）、カプセル（ハード又はソフト）、粉末、顆粒、結晶、又はマイクロビーズ内に含有させることができる。補助的化合物（例えば保存料、抗細菌剤、抗

ウィルス及び抗カビ剤）もまた製剤中に配合できる。

【０２２２】

医薬品製剤は特定の局所、局部的又は全身への投与又は送達の経路に適合するように製造できる。即ち、医薬品製剤は特定の経路による投与に適する担体、希釈剤、又は賦形剤を包含する。本発明の組成物の投与の経路の具体的な非限定的な例は、非経腸、例えば静脈内、動脈内、皮内、筋肉内、皮下、胸膜内、経皮（局所）、経粘膜、頭蓋内、脊髄内、眼内、直腸、経口（混餌）、粘膜投与、及び治療方法又は投与プロトコルに適する何れかの他の製剤である。

【０２２３】

非経腸適用のために使用される溶液又は懸濁液は滅菌希釈剤、例えば注射用水、食塩水、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶媒；抗細菌剤、例えばベンジルアルコール又はメチルパラベン；抗酸化剤、例えばアスコルビン酸又は重亜硫酸ナトリウム；キレート形成剤、例えばエチレンジアミン４酢酸；緩衝剤、例えば酢酸塩、クエン酸塩又はリン酸塩及び張力調節剤、例えば塩化ナトリウム又はデキストロースを包含できる。ｐＨは酸又は塩基、例えば塩酸又は水酸化ナトリウムを用いて調節できる。

【０２２４】

注射のための医薬品製剤は滅菌水溶液（水溶性の場合）又は分散液及び滅菌注射用溶液又は分散液のｃのための滅菌粉末を包含する。静脈内投与のためには、適当な担体は生理食塩水、静細性の水、ＣｒｅｍｏｐｈｏｒＥＬ™（ＢＡＳＦ，Ｐａｒｓｉｐｐａｎｙ，ＮＪ）又はリン酸塩緩衝食塩水（ＰＢＳ）を包含する。担体は例えば水、エタノール、ポリオール（例えばグリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコール等）及びこれらの適当な混合物を含有する溶媒又は分散媒体であり得る。流動性は、例えばレシチンのようなコーティングの使用により、分散体の場合は所望の粒径の維持により、そして界面活性剤の使用により、維持することができる。抗細菌及び抗カビ剤は例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸及びチメロサルを包含する。等張性付与剤、例えば糖類、多価アルコール、例えばマンニトール、ソルビトール、塩化ナトリウムを組成物中に包含させることができる。吸収を遅延させる剤、例えばモノステアリン酸アルミニウム又はゼラチンを包含させると注射用組成物の吸収を延長できる。

【０２２５】

滅菌注射用製剤は上記成分の１つ又は組み合わせと共に適切な溶媒中必要な量の活性組成物を配合することにより製造できる。一般的に、分散液は基剤となる分散媒体及び何れかの他の成分を含有する滅菌ビヒクル内に活性組成物を配合することにより製造される。滅菌注射用溶液の製造のための滅菌粉末の場合は、製造方法は例えば、活性成分＋何れかのさらなる所望の成分の粉末を、予め調整されたその溶液から生じさせる、真空乾燥及び凍結乾燥を包含する。

【０２２６】

経粘膜又は経皮投与のためには、透過すべき障壁に対して適切である浸透剤を製剤中で使用する。そのような浸透剤は当該分野で知られており、そして、例えば経粘膜投与のためには、洗剤、胆汁酸塩、及びフシジン酸誘導体を包含する。経粘膜投与は鼻内スプレー、吸入器具（例えばアスピレーター）又は座剤の使用を介して達成できる。経皮投与のためには、活性化合物は軟膏、膏薬、ゲル、クリーム又はパッチ剤に製剤する。

【０２２７】

医薬品製剤は身体からの急速な排除から保護する担体、例えば制御放出処方、又は放出遅延物質、例えばグリセリルモノステアレート又はグリセリルステアレートと共に製造できる。製剤は又、製造物品、例えば、局所、局部的又は全身への送達又は制御又は持続放出を達成するためのインプラント及びマイクロカプセル送達系を用いて送達できる。

【０２２８】

生体分解性の生体適合性重合体、例えばエチレン酢酸ビニル、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、及びポリ乳酸を使用できる。そのような製剤

の製造方法は当業者の知る通りである。材料は又、Ａｌｚａ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ（Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ，ＣＡ）から販売されている。リポソーム懸濁液（抗体又はウィルス被膜蛋白を用いて細胞又は組織にターゲティングされるリポソームを包含する）もまた製薬上許容し得る担体として使用できる。これらは例えば米国特許４，５２２，８１１に記載されている既知の方法に従って製造できる。

【０２２９】

投与のために適切なさらなる医薬品製剤は当該分野で知られている（例えばＧｅｎｎａｒｏ（編）、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ、第２０版、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ，Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ（２０００）；Ａｎｓｅｌら、Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ、第７版、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ（１９９９）；Ｋｉｂｂｅ（編）、Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｅｘｃｉｐｉｅｎｔｓ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ、第３版（２０００）；及びＲｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ Ｓｏｌｉｄ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ、Ｔｅｃｈｎｏｎｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｉｎｃ．、Ｌａｎｃａｓｔｅｒ，Ｐａ．（１９９３）参照）。

【０２３０】

蛋白（抗体）、核酸（抑制性）、治療、施療、薬剤、薬品及び医薬品製剤を包含する本発明に従って使用される組成物は、投与の容易さ及び投薬量の均一性のために単位剤型でパッケージできる。「単位剤型」とは、本明細書において使用する場合、統一的な投薬治療として適する物理的に別々の単位を指し；各々の単位は所望の治療又は療法（例えば有益な）作用を生じさせるために計算された、担体、賦形剤、希釈剤、又はビヒクルと組み合わせた組成物の量を含有する。単位剤型は限定しないが、使用する特定の組成物、達成すべき作用、及び治療される対象の薬力学及び薬学ゲノムを包含する種々の要因に応じたものとなる。

【０２３１】

本発明はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）をスクリーニング、検出及び識別する無細胞（例えば溶液中、又は固相中）及び細胞系（例えばインビトロ又はインビボ）の方法を提供する。方法は溶液中、インビトロで生物材料又は試料を用いながら、インビボで例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移性細胞、動物由来の組織又は臓器（例えば生検試料）を用いながら、実施できる。

【０２３２】

本発明によれば、抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドと同一性を有する配列、例えば配列番号１１又は１２に示す１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０又は１００以上（例えば完全長）の近接アミノ酸と同一な配列、ＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム、又は炭水化物部分を含むＴＡＦ１５ポリペプチド）、又はハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体が結合する細胞又は抗原を識別、検出又はそれを目標物としてスクリーニングする方法が提供される。１つの実施形態において、方法は、ＴＡＦ１５ポリペプチドと配列同一性を有する抗原への抗体の結合を可能にする条件下に抗体又はその機能的フラグメントに生物材料又は試料を接触させること；及び抗原への抗体の結合をアッセイすることを包含する。抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への抗体の結合はＴＡＦ１５ポリペプチドとの配列同一性を有する抗原の存在を検出している。別の実施形態においては、方法

は、細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への抗体の結合を可能にする条件下に、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に生物材料又は試料を接触させること；及び細胞又は抗原への抗体の結合をアッセイすることを包含する。細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への抗体の結合はそれらの存在を検出している。１つの態様において、生物材料又は試料は哺乳類対象から得られる。その他の態様において、細胞又は抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）に結合する抗体は、ハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体とは異なる。

【０２３３】

本発明は又、望ましくない又は異常な細胞増殖又は細胞過剰増殖性の障害（例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移）を有するか、有する危険性が高い対象を診断する無細胞（例えば溶液中、固相中）及び細胞系（例えばインビトロ又はインビボ）の方法を提供する。方法は溶液中、インビトロで生物材料又は試料、例えば新生物、腫瘍又は癌を含むかそれを示す場合がある疑わしい細胞、又は転移性細胞、組織又は臓器の生検試料を用いながら実施できる。方法は又、インビボで、例えば動物中で実施できる。

【０２３４】

本発明によれば、望ましくない又は異常な細胞増殖又は細胞過剰増殖性障害（例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移）を有するか、有する危険性が高い対象を診断する方法が提供される。１つの実施形態において、方法は、対象に由来する生物材料又は試料を準備すること；ＴＡＦ１５ポリペプチドへの配列同一性を有する抗原への抗体の結合を可能にする条件下で抗体又はその機能的フラグメントに生物材料又は試料を接触させること；及び抗原への抗体の結合をアッセイすることを包含する。抗原（例えばＢＡＲＢ４標的、例えばＴＡＦ１５ポリペプチドの細胞膜結合型アイソフォーム）への抗体の結合は望ましくない又は異常な細胞増殖又は細胞過剰増殖性障害（例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移）を有するか、有する危険性が増大している対象を診断している。別の実施形態においては、方法は対象に由来する生物材料又は試料を準備すること；細胞又は抗原への抗体の結合を可能にする条件下でハイブリドーマＤＳＭＺ寄託番号ＤＳＭ　ＡＣＣ２８７６により生産される抗体、又はそれぞれ配列番号１、３、５、７；及び９として示される重鎖及び軽鎖の配列により示されるＢＡＲＢ４抗体に生物材料又は試料を接触させること；及び細胞又は抗原への抗体の結合をアッセイすることを包含する。細胞又は抗原への抗体の結合は、望ましくない又は異常な細胞増殖又は細胞過剰増殖性障害（例えば新生物、腫瘍又は癌、又は転移）を有するか有する危険性が増大しているものとして対象を診断している。１つの態様において、生物材料又は試料はヒトから得られる。別の態様においては、生物材料又は試料は生検試料（例えば肺、膵臓、胃、乳房、食道、卵巣又は子宮の生検試料）を含む。

【０２３５】

本発明の識別、検出、スクリーニング及び診断のアッセイは被疑的過剰増殖細胞、例えば細胞過剰増殖性障害の細胞の分析により実施できる。細胞は過剰増殖性、不朽化、新生物、腫瘍及び癌性の細胞系統、及び、乳房、肺、甲状腺、頭頚部、鼻咽頭、鼻又は副鼻腔、脳、脊髄、副腎、甲状腺、リンパ、胃腸（口腔、食道、胃、十二指腸、回腸、空腸（小腸）、結腸、直腸）、泌尿器管（子宮、卵巣、子宮頚部、膀胱、精巣、陰茎、前立腺）、腎臓、膵臓、副腎、肝臓、骨、骨髄、リンパ、血液、筋肉、皮膚、及び造血系から誘導した原発単離株、及び転移又は二次的部位を包含する。

【０２３６】

「接触する」という用語は、組成物、例えば蛋白（例えば抗体）、物質、試料、又は治療に言及して使用される場合、組成物（例えば抗体等の蛋白）と他の言及されている実体

との間の直接又は間接の相互作用を意味する。直接の相互作用の特定の例は結合である。間接の相互作用の特定の例は組成物が中間的な分子に作用し、次にこれが言及されている実体に作用する場合である。即ち、例えば、細胞（例えば細胞過剰増殖性障害を含むもの）又は抗原を抗体に接触させることは、抗体を細胞又は抗原に結合させること、又は後に細胞又は抗原に作用することになる中間物（例えば抗原）に抗体を作用させることを包含する。

【０２３７】

「アッセイする」及び「計測する」という用語、及びその文法的変化形は本明細書においては互換的に使用され、そして定性的又は定量的な測定の何れか、又は定性的及び定量的な測定の両方を指す。用語を結合に言及して使用する場合、結合の相対的な量、親和性又は特異性をアッセイする何れかの手段が意図されており、本明細書に記載した、及び当該分野で知られている種々の方法が包含される。例えば、抗体の結合はＥＬＩＳＡアッセイによりアッセイ又は計測できる。

【０２３８】

特段の記載が無い限り、本明細書において使用する全ての科学技術用語は本発明が関連する分野の技術者が一般的に理解しているものと同じ意味を有する。本明細書に記載した者と同様又は等価な方法及び材料を本発明の実施又はアッセイに使用できるが、適当な方法及び材料は本明細書に記載する通りである。

【０２３９】

本明細書において引用した全ての公開物、特許、ジェンバンクアクセッション番号及び他の参考文献は参照により全体が本明細書に組み込まれる。矛盾がある場合は、定義を含めて本明細書が優先する。

【０２４０】

本明細書において使用する場合、特段の記載が無い限り、単数標記は複数標記を包含する。即ち、「抗原」又は「抗体」は複数の抗原又は抗体を包含し、そして「治療又は療法」に言及する場合は、多数の同時、連続又は逐次的な治療又は療法を包含しえるもの等とする。

【０２４１】

本明細書においては、全ての数値又は数的範囲は、特段の記載が無い限り、そのような範囲内、又はそれを包含する全ての整数、及び範囲内又はそれを包含する値又は整数の分数を包含するものとする。即ち、９０～１００％の範囲に言及する場合、そのような値の範囲内又はそれを包含する何れかの数値又は範囲、例えば９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９５％、９７％等、並びに９１．１％、９１．２％、９１．３％、９１．４％、９１．５％等、９２．１％、９２．２％、９２．３％、９２．４％、９２．５％等、及びそのような範囲内の何れかの数的範囲、例えば９０～９２％、９０～９５％、９５～９８％、９６～９８％、９９～１００％等を包含する。追加的実施例において、１～５０００倍の範囲に言及する場合、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０倍等、並びに１．１、１．２、１．３、１．４、１．５倍等、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５倍等、及びそのような範囲内の何れかの数的範囲、例えば１～２、５～１０、１０～５０、５０～１００、１００～５００、１００～１０００、５００～１０００、１０００～２０００、１０００～５０００等を包含する。その他の実施例において、ＫＤ１０$^{-5}$Ｍ～約ＫＤ１０$^{-13}$Ｍの範囲に言及する場合、そのような値の範囲内又はそれを包含する何れかの数値又は範囲を包含する。

【０２４２】

本発明は一般的に多くの実施形態を説明するために肯定的な言語を用いながら本明細書において開示している。本発明は又、物質又は材料、方法の工程及び条件、プロトコル、操作法、アッセイ又は分析のような特定の用件を全体又は部分的に省略している実施形態も特に包含している。即ち、本発明は本発明が包含しないものに関して一般的に本明細書に明記していない場合であっても、本発明に包含されると明示されない態様であってもし

かし開示されている。

【０２４３】

本発明の多くの実施形態を説明してきた。しかしなお、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく種々の変更が可能であると理解されるものである。従って、以下の実施例は請求項に記載されている本発明の範囲を説明するものであって、これを限定する意図はない。

【実施例】

【０２４４】

実施例１

本実施例は種々の例示される材料及び方法及びデータを説明している。

【０２４５】

免疫組織化学的（ＩＨＣ）分析

ヒト組織に対するヒトＩｇＧを用いた免疫組織化学的分析は、当然ながら高いバックグラウンド染色をもたらす。従って、バックグラウンドを低減するためにＢＡＲＢ４をビオチンで標識した。

【０２４６】

ＢＡＲＢ４抗体及び未関連の市販のＩｇＧ対照（ＣｈｒｏｍｐｕｒｅＩｇＧ，Ｄｉａｎｏｖａ）をＰｉｅｒｃｅから入手した「ＥＺ－リンクマレイミド－ＰＥＯ固相ビオチニル化キット」（カタログ番号＃２１９３０）で標識し、そして免疫組織化学的分析を異なる腫瘍組織に対して開始した。先ずパラフィン包埋組織をキシレン１で５分間、キシレン２で５分間、次いで１００％エタノール１で５分間、１００％エタノール２で５分間、７０ｍｌメタノール＋５００μｌ過酸化水素で７分間、９０％エタノール１で３分間、９０％エタノール２で３分間、８０％エタノール１で３分間、８０％エタノール２で３分間、７０％エタノール１で３分間、７０％エタノール２で３分間、を用いた処理により脱パラフィン化し、次に蒸留水で３回洗浄した。（１及び２は組織を、２つの異なるタンク中、順次、同じアルコールで２回処理したことを意味する。）次に組織をクエン酸ｐＨ５．５中ウォーターバス中９９．９℃で２０分間加熱し、Ｔｒｉｓ／ＮａＣｌ（Ｔｒｉｓ、０．６ｇ／ｌ及びＮａＣｌ８．１ｇ／ｌ、ｐＨ７．４）中に５分間入れ、ＰＢＳ中０．５％ＢＳＡで６０分間ブロックし、そして次に３回Ｔｒｉｓ／ＮａＣｌ（Ｔｒｉｓ、０．６ｇ／ｌ及びＮａＣｌ８．１ｇ／ｌ、ｐＨ７．４）で洗浄した。一次抗体（顕微鏡スライド当たり１５０μｌ）、又は陰性対照ビオチニル化アイソタイプマッチ対照ヒト抗体（ＣｈｒｏｍｐｕｒｅＩｇＧ、Ｄｉａｎｏｖａ、Ｇｅｒｍａｎｙ）又は陽性対照抗サイトケラチン抗体を添加し、そして３７℃で湿潤チャンバー中で３０分間インキュベートした。組織をＴｒｉｓ／ＮａＣｌ（Ｔｒｉｓ、０．６ｇ／ｌ及びＮａＣｌ８．１ｇ／ｌ、ｐＨ７．４）で３回洗浄した。二次抗体（顕微鏡スライド当たり１５０μｌ）をその後添加し、そして室温で湿潤チャンバー中で３０分間（ビオチニル化抗体の場合はＮｅｕｒｔｒＡｖｉｄｉｎをＰＢＳ中１：１００）インキュベートし、Ｔｒｉｓ／ＮａＣｌ（Ｔｒｉｓ、０．６ｇ／ｌ及びＮａＣｌ８．１ｇ／ｌ、ｐＨ７．４）で３回洗浄し、１０分間ＰＢＳ中に入れた。その後組織をジアミノベンジジン（０．０５％）－過酸化水素（０．０２％）（顕微鏡スライド当たり１５０μｌ）（Ｓｉｇｍａ、Ｔａｕｆｋｉｒｃｈｅｎ、Ｍｕｎｃｈｅｎ、Ｇｅｒｍａｎｙ）と共に１０分間インキュベートし、水で３回洗浄し、蒸留水で１回洗浄し、ヘマトキシリン／エオシンと共に５分間インキュベートし、そして水道水の水流下に１０～１５分間置いた。次に組織を再度蒸留水で洗浄し、そしてスライドをＡｑｕａｔｅｘ（Ｍｅｒｃｋ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）で被覆した。データを以下の表１に示す。

【０２４７】

【表１】

表１：ＩＨＣデータ

	組織	癌腫型	Ｂａｒｂ４＋／－
悪性組織	胃	腺癌（間質性）	2/0
		腺癌（心臓、間質性）	1/0
	肺	カルチノイド（ニューロン－内分泌）	1/0
		扁平上皮細胞	2/0
		リンパ節転移	1/0
	結腸	腺癌	1/0
		肝転移	2/0
	膵臓	腺癌	0/1
		リンパ節転移	4/0
	食道	腺癌（バレット癌腫）	1/0
		扁平上皮細胞	1/0
	前立腺	腺癌	1/0
	乳房	侵襲性腺管癌	2/0
		肺転移	1/0
		リンパ節転移	1/0
	黒色腫	悪性黒色腫の転移	5/0
	組織	細胞型	Ｂａｒｂ４＋／－
健常組織	肺	腺、肺胞	0/3
	乳房	腺	0/2
	結腸	腺	0/3
	胃	腺	0/3
	膵臓	腺	0/2
	食道	上皮	0/1

ＦＡＣｓ分析

腫瘍細胞の結合を分析するために、膵臓癌細胞（ＢＸＰＣ－３）、胃癌細胞（２３１３２／８７）、肺癌細胞（Ａ５４９）及び悪性黒色腫細胞（ＨＴＢ－６９及びＣＲＬ－１４２４）を完全培地中サブコンフルエントまで生育させ、トリプシン／ＥＤＴＡで剥離し、そして１時間氷上でインキュベートすることにより再生した。次に腫瘍細胞を氷上でＢＡＲＢ４抗体（０．０１％アジ化ナトリウム含有ＰＢＳ中に希釈）、又はヒトアイソタイプマッチ対照抗体（Ｃｈｒｏｍｐｕｒｅ ｈｕｍａｎ ＩｇＧ、Ｄｉａｎｏｖａ、Ｈａｍｂｕｒｇ、Ｇｅｒｍａｎｙ）と共に、２０分間氷上でインキュベートした。インキュベーションの後、細胞をＦＩＴＣ標識ウサギ抗ヒトＩｇＧ抗体（１：５０、Ｄａｋｏ、Ｇｅｒｍａｎｙ）と共に２０分間氷上でインキュベートし、そして細胞をフローサイトメトリー（

ＦＡＣＳｃａｎ；Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ、ＵＳＡ）で分析した。データはＢＡＲＢ４抗体が膵臓（ＢＸＰＣ－３）癌細胞、胃癌細胞（２３１３２／８７）、肺癌細胞（Ａ５４９）及び悪性黒色腫細胞（ＨＴＢ－６９及びＣＲＬ－１４２４）に結合することを示していた。

【０２４８】

ＭＴＴ細胞増殖アッセイ

腫瘍細胞の増殖を分析するために、胃癌細胞（２３１３２／８７）、悪性黒色腫細胞（ＨＴＢ－６９）、結腸及び膵臓の癌細胞をトリプシン処理し、そして１０％ウシ胎児血清（ＦＣＳ）、１％グルタミン、及び１％ペニシリン／ストレプトマイシンを含有するＲＰＭＩ－１４６０培地（完全培地）１０ｍｌ中に再懸濁した。細胞（1×10^{4}）を９６穴プレート（２４時間）中にプレーティングし、そして精製された抗体又は抗体を含有する上澄みと共に４８時間３７℃でインキュベートした。インキュベーションの後、５０μｌのＭＴＴ（３－（４，５－ジメチルチアゾール－２－イル）－２，５－ジフェニルテトラゾリウムブロミド）溶液（ＰＢＳ中５ｍｇ／ｍｌ）（Ｓｉｇｍａ、Ｔａｕｆｋｉｒｃｈｅｎ、Ｍｕｎｃｈｅｎ、Ｇｅｒｍａｎｙ）を各ウェルに添加した。９６穴プレートを３０分間３７℃でインキュベートし、そして１０分間２８００ｒｐｍで遠心分離し、上澄みを吸引し、１５０μｌのＤＭＳＯを各ウェルに添加し、そして細胞ペレットを再懸濁した。吸光度は波長５４０ｎｍ及びレファレンス波長６９０ｎｍにおいてＥＬＩＳＡリーダー中で測定した。データを図１Ａ～１Ｆ及び３に示す。ＢＡＲＢ４は又ＢｘＰＣ－３、ＣＯＬＯ２０５、Ｈ４６０、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１及びＭＩＡＰａＣａ－２細胞、並びにＨＴ－２９、ＨＣＴ－１１６、ＢｘＰＣ－３、ＰＡＮＣ－１、Ａ５４９、ＰＣ－３及びＨＣＴ１１６細胞を包含する他の癌細胞系統の増殖の抑止得に関しても評価した。

【０２４９】

概説すると、アメリカンタイプカルチャーコレクション（ＡＴＣＣ）より入手した種々のヒト癌細胞系統を、１７５ｃｍ^{2}のＢＤ組織培養処理フラスコ中、標準的なインビトロの培養方法及びＡＴＣＣ推奨培地を用いながら樹立した。特にＭＤＡＭＢ－２３１培養物は湿潤３７℃、１００％空気のインキュベーター中でインキュベートし、そしてＢｘＰＣ－３、ＣＯＬＯ２０５、Ｈ４６０及びＭＩＡＰａＣａ－２培養物は湿潤３７℃、５％CO_{2}、９５％空気のインキュベーター中でインキュベートした。培養物は定期的に継代することにより対数期の成長を維持した。全細胞系統は元の推奨ＡＴＣＣ培地型及び補充物を用いながら低温保存物から作成した。細胞系統特異的播種密度は７２時間に渡る生育に関するＭＩＲプレクリニカルサービスから入手したヒストリカルデータに基づいた。

【０２５０】

ＩＣ５０プレート播種の当日、接着した細胞をトリプシンＥＤＴＡ、１Ｘ（Ｃｅｌｌ　Ｇｒｏ＃２５－０５３－ＣＩ）を用いながら各細胞系統についてフラスコから取り外した。トリプシンを完全培地で脱活性化し、そして細胞をプールした（各系統を個別に実施）。完全培地中のプールされた細胞は、Ｎｅｕｂａｕｅｒ　Ｂｒｉｇｈｔ－Ｌｉｎｅ（登録商標）血球系を用いながらトリパンブルー排除により計数した。各細胞系統に関するパーセント生存性は以下の通りであった。

ＢｘＰＣ－３（１）－９９．７％生存
ＢｘＰＣ－３（２、反復）－９８．１％生存
ＣＯＬＯ２０５－９５．９％生存
Ｈ４６０－９８．９％生存
ＭＤＡ－ＭＢ－２３１－９８．８％生存
ＭＩＡＰａＣａ－２－９２．０％生存　。

【０２５１】

生細胞計数に基づいて、次に各懸濁液を完全培地（必要な補給物を含有）で希釈することにより各細胞系統に関する所望の播種密度を達成した。播種後、細胞を一夜プレートに結合させ、そして次にＢＡ４又はシスプラチンを播種後２４時間処置した。

【０２５２】

ＢＡＲＢ４はＮａｌｇｅｎｅ（登録商標）凍結ボックス中に保存した。ＢＡＲＢ４溶液は低温パックされた密封発泡容器中で到着（到着時に計測した温度は約１０℃）し、そして保存中は４℃に維持した。ＢＡＲＢ４は透明無色の溶液であった。ＢＡＲＢ４は培地中１：２に連続希釈（希釈リザーバ中２×終濃度＝１６００μｇ／ｍｌ）することにより、処置プレートにリザーバから移した時点で１：２希釈により処置プレートの最上投薬ウェルにおける最終８００μｇ／ｍｌの出発濃度が達成されるようにした。抗体は処置プレートのコラム１～１０まで添加した。カラム１１は細胞＋培地のみの対照用とし、そしてカラム１２は培地のみのブランク用とした。シスプラチン（陽性対照）はＳｉｇｍａ（＃Ｍ４３９４、ロット０８７Ｋ１３４９）により製造され、そしてコハク色のバイアル中、微細な暗黄色の粉末として供給され、室温で保存し、そして光への曝露を防止するために被覆された箱内に収容した。シスプラチンは予め０．９％食塩水に溶解することにより透明無色の４ｍＭ保存溶液とし、細分量化し、そして－２０℃で凍結した。凍結した細分量は手で試験管を保持することにより急速に解凍し、湿潤した氷上に置き、そして、希釈（２×濃度、希釈リザーバ）することにより、処置プレートの最上投薬ウェル中の最終１ｍＭ出発濃度を達成した（処置プレートに希釈リザーバから移した場合に１：２希釈）。１：４の連続希釈を希釈リザーバのウェル１～１０で行った後に、処置プレートに移した。

【０２５３】

ＢＡＲＢ４保存溶液（１０．５ｍｇ／ｍｌ）は８００μｇ／ｍｌの最終出発処置濃度と成るように以下の表に従って完全培地中に希釈することにより製造した。０．９％食塩水中のシスプラチンの４ｍＭ保存溶液は１ｍＭの最終出発処置濃度と成るように完全培地中に希釈した。細胞は２４時間ＢＡＲＢ４又はシスプラチンに曝露した。プレートは３７℃で一夜インキュベートした。処置後２４時間及び４８時間に、ＭＴＴアッセイを以下に記載する通り実施した。

【０２５４】

ＢＡＲＢ４及びシスプラチンの抗増殖活性はＭＴＴ細胞増殖アッセイ（ＡＴＣＣカタログ番号３０－１０１０Ｋ）を用いながら評価した。アッセイは紫色のホルマザン結晶を形成する代謝的に活性な細胞による黄色テトラゾリウムＭＴＴ（３－（４，５－ジメチルチアゾリル－２）－２，５－ジフェニルテトラゾリウムブロミド）の還元に基づいている。紫色のホルマザンを洗剤で可溶化し、そしてスペクトル分析により５７０ｎｍで定量する（ＭＴＴ細胞増殖アッセイ、ＡＴＣＣ３０－１０１０Ｋ；Ｖａｎ ｄｅ Ｌｏｏｓｄｒｅｃｈｔら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ１７４：３１１（１９９４）：Ｆｅｒｒａｒｉら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ１３１：１６５（１９９０）；Ｇｅｒｌｉｅｒ、Ｄ．、及びＮ．Ｔｈｏｍａｓｓｅｔ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ９４：５７（１９８６）；Ａｌｌｅｙら、ＣａｎｃｅｒＲｅｓ．４８：５８９（１９８８）；及びＭｏｓｍａｎｎ、Ｔ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ６５：５５（１９８３））。ＡＴＣＣから入手するＭＴＴ細胞増殖アッセイキットは直ぐに使用できるＭＴＴ及び洗剤溶液を含有している。

【０２５５】

対数成長期の細胞は、培地のみの対照（ブランク）用に確保したコラム１２を除き全ウェルとも完全培地０．１ｍＬ中となるように９６穴培養プレートに播種し、そして３７℃で一夜結合させた。化合物を完全培地中に希釈し、各ウェルに対し０．１ｍＬの容量で２×希釈リザーバ濃度から最終１：２希釈となるように添加した。処置の２４及び４８時間後、培地１００μｌを取り出し、そしてＭＴＴ試薬０．０１ｍＬを各ウェルに添加した。プレートを４時間インキュベーターに戻した。次に洗剤試薬（０．１ｍＬ）を添加し、プレートを暗所３７℃で一夜インキュベートし、ホルマザン結晶を溶解させた。５７０ｎｍにおける吸光度は洗剤添加後２４及び４８時間にＳｐｅｃｔｒａＭＡＸ（登録商標）Ｐｌｕｓプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）で計測した。吸光度値を対照のパーセントに換算し、次にＳｏｆｔＭａｘ（登録商標）Ｐｒｏのｖ．５．２（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）を用いたＩＣ５０の計算のために試験剤濃度に対してプロットした。対照のパーセントｖ

ｓ化合物（ＢＡＲＢ４又はシスプラチン）濃度のプロットは４パラメーター方程式を用いて分析することによりＲ２値に対するシグモイド曲線を説明するＩＣ５０値及び他のパラメーターを得た。ＢｘＰＣ－３、ＣＯＬＯ２０５、Ｈ４６０、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１及びＭＩＡＰａＣａ－２細胞系統に対するＢＡＲＢ４（μｇ／ｍｌ）及びシスプラチン（μＭ）に関する実験的に測定したＩＣ５０値を表２に総括する。ＢＡＲＢ４抗体は０～１００％の完全な抑制範囲を示さなかった。従って、これらの「ＩＣ５０」値は実際には「ＥＣ５０」値（有効濃度）であり、これは全観察作用に関して５０％抑制が観察される濃度を指している。

【０２５６】

【表２】

表２

細胞系統	ＢＡ４（２４時間）	ＢＡ４（４８時間）	シスプラチン（２４時間）	シスプラチン（４８時間）
BxPC-3	>800μg/ml	>800μg/ml	39.2	9.41
BxPC-3反復	>800μg/ml	>800μg/ml	13.6	5.65
COLO 205	66.8	2.78	58.5	62.9
H460	413	>800μg/ml	63.3	6.37
MDA-MB-231	154	193	97.5	233
MIAPaCa-2	34.9	21.1	43.9	29.8

＊ＢＸＰＣ－３に対するＢＡＲＢ４のＩＣ５０値は同じ化合物、処置濃度及び曝露期間を用いた以前のアッセイのものと相関しなかった。このアッセイをＢｘＰＣ－３系統に対して反復し（「反復」）、そして同じ結果を得た。

【０２５７】

以下は接着細胞を継代するための細胞培養プロトコルであり；全ての操作は滅菌手法を用いながらクラスＩＩのＨＥＰＡフィルター濾過バイオセイフティフード内で実施した。

１．培養基を吸引し廃棄。

２．３ｍＬの０．２５％（ｗ／ｖ）トリプシン、０．５３ｍＭＥＤＴＡ溶液（ＣｅｌｌＧｒｏ２５－０５３－Ｃｌ）を各フラスコに添加することにより多数の方向に穏やかに揺動することにより細胞の単層の完全な被覆を確保。トリプシン２ｍｌを採取。

３．細胞の層が分散するまで（３～５分）倒立顕微鏡下に細胞を観察。必要に応じてフラスコを３７℃でインキュベートすることにより分散を促進した。

４．追加容量の新鮮培地を添加することによりトリプシンを中和。穏やかにピペッティングし、単層領域を濯ぐことにより細胞を吸引し、その直後に適切な細分量の細胞懸濁液を３０ｍＬの新鮮予備加温（室温～３７℃）培地の入った新しい培養容器（Ｔ１７５フラスコ）に添加。

５．培養物を３７℃において湿潤１００％空気又は５％CO_2インキュベーター中でインキュベートし、２～３日毎に継代及び／又は培地交換。

【０２５８】

以下は細胞系統の増殖の条件である（補給パーセンテージは体積／体積である）：

細胞系統：ＢｘＰＣ－３（接着）

培地：ＲＰＭＩ１６４０（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０４０－ＣＶ）

補給物：１％（１ＭＨＥＰＥＳ）＋１％ピルビン酸ナトリウム＋１％（４５％グルコース）、１０％ＦＢＳ、１％ＰＳＧ

雰囲気：５％CO_2、９５％空気

細胞系統：ＣＯＬＯ２０５（接着）

培地：ＲＰＭＩ１６４０（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０４０－ＣＶ）

補給物：１％（１ＭＨＥＰＥＳ）＋１％ピルビン酸ナトリウム＋１％（４５％グルコース）、１０％ＦＢＳ、１％ＰＳＧ

雰囲気：５％CO_2、９５％空気

細胞系統：Ｈ４６０（接着）

培地：ＲＰＭＩ１６４０（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０４０－ＣＶ）
補給物：１％（１ＭＨＥＰＥＳ）＋１％ピルビン酸ナトリウム＋１％（４５％グルコース）、１０％ＦＢＳ、１％ＰＳＧ
雰囲気：５％CO_2、９５％空気
細胞系統：ＭＤＡ－ＭＢ－２３１（接着）
培地：Ｌ－１５（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０４５－ＣＶ）
補給物：１０％ＦＢＳ、１％ＰＳＧ
雰囲気：１００％空気
細胞系統：ＭＩＡＰａＣａ－２（接着）
培地：ＤＭＥＭ（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０１３－ＣＶ）
補給物：１０％ＦＢＳ、２．５％ＨＳ、１％ＰＳＧ
雰囲気：５％CO_2、９５％空気　。

【０２５９】

使用した培地補給物：＊ＦＢＳ－ウシ胎児血清（Ｇｉｂｃｏ１００８２－１４７；ロット番号１３５４９８６）、＊ＰＳＧ－ペニシリン、ストレプトマイシン、Ｌ－グルタミン溶液（ＣｅｌｌＧｒｏ３０－００９－ＣＩ）及び＊ＨＳ－ウマ血清（ＡＴＣＣ＃３０－２０４１；ロット番号３０００４１２）。

【０２６０】

播種密度＊ＩＣ５０アッセイ用、ＢｘＰＣ－３は１２×10^3；ＣＯＬＯ２０５は６．２５×10^3；Ｈ４６０は７．５×10^3；ＭＤＡ－ＭＢ－２３１は１５×10^3；そしてＭＩＡＰａＣａ－２は１５×10^3。

【０２６１】

ＢｘＰＣ－３、ＣＯＬＯ２０５、Ｈ４６０、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１及びＭＩＡＰａＣａ－２細胞に関して記載したものと同じＭＴＴアッセイを用いながら、ＨＴ－２９、ＨＣＴ－１１６、ＢｘＰＣ－３、ＰＡＮＣ－１、Ａ５４９、ＰＣ－３及びＨＣＴ１１６細胞の増殖を評価し、そしてＩＣ５０（μｇ／ｍｌ）を２４、４８及び７２時間に計算した。使用した接着細胞を掲題するための細胞培養プロトコルはＢｘＰＣ－３、ＣＯＬＯ２０５、Ｈ４６０、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１、及びＭＩＡＰａＣａ－２細胞に関して上記したものと実質的に同じである。以下は細胞培養増殖条件である：

細胞系統：Ａ５４９（接着）
培地：ＨａｍのＦ－１２培地（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０８０－ＣＶ）
補給物：１０％ＦＢＳ、１％ＰＳＧ
雰囲気：５％CO_2、湿潤
細胞系統：ＰＣ－３（接着）
培地：ＨａｍのＦ－１２倍値（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０８０－ＣＶ）
補給物：１０％ＦＢＳ、１％ＰＳＧ
雰囲気：５％CO_2、湿潤
細胞系統：ＨＴ－２９（接着）
培地：ＭｃＣｏｙの５ａ培地（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０５０－ＣＶ）
補給物：１０％ＦＢＳ、１％ＰＳＧ
雰囲気：５％CO_2、湿潤
細胞系統：ＨＣＴ１１６（接着）
培地：ＭｃＣｏｙの５ａ培地（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０５０－ＣＶ）
補給物：１０％ＦＢＳ、１％ＰＳＧ
雰囲気：５％CO_2、湿潤
細胞系統：ＢｘＰＣ－３（接着）
培地：ＲＰＭＩ１６４０（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０４０－ＣＶ）
補給物：１０％ＦＢＳ、１％ＰＳＧ、１％ピルビン酸ナトリウム、１％ＨＥＰＥＳ（１Ｍ保存溶液）、１％グルコース（４５％保存溶液）
雰囲気：５％CO_2、湿潤

細胞系統：ＰＡＮＣ－１（接着）
培地：ＤＭＥＭ（ＣｅｌｌＧｒｏ１０－０１３－ＣＶ）
補給物：１０％ＦＢＳ、１％ＰＳＧ
雰囲気：５％CO_2、湿潤　。

【０２６２】

使用した培地補給物：＊ＦＢＳ－ウシ胎児血清（Ｇｉｂｃｏ１００８２－１４７；ロット番号１３５４９８６）、＊ＰＳＧ－ペニシリン、ストレプトマイシン、Ｌ－グルタミン溶液（ＣｅｌｌＧｒｏ３０－００９－ＣＩ）、＊０．１Ｍピルビン酸ナトリウム（ＣｅｌｌＧｒｏ２５－０００－ＣＩ）、＊１．０ＭＨＥＰＥＳ（ＣｅｌｌＧｒｏ２５－０６０－ＣＩ）、及び＊４５％グルコース（ＣｅｌｌＧｒｏ２５－０３７－ＣＩ）。

【０２６３】

播種密度＊　ＩＣ５０アッセイ用：Ａ５４９は２．５×10^3；ＰＣ－３は６．０×10^3；ＨＴ－２９は１２×10^3；ＨＣＴ－１１６は８．０×10^3；ＢｘＰＣ－３は１２×10^3；そしてＰＡＮＣ－１は６．０×10^3細胞。

【０２６４】

表３に示す通り、ＢＡＲＢ４はＨＴ－２９、ＨＣＴ－１１６、ＢｘＰＣ－３、ＰＡＮＣ－１、Ａ５４９、ＰＣ－３及びＨＣＴ１１６細胞系統の増殖を抑制した。データはＢＡＲＢ４が多くの異なる型の癌細胞の増殖を抑制することを示している。

【０２６５】

【表３】

表３

	IC_{50} (μg/mL)					
	２４時間		４８時間		７２時間	
		BARB4		BARB4		BARB4
A549		98.9		111.2		122.2
PC 3		57.2		64.2		155.7
HT 29		399.5		300.1		228.8
HCT 116		24.8		77.3		95.2
BxPC 3		88.9		362.8		511.4
PANC 1		91.4		337.1		353.2

細胞死（アポトーシス）アッセイ

細胞死検出エリザプラス（Ｒｏｃｈｅ、Ｍａｎｎｈｅｉｍ、Ｇｅｒｍａｎｙ）を用いることにより抗体がアポトーシスを誘導する程度を分析した。このアッセイはそれぞれＤＮＡ及びヒストンに対抗して指向されたマウスモノクローナル抗体を用いた定量的サンドイッチ酵素免疫アッセイの原理に基づいている。このアッセイはアポトーシスで死滅する細胞の細胞質内へ放出されるモノ及びオリゴヌクレオソームの特異的測定を可能にする。

【０２６６】

概説すると、細胞（１．０×10^4）を９６穴プレートにプレーティングし、そして２４／４８時間３７℃７％CO_2において抗体と共にインキュベートした。インキュベーションの後、細胞を１０分間２００ｇで遠心分離し、上澄みを吸引し、２００μｌの溶解緩衝液を添加したところ、室温で３０分インキュベーション後に細胞の溶解が起こった。再度遠心分離した後、２０μｌの上澄みをストレプトアビジンコーティングマイクロ滴定プレートに添加し、そして８０μｌの免疫試薬（１／２０抗ＤＮＡ－パーオキシダーゼ（抗－ＤＮＡ－ＰＯＤ）抗体（ヌクレオソームのＤＮＡ成分と反応する）と１／２０抗ヒストンビオチンの１８／２０インキュベーション緩衝液）を添加した。製造元の試験キットに包含されていた陽性対照及びブランクを使用した。約２５０ｒｐｍで混合しながらプレートを２時間インキュベートした後、各ウェルを３回２５０μｌのインキュベーション緩衝液で洗浄し、次いで各ウェルに１００μｌのＡＢＴＳ溶液（５ｍｌの基質緩衝液中１個の

ＡＢＴＳ（２，２’－アジノ－ジ［３－エチルベンズトリアゾリンスルホナト）錠剤）を添加した。プレートを再度混合し、抗体誘導アポトーシスの強度を明確な緑色の沈殿において反映させる。色の強度は４９０ｎｍのレファレンス波長に対する４１５ｎｍの波長においてＥＬＩＳＡリーダーを用いて求めた。この色強度に基づいて、抗体誘導アポトーシスの強度を計算した。データを図２に示す。

【０２６７】

免疫蛍光

エンドサイトーシスはヒト膵臓癌細胞系統ＢＸＰＣ－３に対してＢＡＲＢ４に関して測定した。ＢＡＲＢ４抗体（精製）を蛍光オレンジ５４８反応性物質（Ｆｌｕｋａ、Ｂｕｃｈｓ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）にコンジュゲートした。コンジュゲートしたＢＡＲＢ４抗体を終濃度４０μｇ／ｍｌにおいて直接1×10^{6}の細胞に投与し、そして指定時間３７℃でインキュベートした。細胞を採取し、濯ぎ、そしてリン酸塩緩衝食塩水ｐＨ７．４（ＰＢＳ）中に再懸濁した。各細胞懸濁液１００μｌをスライド上に固定した。最後にスライドを蛍光マウント用培地（ＤａｋｏＣｙｔｏｍａｔｉｏｎ、Ｃａｒｐｉｎｔｅｒｉａ、ＵＳＡ）と共にマウントし、そして共焦点顕微鏡により分析した。データを図４に示す。

【０２６８】

サイトスピン上のグリコシダーゼアッセイ

Ｏ又はＮ連結糖残基が腫瘍細胞へのＢＡＲＢ４の結合に潜在的に関与しているかどうかを調べるため、ＢＸＰＣ－３癌細胞のサイトスピン調製物をＮ－又はＯ－グリコシダーゼと共にインキュベートした。概説すると、4×10^{5}個のヒト膵臓癌細胞（ＢＸＰＣ－３）を１ｍｌのダルベッコリン酸塩緩衝食塩水ｐＨ７．２（Ｓｉｇｍａ、Ｔａｕｆｋｉｒｃｈｅｎ、Ｇｅｒｍａｎｙ）中に再懸濁し、そして１０Ｕ／ｍｌ　Ｎ－グリコシダーゼ又は４０ｍＵ／ｍｌ　Ｏ－グリコシダーゼ（共にＲｏｃｈｅ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｓｃｉｅｎｃｅ、Ｍａｎｎｈｅｉｍ、Ｇｅｒｍａｎｙ）と共に２時間３７℃でインキュベートした。ダルベッコリン酸塩緩衝食塩水中の未処理の細胞を対照として使用した。サイトスピンを準備し、そしてビオチニル化ＢＡＲＢ４抗体（１００μｇ／ｍｌ）を用いた免疫組織化学的染色を実施した。

【０２６９】

細胞の処理の後、ＢＡＲＢ４の結合を免疫組織化学的染色により評価した（図５）。データはＮ－グリコシダーゼを処理した細胞上のＢＡＲＢ４の表面結合の明確な低減を示しているが、Ｏ－グリコシダーゼによる処理はＢＡＲＢ４結合に影響していない。従ってＢＡＲＢ４はＯ－グリコシダーゼ処理により除去又は修飾される炭水化物部分を含むかこれよりなるエピトープに結合するはずである。

【０２７０】

細胞培養

ＢＡＲＢ４標的アッセイに関しては、樹立されたヒト膵臓腺癌細胞系統ＢＸＰＣ－３を使用した。接着細胞は３７℃及び７％CO_2雰囲気下１０％（Ｖ／Ｖ）ＦＣＳ、１％（Ｖ／Ｖ）グルタミン及び１％（Ｖ／Ｖ）ストレプトマイシン／ペニシリンを添加したＲＰＭＩ１６４０培養基（ＰＡＡ、Ｖｉｅｎｎａ）中約９０％のコンフルエントと成るまで生育させた（ＨＥＲＡ細胞インキュベーター、Ｈｅｒａｅｕｓ、Ｈａｎａｕ）。$2\sim3\times10^{6}$細胞／ｍｌ（懸濁媒体は上記培養基と等価）及び５０ｍｌの補給物添加ＲＰＭＩ１６４０培地の入った１ｍｌの細胞懸濁液により滅菌組織培養皿１４５／２０（グレイナーバイオワン、Ｆｒｉｃｋｅｎｈａｕｓｅｎ）を調整した。３～４日後、癌細胞を採集し膜抽出物の調製に付した。この目的のために、ＢＸＰＣ－３細胞をリン酸塩緩衝食塩水（ＰＢＳ＋０．１３７Ｍ　ＮａＣｌ、０．０２７Ｍ　ＫＣｌ、０．０６５Ｍ　$Na_2HPO_4\times2H_2O$、０．０１５Ｍ　KH_2PO_4）で洗浄し、そして接着細胞を組織培養皿から掻き取った。

【０２７１】

細胞懸濁液を遠心分離した（１５００×ｇ、５分間、室温）。上澄みを除去し、ペレッ

トを再度ＰＢＳで洗浄し、その後更に遠心分離工程に付した（１５００×ｇ、５分間、室温）。その後上澄みを再度除去した。単細胞のペレットは１０組織培養皿に由来する癌細胞を包含している。これは膜抽出液調製のために即座に使用するか－２０℃で保存した。

【０２７２】

膜蛋白抽出

ペレットされた癌細胞はプロテアーゼ阻害剤錠剤（完全ミニ錠剤、Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ、Ｍａｎｎｈｅｉｍ）を含有する１０ｍｌの緩衝液（２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．４、３ｍＭ　ＫＣｌ、３ｍＭ　$MgCl_2$）中、氷上で３０分間再膨潤させた。細胞懸濁液は４℃で５分間最高強度において超音波処理した（Ｓｏｎｉｆｉｋａｔｏｒ　ＬａｂｓｏｎｉｃＶ、Ｂ．Ｂｒａｕｎ、Ｍｅｌｓｕｎｇｅｎ）。その後懸濁液を４℃で１０分間１３，０００ｒｐｍで遠心分離した。細胞の核を含有する得られたペレットを除去し、残存蛋白を有する上澄みを１０℃で４５分間４００００ｒｐｍで超遠心分離機（Ｂｅｃｋｍａｎｎ、Ｍｕｎｃｈｅｎ）中で真空下に遠心分離した。超遠心分離の後、可溶性の細胞蛋白は上澄み中に観察されたのに対し、ペレットは膜蛋白を含有している。膜蛋白画分を有するペレットを１ｍｌの緩衝液（２０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．４、３ｍＭ　ＫＣｌ、３ｍＭ　$MgCl_2$）で洗浄した。次にペレットを少なくとも１時間、１ｍｌの溶解緩衝液（５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ／ＨＣｌ、ｐＨ７．４、１％（ｗ／Ｖ）ノニデットＰ４０、０．２５％（ｗ／Ｖ）デオキシコール酸ナトリウム、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、１ｍＭ　ＥＤＴＡ；１μｇ／ｍｌペプスタチン及び完全ミニ錠剤）中に溶解した。不溶性の残留物は４℃で１０分間１３０００ｒｐｍで遠心分離することにより除去した。膜蛋白溶解物を－２０℃で保存した。

【０２７３】

抗体－セファロースカップリング

ＢＡＲＢ４抗体は臭化シアン活性化セファロース（登録商標）４ファーストフローマトリックス（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔｅｉｎｈｅｉｍ）にカップリングした。５０ｍｇの抗体を２０ｍｌのカップリング緩衝液（０．１Ｍ　$NaHCO_3$、ｐＨ８．３、０．５Ｍ　ＮａＣｌ）と混合した。次に２．５ｇの活性化マトリックスを洗浄し、そして４０分間５００ｍｌの氷冷塩酸（１ｍＭ、ｐＨ２．６）で再膨潤させることにより乳糖を除去した。その後１００ｍｌの蒸留水及び１２．５ｍｌのカップリング緩衝液を用いた洗浄工程を行った。塩基性の緩衝液中で活性な基が加水分解することを回避するために、リガンドカップリング緩衝溶液を即座に活性化セファロース（登録商標）マトリックスに移した。懸濁液を４℃で一夜混合した。未反応抗体を含有するカップリング緩衝液を排除した。アフィニティーマトリックスを再度２５０ｍｌの新しいカップリング緩衝液で洗浄した。未反応の活性化基は４℃で一夜０．２Ｍのグリシン緩衝液（ｐＨ８）でブロッキングした。ブロッキング緩衝液を除去した後、ビーズを先ずカップリング緩衝液で洗浄し、次に０．１Ｍ酢酸塩緩衝液（ｐＨ４）で洗浄した。高低の緩衝溶液の洗浄サイクルは各々１００ｍｌ溶液を用いながら５回行った。アフィニティークロマトグラフィーマトリックスをカラムに充填し、４℃で０．０５％ナトリウム酸（ｐＨ７．２）を添加したＰＢＳ溶液中に保存した。

【０２７４】

アフィニティークロマトグラフィー

膜蛋白精製のために、セファロース－ＢＡＲＢ４カラムをＦＰＬＣシステム（Ｐｈａｒｍａｃｉａ、Ｆｒｅｉｂｕｒｇ）にカップリングした。膜抽出物をカラムに添加し、そして未結合の蛋白は２５分間緩衝液Ａ（ＰＢＳ）でカラムを洗浄することにより排除した。結合蛋白を緩衝液Ｂ（０．１Ｍグリシン　ｐＨ２．２）で溶出させ、そして即座に１Ｍ　Ｔｒｉｓ（ｐＨ９．０）で中和した。溶出液は－２０℃で保存した。

【０２７５】

ゲル電気泳動

還元条件下の１０％ＳＤＳ－ＰＡＧＥゲル（組成はＳａｍｂｒｏｏｋら、１９８９に従う）をＬａｅｍｍｌｉ（Ｎａｔｕｒｅ２２７（５２５９）：６８０（１９７０））の方法

を用いて実施した。それらの初期濃度に応じて、蛋白をｍｌ当たりより高値の量と成るまで濃縮し、その後ゲル電気泳動に使用した。したがって、蛋白溶液の１部を３部の氷冷アセトンと混合した。混合物を一夜－２０℃で保存することにより蛋白を沈殿させた。その後上澄みを遠心分離した（４℃１０分間１３０００ｒｐｍ）。上澄みを除去し、蛋白ペレットを室温で乾燥した。ローディング緩衝液（５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ／ＨＣｌ　ｐＨ６．８、０．１％（ｗ／Ｖ）ブロモフェノールブルー、２％（Ｖ／Ｖ）ドデシル硫酸ナトリウム（ＳＤＳ）、１０％（Ｖ／Ｖ）グリセロール）及び１Ｍジチオスレイトール（ＤＴＴ）を１０：１の比でペレットに添加した。少なくとも溶液を９５℃に５分間加熱した後にゲル電気泳動に付した。ＳＤＳ－ＰＡＧＥは２０ｍＡで約１．５時間行った。

【０２７６】

クーマシーブリリアントブルー染色

ゲル電気泳動の後、蛋白を固定し、そして少なくとも２０分間クーマシー溶液（０．４％（ｗ／Ｖ）クーマシーブリリアントブルーＲ２５０、４０％（ｖ／ｖ）エタノール、ミリポア（登録商標）水中７％（ｖ／ｖ）酢酸）で染色した。１～２時間ゲルを脱染色した（２５％メタノール、ミリポア（登録商標）水中１２．５％酢酸）。

【０２７７】

ウエスタンブロッッテイング

ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分離蛋白をセミドライウエスタンブロッティング（Ｔｏｗｂｉｎら、Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ．７６：４３５０（１９７９））によりニトロセルロースメンブレン（Ｓｃｈｌｅｉｃｈｅｒ　ｕｎｄ　Ｓｃｈｕｅｌｌ、Ｄａｓｓｅｌ）に移した。メンブレンは粉末としての５％低脂肪乳粉末を含有するＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎ（登録商標）でブロッキングした。メンブレンは１時間ＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎ（登録商標）中５％低脂肪乳を含有する一次抗体溶液中でインキュベートした。調製物は３回１０分間洗浄した。同じ操作を第２のセイヨウワサビパーオキシダーゼコンジュゲート抗体を用いて実施した。第２の洗浄工程を実施した（３×５分間）。反応はＰｉｅｒｃｅ（Ｐｅｒｂｉｏ　ＳｃｉｅｎｃｅＤｅｕｔｓｃｈｌａｎｄ　ＧｍｂＨ、Ｂｏｎｎ）から入手したＳｕｐｅｒＳｉｇｎａｌケモルミネセンスキットを用いて検出した。

【０２７８】

小型干渉ＲＮＡによるトランスフェクション

トランスフェクションの前に、２４穴プレートに生育培地（ＲＰＭＩ１６４０＋１０％（Ｖ／Ｖ）ＦＣＳ及び１％（Ｖ／Ｖ）グルタミン）中０．５×10^4ＢＸＰＣ－３細胞を植菌した。細胞を３７℃及び７％CO_2雰囲気下に一夜インキュベートすることにより翌日５０～７０％のコンフルエントに達させた。トランスフェクションの６０分前に、培地をウェルから慎重に吸引し、そして２５０μｌ（非トランスフェクト細胞の場合は３００μｌ）の新鮮な生育培地を添加した。各ウェル当たり、５０μｌのトランスフェクション溶液を調製した。先ず２４．５μｌ血清非含有ＯｐｔｉＭＥＭ（登録商標）Ｉ＋ＧｌｕｔａＭＡＸ（商標）－Ｉ（１Ｘ）培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｋａｒｌｓｒｕｈｅ）＋０．５μｌｓｉＬｅｎｔＦｅｃｔ（商標）脂質試薬（Ｂｉｏｒａｄ，Ｍｕｎｃｈｅｎ）を混合した。その後、ｓｉＧＥＮＯＭＥ　ＳＭＡＲＴｐｏｏｌ　ｓｉＲＮＡ（Ｄｈａｒｍａｃｏｎ、Ｌａｆａｙｅｔｔｅ、ＵＳＡ）を含有する２５μｌの血清非含有培地を調製することにより１００ｎＭｓｉＲＮＡの終濃度を達成した。両方の溶液は別個に調製した。５分後ピペッティングによりそれらを添加混合した。溶液を室温で２０分間インキュベートした。トランスフェクション溶液を血清含有培地中の細胞に添加した。２４時間後、トランスフェクション培地を通常の生育培地に交換することにより細胞毒性を最小限とした。最適な生育条件のために、培地は４８時間後に更新した。蛋白ノックダウンに対する非特異的又は細胞毒性の作用を排除するために、Ｓｉｌｅｎｃｅｒ（登録商標）陰性対照＃１ｓｉＲＮＡ（１００ｎＭ終濃度；Ａｍｂｉｏｎ、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ）及び非トランスフェクト細胞を対照として使用した。

【０２７９】

ＦＡＣＳ分析

ＦＡＣＳアッセイをトランスフェクト細胞で実施した。細胞をトリプシン－ＥＤＴＡ（１×）で剥離し、培養基中に再懸濁した。細胞をＦＡＣＳ試験管（グレイナーバイオワン、Ｆｒｉｃｋｅｎｈａｕｓｅｎ）当たり２×１０^{5}細胞に調節した。細胞を氷上で３０分間インキュベートすることによりトリプシン－ＥＤＴＡ処理により抑制されていた膜蛋白の発現を刺激した。細胞懸濁液を遠心分離（１４００×ｇ、５分間）し、そしてＦＡＣＳ緩衝液（ＢＤ　ＦＡＣＳＦｌｏｗ（商標）Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ）で洗浄した。細胞を氷上で２０分間一次抗体と共にインキュベートした。その後、細胞を遠心分離し、再度ＦＡＣＳ緩衝液で洗浄した。二次ＦＩＴＣコンジュゲート抗体を１：５０の希釈比で２０分間細胞に添加し、そして細胞を氷上暗所でインキュベートした。細胞を洗浄し、再度遠心分離した。少なくとも２００μｌのＦＡＣＳ緩衝液を添加し、そしてＷｉｎＭＤＩソフトウエアを用いながらフローサイトメトリー（ＦＡＣＳｃａｎ；Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ、Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ、Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）により細胞を分析した。

【０２８０】

実施例２

本実施例はＴＡＦ１５の見かけのアイソフォームであるＢＡＲＢ４標的蛋白の単離及び識別、及びＢＡＲＢ４標的を有効化するための種々のアッセイを説明している。ＢＡＲＢ４標的蛋白を精製するために、プールされた膜蛋白抽出物をＢＡＲＢ４カップリングセファロース（登録商標）カラムに注入した。溶出液をウエスタンブロット分析及びＳＤＳ－ＰＡＧＥ、次にペプチド質量フィンガープリンティングにより調べた。

【０２８１】

非特異的な蛋白結合を排除するために、未関連のヒト血清ＩｇＧ（ＣｈｒｏｍＰｕｒｅ　ｈｕｍａｎ　ＩｇＧ、Ｄｉａｎｏｖａ、Ｈａｍｂｕｒｇ）をアイソタイプ対照として使用した。腫瘍細胞系統ＢＸＰＣ－３の膜調製物を用いたウエスタンブロットにおいて、ＢＡＲＢ４抗体は７０～８５ｋＤａの相対的分子質量を有する膜分子に結合する（図６Ａ）。

【０２８２】

溶出した蛋白を識別するために、クーマシー染色ゲル（アセトンにより１０倍高値に濃縮、図６Ｂ）をペプチド質量フィンガープリント分析（Ｔｏｐｌａｂ、Ｐｒｏｔｅｏｍｉｃｓ－Ｄｅｖｉｓｉｏｎ、Ｍａｒｔｉｎｓｒｉｅｄ）のために使用した。相当するＳＤＳ－ＰＡＧＥ蛋白バンドをＤＴＴで還元し、ヨウ素アセトアミドでアルキル化し、そしてトリプシンで一夜消化し、ＭＡＬＤＩＭＳで計測した（図７Ａ）。最後に、ペプチド質量をＰｒｏＦｏｕｎｄによりＮＣＢＩデータベースにおけるヒト配列と比較した（図７Ｂ）。これらのアッセイによれば、ＢＡＲＢ４標的は見かけ上はヒトＴＡＦ１５のアイソフォームであった。

【０２８３】

ＢＡＲＢ４標的蛋白ＴＡＦ１５を有効化するために、ＴＡＦ１５蛋白の検出をノックダウン及びＦＡＣＳ分析に付した。概説するとＢＸＰＣ－３細胞をｓｉＧＥＮＯＭＥ　ＳＭＡＲＴｐｏｏｌＴＡＦ１５ｓｉＲＮＡでトランスフェクトし、そしてＳｉｌｅｎｃｅｒ（登録商標）陰性対照＃１ｓｉＲＮＡをトランスフェクション後４８時間に採取した。非トランスフェクト細胞を対照として使用した。細胞を氷上で２０分間ＢＡＲＢ４抗体（３００μｇ／ｍｌ）と共にインキュベートした。マウス抗ヒトＣＤ５５抗体（ＤＡＦ；１：１０００；Ａｃｒｉｓ、Ｈｉｄｄｅｎｈａｕｓｅｎ）を用いることにより他の細胞表面膜蛋白の蛋白発現を制御した。試料を二次ＦＩＴＣ標識抗体（ウサギ抗ヒトＩｇＧ、Ｄａｋｏ、Ｈｉｄｄｅｎｈａｕｓｅｎ及びウサギ抗マウスＩｇＧ、Ｄｉａｎｏｖａ、Ｈａｍｂｕｒｇ）と共に２０分間氷上でインキュベートした。細胞をフローサイトメトリー（ＦＡＣＳｃａｎ、Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ、Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ）で分析し、そしてＷｉｎＭＤＩソフトウエアで評価した。

【０２８４】

ＦＡＣＳ分析によれば、ＢＡＲＢ４抗体は４８時間後、未処理細胞に対し、及び、未関

連のｓｉＲＮＡ（陰性対照）で処理した細胞上で、結合したことが示されている（図８）。同様に強力な結合が抗ＣＤ５５対照でも観察されており（図８Ｂ）、サイレンシングが他の細胞表面膜分子の発現に影響しなかったことを示している。ヒトＴＡＦ１５ｍＲＮＡに対するｓｉＲＮＡで処理した細胞においては、抗体ＢＡＲＢ４を用いたＦＡＣＳ分析は明らかに低減した結合を示している（図８Ａ）。抗ＣＤ５５による対照はやはり、サイレンシングが他の表面膜分子の発現に影響しなかったことを示している。

【０２８５】

ＢＡＲＢ４標的蛋白ＴＡＦ１５を更に有効化するために、ＢＡＲＢ４及び市販のＴＡＦ１５抗体（抗ヒトＴＡＦＩＩｐ６８、Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、ｓｃ－８１１２１）をＢｘＰＣ－３、ＨＥＫ２９３、Ａ５４９及びＨｅＬａ細胞系統への結合に関して分析した。概説すると、細胞を細胞解離溶液（Ｓｉｇｍａ，Ｃ５７８９）でトリプシン処理し、完全培地（ＲＰＭＩ１６４０、ＰＡＡ、Ｅ１５－０３９、１０％ウシ胎児血清、ＰＡＡ、Ａ１５－１５１及び１％Ｇｌｕｔａｍｉｎｅ、ＰＡＡ、Ｍ１１－００４）中に再懸濁し、そして２×１０^{5}／ｍｌとした。氷上３０分の後、細胞をＦＡＣＳ試験管当たり１ｍｌで分散させ、そして５００ｇ、４℃で遠心分離することにより氷冷ＰＢＳで１回洗浄した。染色はＢＡＲＢ４（１００ｕｇ／ｍｌ）又は市販のＴＡＦ１５（２５ｕｇ／ｍｌ）ＩｇＧ抗体、対照ＩｇＧ（ＩｇＧラムダ、又はマウスＩｇＧ）を用いるか、又は抗体を用いることなく、２００μｌＰＢＳ中で行った。細胞を氷上で３０分間１００μｌ中２５μｇ／ｍｌの抗体と共にインキュベートし、次に氷冷ＰＢＳで洗浄し、そして二次抗体（抗マウスＩｇＧ－ＦＩＴＣ、ｄｉａｎｏｖａ１１５－０９５－００８）を試験管当たり２００μｌで１：５０の希釈度において適用した。更に３０分の暗所インキュベーションの後、細胞をＰＢＳで２回洗浄し、そしてＦＡＣＳで分析した。

【０２８６】

ＦＡＣＳ分析によれば、４種全ての細胞系統の表面へのＢＡＲＢ４及びＴＡＦ１５抗体の結合が判明し、ＢＡＲＢ４標的の場合と同様、ＴＡＦ１５は種々の癌及び形質転換（不朽化）された細胞系統の表面上に存在することが確認された。次にＢＡＲＢ４標的蛋白ＴＡＦ１５の有効化を、ＢＡＲＢ４によるＭＫＮ細胞抽出物の免疫沈降、及びその後のＢＡＲＢ４又は抗ＴＡＦ１５抗体によるウエスタンブロッティング（Ｂｉｏｍｏｌ、Ａ３００－３０８Ａ；又はＡｖｉｖａ、ＡＲＰ３０１１１＿Ｔ１００）により分析した。

【０２８７】

概説すると、免疫沈降はマイクロカラム及びμＭＡＣＳセパレーター（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ ＧｍｂＨ、Ｂｅｒｇｉｓｃｈ Ｇｌａｄｂａｃｈ、Ｇｅｒｍａｎｙ）を用いて実施した。７５０μＬの膜調製物（１．３μｇ／ｍｌ）に、１０μＬのモノクローナルヒト抗体（ＢＡＲＢ４）及び５０μＬのプロテインＧマイクロビーズ（磁気標識）を添加し、そして溶解緩衝液を充填して総容量を９００μＬとした。懸濁液は４℃、１６ｒｐｍで回転させながら３０分間インキュベートした。

【０２８８】

ＭｉｌｔｅｎｙｉマイクロカラムをマイクロＭＡＣＳセパレーターの磁場内に置いた。カラムは２００μＬの溶解緩衝液（ＴＮＸ緩衝液：５０ｍＭ、５０ｍＭ ＥＤＴＡ、１５０ｍＭ ＮａＣｌ、１％ Ｔｒｉｔｏｎ、ｐＨ７．５）で濯ぐことにより調製した。細胞溶解物をカラムに適用した。溶解物がカラムを流下した後、カラムを５×２００μＬの溶解緩衝液で洗浄した。溶離のために、２０μＬの予備加熱を行なった（９５℃）１×ＳＤＳゲルローディング緩衝液（５０ｍＭ ＴｒｉｓＨＣｌ、ｐＨ６．８；５０ｍＭ ＤＴＴ；１％ＳＤＳ；０．００５％ブロモフェノールブルー；１０％グリセロール）をカラムに適用し、そして、室温で５分間インキュベートした。新しい採取試験管をカラムの下に置き、そしてカラムを更に５０μＬの予備加熱（９５℃）１×ＳＤＳゲルローディング緩衝液で溶離した。

【０２８９】

データによれば、ＢＡＲＢ４は抗ＴＡＦ１５抗体による染色の後にＴＡＦ１５を免疫沈降させることができたことを示している（図９Ａ及び９Ｃ）。ＢＡＲＢ４抗体による染色

は、アッセイ条件が最適ではなかったものの、ＴＡＦ１５を検出していないと観察された（図９Ｂ）。

【０２９０】

実施例３

本実施例は２つの異なる腫瘍細胞系統からのＴＡＦ１５アイソフォームのクローニングを記載するものである。

【０２９１】

Ａ５４９及びＨｅＬａ細胞のｃＤＮＡを作成し、そしてポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）をＴＡＦ１５特異的プライマーを用いて実施した。反応産物をアガロースゲル上で分画し、そして約１２００及び１８００塩基対で遊走する２種の産物を識別した。ＤＮＡをゲルから溶離させ、ベクター内にクローニングし、そして各クローンの配列を分析した。配列情報によれば、１８００ｂｐ産物のＴＡＦ１５アイソフォームＩ（１７７６塩基対、５９２アミノ酸）及びＩＩ（１７６７塩基対、５８９アミノ酸）への配列同一性が判明し、そして１２００ｂｐの産物はｃ末端欠失を有するＴＡＦ１５のスプライス変異体であった。即ち、これらの２つの細胞系統はＴＡＦ１５又はｃ末端欠失を有するＴＡＦ１５の変異体を発現すると考えられる。

【図１】

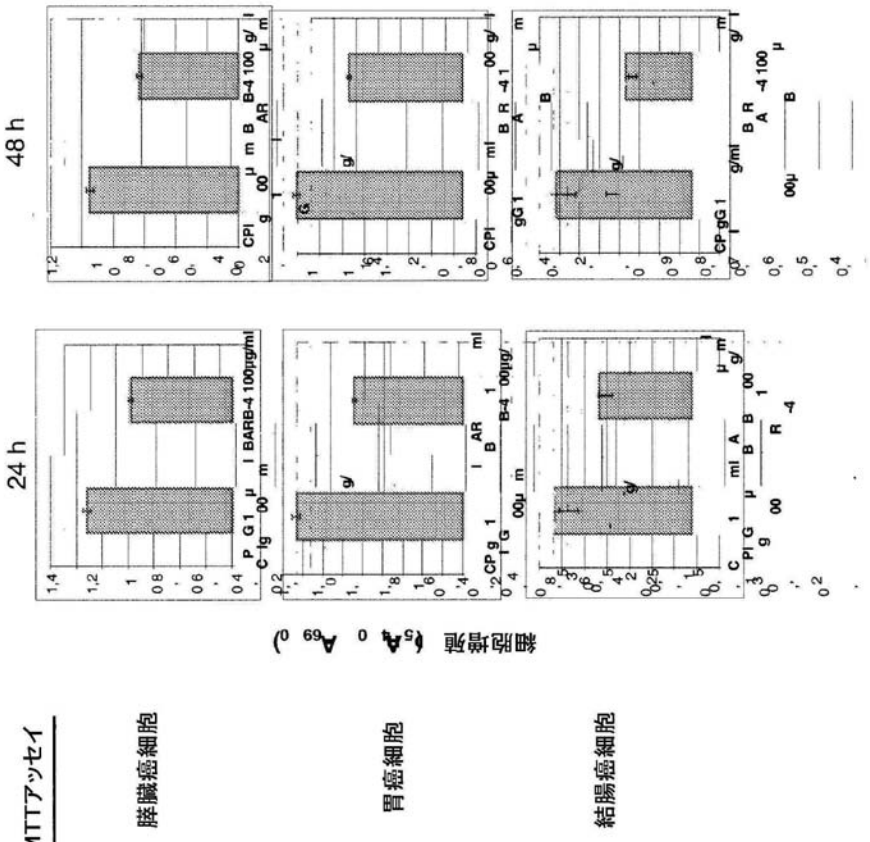


Figure 1

【図２】

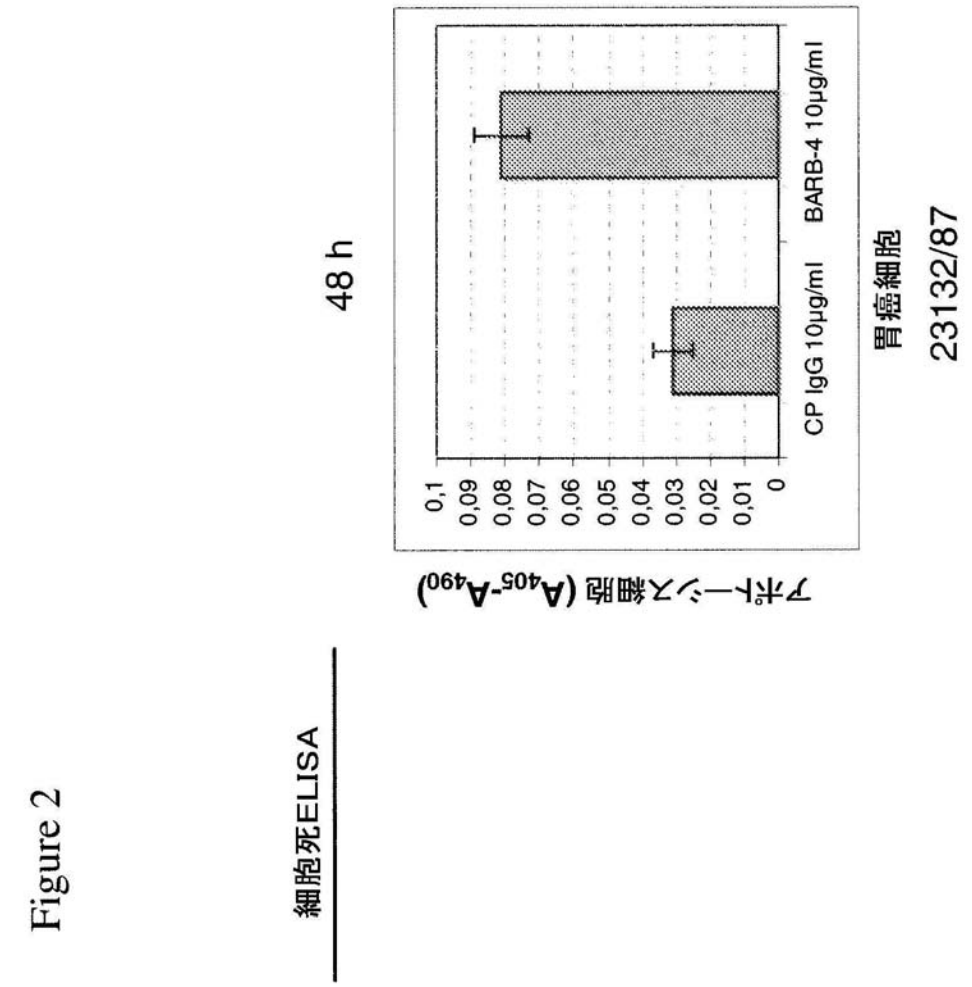


Figure 2
細胞死ELISA
48 h
アポトーシス細胞 (A_{405}-A_{490})
0,1
0,09
0,08
0,07
0,06
0,05
0,04
0,03
0,02
0,01
0
CP IgG 10µg/ml
BARB-4 10µg/ml
胃癌細胞
23132/87

【図３】

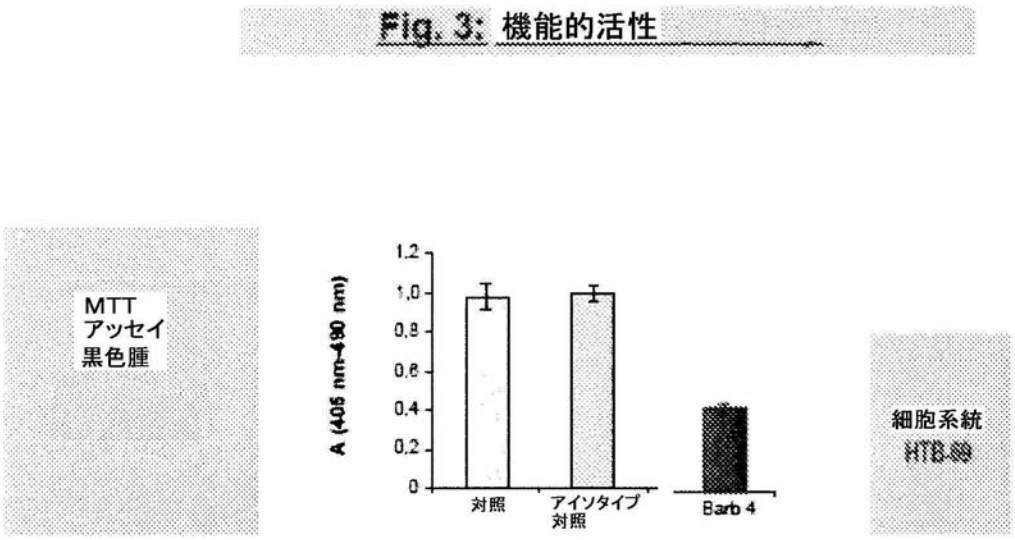
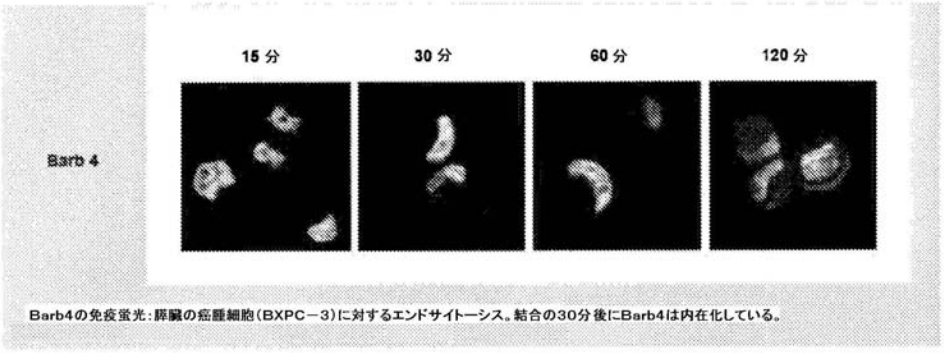


Fig. 3: 機能的活性
MTT
アッセイ
黒色腫
A (405 nm-490 nm)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
対照
アイソタイプ
対照
Barb 4
細胞系統
HTB-69

【図４】

Figure 4

Barb4抗体のエンドサイトーシス

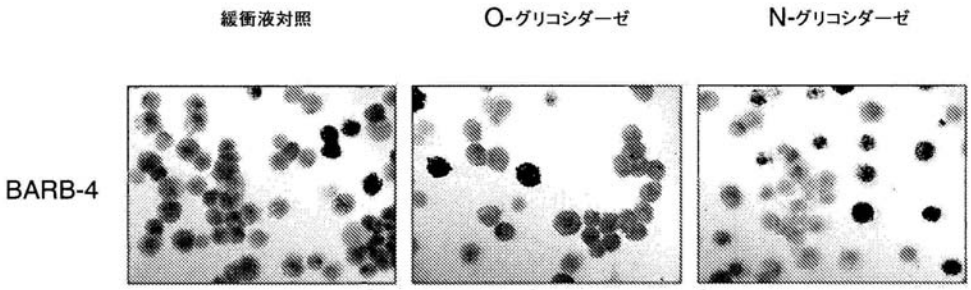


Barb4の免疫蛍光：膵臓の癌腫細胞（BXPC－3）に対するエンドサイトーシス。結合の30分後にBarb4は内在化している。

【図５】

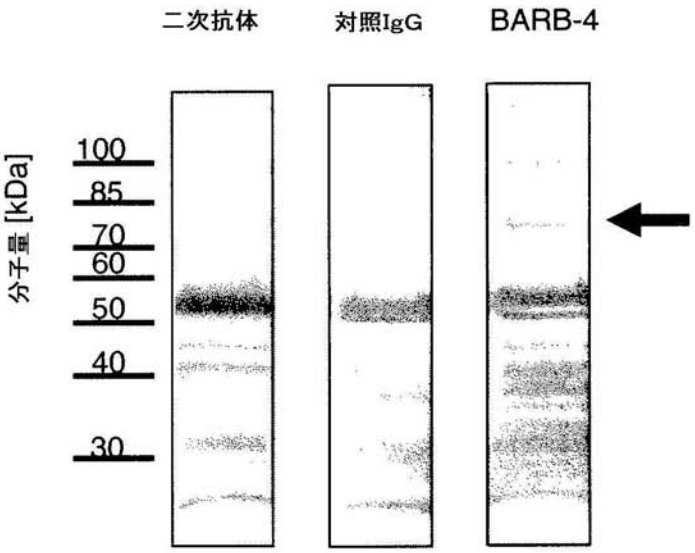
Figure 5

N－グリコシダーゼ及びO－グリコシダーゼで治療したBXPC－3癌細胞へのBARB4の結合



【図６】

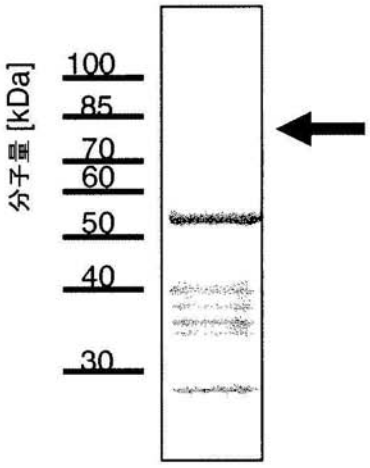
FIGURE 6A



ウエスタンブロット

富化および精製した膜抽出物

FIGURE 6B



クーマシーゲル

富化および精製した膜抽出物

【図７】

FIGURE 7A

MALDI－MSによるペプチド質量フィンガープリント分析

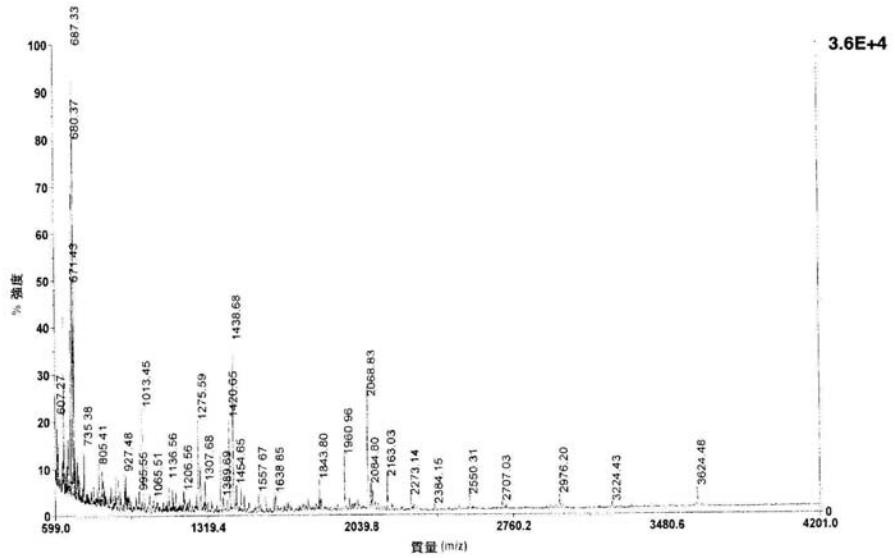
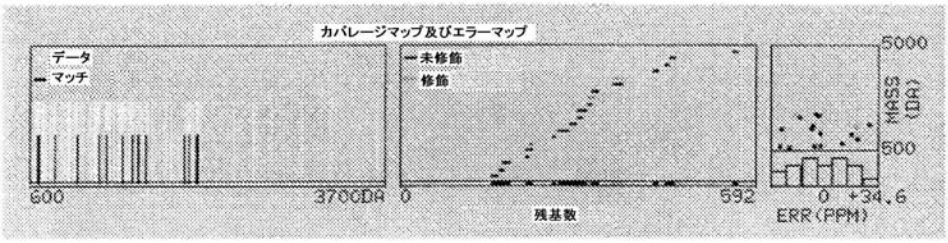


FIGURE 7B

データベース比較



【図８】

FIGURE 8A

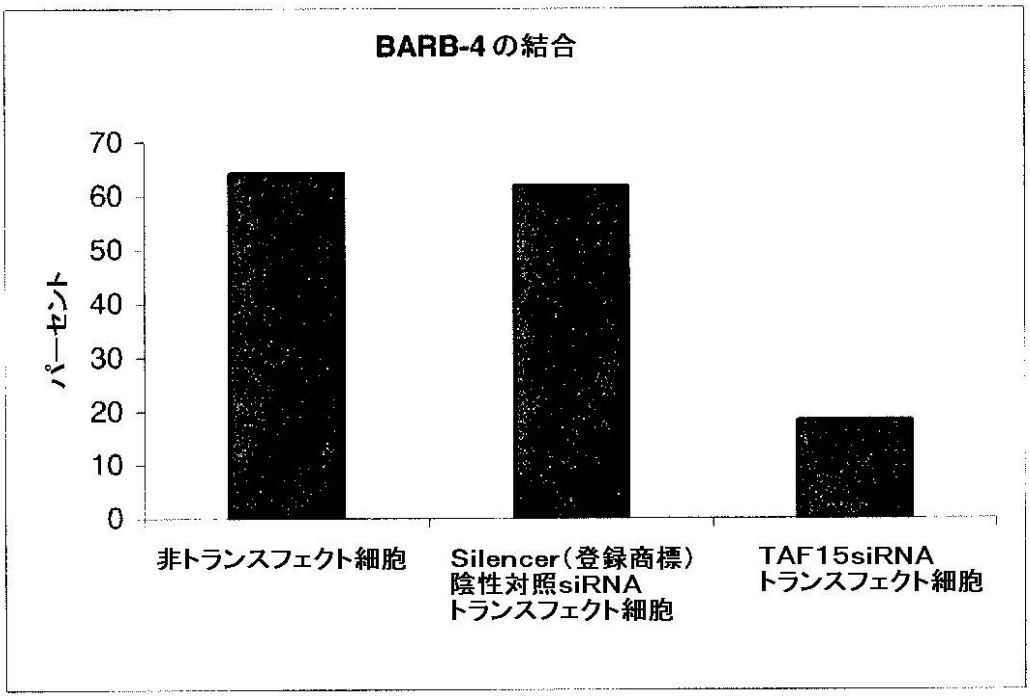
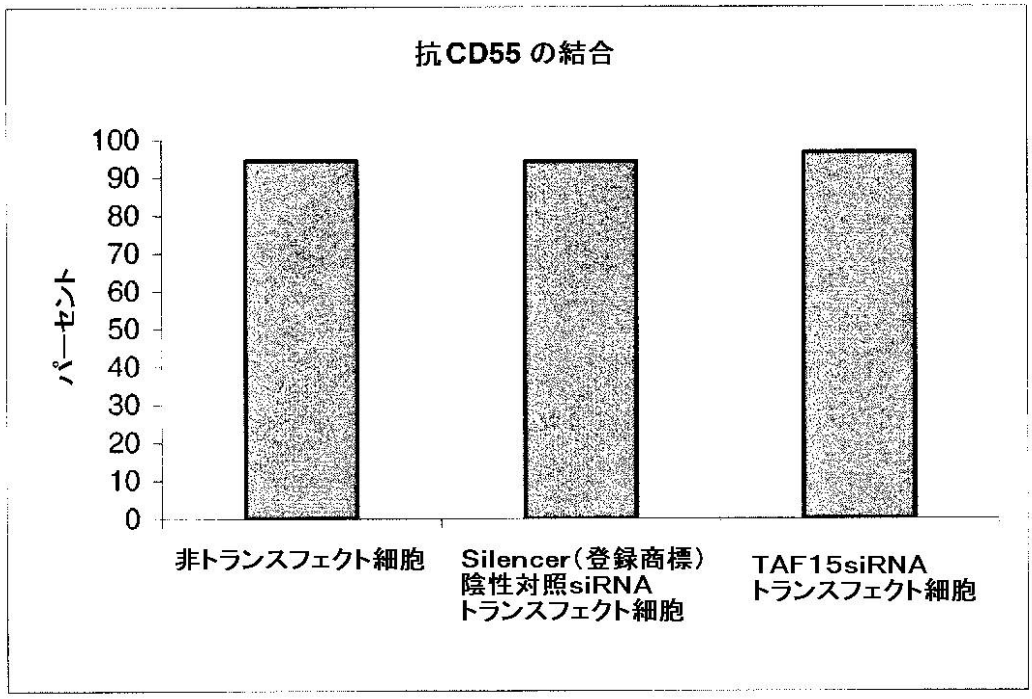
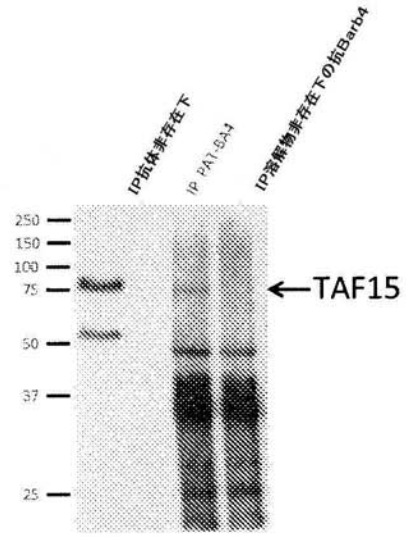


FIGURE 8B



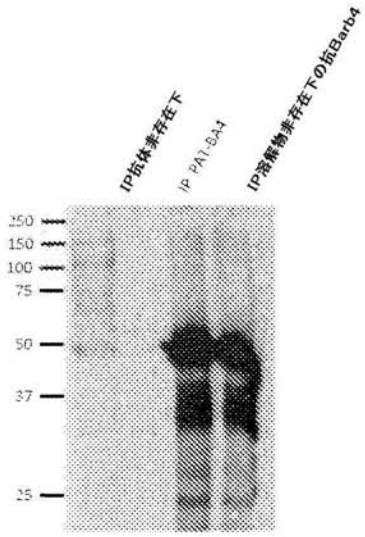
【図９－１】

FIGURE 9A



染色:
-TAFII68 (A300-308A, Biomol)
- 抗ウサギHRP

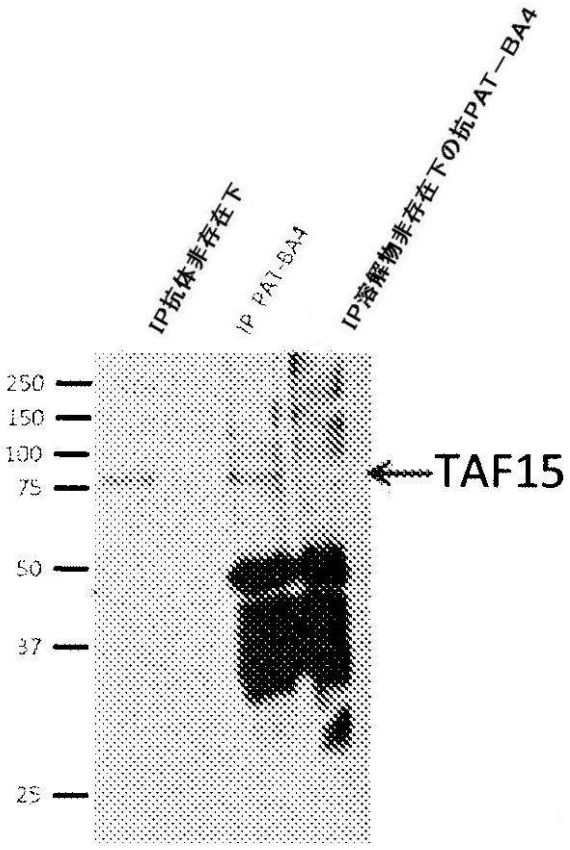
FIGURE 9B



染色:
- PAT-BA4
- 抗ヒトIgGHRP

【図９－２】

FIGURE 9C



【配列表】
2011509652000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2009/005004

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28 C07K16/18 C07K16/32 C07K19/00 C07K14/82
G01N33/574 A61K39/395 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K G01N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BERTOLOTTI A ET AL: "HTAF II68, A NOVEL RNA/SSDNA-BINDING PROTEIN WITH HOMOLOGY TO THE PRO-ONCOPROTEINS TLS/FUS AND EWS IS ASSOCIATED WITH BOTH TFIID AND RNA POLYMERASE II" EMBO JOURNAL, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 15, no. 18, 1 January 1996 (1996-01-01), pages 5022-5031, XP000198516 ISSN: 0261-4189 the whole document -/--	1-15, 17-48, 59-69, 71, 73-84, 122-128, 139-144

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
11 September 2009	25/09/2009

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Bumb, Peter

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2009/005004

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CORVELEYN ANNIEK ET AL: "Cellular transformation of NIH3T3 fibroblasts by CIZ/NMP4 fusions." JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY 15 APR 2005, vol. 94, no. 6, 15 April 2005 (2005-04-15), pages 1112-1125, XP002544891 ISSN: 0730-2312 the whole document	
A	MARKO M ET AL: "Cellular localization of the proto-oncoprotein TAF15" FEBS JOURNAL; 32ND CONGRESS OF THE FEDERATION-OF-EUROPEAN-BIOCHEMICAL 20070701 BLACKWELL PUBLISHING, LONDON, GB, vol. 274, no. Suppl. 1, 1 July 2007 (2007-07-01), page 347, XP008111502 ISSN: 1742-464X the whole document	
X	STAVENHAGEN JEFFREY B ET AL: "Fc optimization of therapeutic antibodies enhances their ability to kill tumor cells in vitro and controls tumor expansion in vivo via low-affinity activating fc gamma receptors" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD., US, vol. 67, no. 18, 1 September 2007 (2007-09-01), pages 8882-8890, XP002489883 ISSN: 0008-5472 the whole document	1,6-33, 35-58, 85-121, 129, 135-140
X	WO 2006/101691 A (PFIZER PROD INC [US]; GOMEZ-NAVARRO JESUS [US]) 28 September 2006 (2006-09-28) sequence 3 page 9 - page 10 page 31 page 39 - page 40	11,13
X	WO 2004/023973 A (INCYTE CORP [US]; SCHMIDT JEANETTE P [US]; WRIGHT RACHEL J [US]; BRUNS) 25 March 2004 (2004-03-25) sequence 5321	11
X	WO 03/077945 A (MEDICAL RES COUNCIL [GB]; LOBATO-CABALLERO MARIA NATIVID [GB]; RABBITT) 25 September 2003 (2003-09-25) sequences 16, 34	11,12

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2009/005004

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL-EBI [Online] EM_EST: Acc. No.: AJ002394 2 March 1998 (1998-03-02), HENSEL F, ET AL.: "Helicobacter pylori induce specific germ-line coded antibodies that promote stomach cancer growth" XP002544893 retrieved from EMBL-EBI Database accession no. AJ002394 abstract	11,13,15
X	DATABASE EMBL-EBI [Online] EM_EST. Acc.No.: AA482649 24 June 1997 (1997-06-24), HILLIER L., ET AL.: "WashU-Merck EST Project 1997" XP002544894 retrieved from EMBL-EBI Database accession no. AA482649 abstract	39,40
X	ADAMS M D ET AL: "Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence" GENBANK HOST- GENBANK, 1995, XP002978582 the whole document	39,40
X	WO 00/50595 A (GOUT IVAN [GB]; RODNIN NIKOLAY [UA]; FILONENKO VALERY [UA]; MATSUKA GE) 31 August 2000 (2000-08-31) pages 31,33 sequence 11	41-48, 75,77, 79-82, 85-121
X	KIM SOL ET AL: "Regulation of oncogenic transcription factor hTAF(II)68-TEC activity by human glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)." THE BIOCHEMICAL JOURNAL 1 JUN 2007, vol. 404, no. 2, 1 June 2007 (2007-06-01), pages 197-206, XP002544892 ISSN: 1470-8728 the whole document	59-74, 122-128

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2009/005004

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006101691 A	28-09-2006	AR 053690 A1	16-05-2007
		AU 2006227879 A1	28-09-2006
		CA 2602956 A1	28-09-2006
		EP 1868644 A1	26-12-2007
		JP 2006265244 A	05-10-2006
		KR 20070108259 A	08-11-2007
		US 2008279865 A1	13-11-2008
WO 2004023973 A	25-03-2004	AU 2003289716 A1	30-04-2004
WO 03077945 A	25-09-2003	AU 2003219277 A1	29-09-2003
WO 0050595 A	31-08-2000	AU 3246200 A	14-09-2000

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	5/00	101	4C085
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12P	21/08		4C086
C07K 14/82	*(2006.01)*	C07K	14/82		4H045
C07K 16/28	*(2006.01)*	C07K	16/28		
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	T	
A61K 48/00	*(2006.01)*	A61K	39/395	E	
A61K 31/7105	*(2006.01)*	A61K	48/00		
A61K 38/00	*(2006.01)*	A61K	31/7105		
A61K 31/711	*(2006.01)*	A61K	37/02		
A61K 39/00	*(2006.01)*	A61K	31/711		
G01N 33/574	*(2006.01)*	A61K	39/00	H	
G01N 33/577	*(2006.01)*	G01N	33/574	A	
G01N 33/53	*(2006.01)*	G01N	33/577	B	
G01N 33/50	*(2006.01)*	G01N	33/53	N	
G01N 33/15	*(2006.01)*	G01N	33/50	Z	
		G01N	33/15	Z	

(31)優先権主張番号 61/043,950
(32)優先日 平成20年4月10日(2008.4.10)
(33)優先権主張国 米国(US)

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

(72)発明者 パワー, バーバラ
オーストラリア国 ３１３０ ビクトリア, ブラックバーン, フクシア ストリート ３６
(72)発明者 イラグ, レオデビコ エル.
オーストラリア国 ３１０３ ビクトリア, バルウィン, ジュラング ストリート ２／６
(72)発明者 ブランドライン, シュテファニー ウテ
ドイツ国 ９７２２５ ツェリンゲン, ランガッセ ３４
(72)発明者 ヴォルメルス, ハインツ ペーター
ドイツ国 ９７０７８ ヴュルツブルク, ボンホッファーシュトラーセ １９

Fターム(参考) 2G045 AA25 AA26 CB01 DA36 DA37 FB03
4B024 AA01 AA11 AA12 CA04 DA03 EA04 GA03 HA17
4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 DA05 DA13 DA14
4B065 AA91X AA91Y AA93X AA93Y AB01 AB04 AC14 BA02 BA08 CA24
CA25 CA44 CA46
4C084 AA02 AA13 BA01 CA18 NA14 ZB262
4C085 AA13 AA14 AA16 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB41 BB43
CC02 CC22 CC23 DD62 DD63 EE03
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZB26
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA41 DA76 DA86 EA28 EA50 EA51

FA74

专利名称(译)	BARB4靶标含有TATA结合蛋白结合因子15，抗体称为BARB 4，BARB 4相关抗体，以及制备和使用它们的方法

公开(公告)号	JP2011509652A	公开(公告)日	2011-03-31
申请号	JP2010541130	申请日	2009-01-07

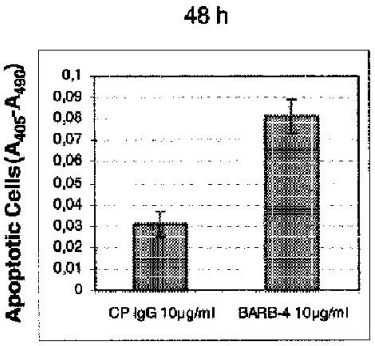
[标]发明人	ヘンゼルフランク パワーバーバラ イラグレオデビコエル ブランドラインシュテファニーウテ ヴォルメルスハインツペーター
发明人	ヘンゼル, フランク パワー, バーバラ イラグ, レオデビコ エル. ブランドライン, シュテファニー ウテ ヴォルメルス, ハインツ ペーター
IPC分类号	C12N15/09 C12N15/113 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 C07K14/82 C07K16/28 A61P35/00 A61K39/395 A61K48/00 A61K31/7105 A61K38/00 A61K31/711 A61K39/00 G01N33/574 G01N33/577 G01N33/53 G01N33/50 G01N33/15
CPC分类号	A61P35/00 C07K14/82 C07K16/18 C07K16/28 C07K16/30 C07K16/32 C07K2317/21 C07K2317/73 C12N15/1135 G01N33/574 G01N33/5748
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N15/00.G C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 C12P21/08 C07K14/82 C07K16/28 A61P35/00 A61K39/395.T A61K39/395.E A61K48/00 A61K31/7105 A61K37/02 A61K31/711 A61K39/00.H G01N33/574.A G01N33/577.B G01N33/53.N G01N33/50.Z G01N33/15.Z
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA26 2G045/CB01 2G045/DA36 2G045/DA37 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/AA12 4B024/CA04 4B024/DA03 4B024/EA04 4B024/GA03 4B024/HA17 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/DA05 4B064/DA13 4B064/DA14 4B065/AA91X 4B065/AA91Y 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AB04 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA08 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/CA18 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB33 4C085/BB34 4C085/BB35 4C085/BB36 4C085/BB37 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/CC02 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/DD62 4C085/DD63 4C085/EE03 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZB26 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA41 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA28 4H045/EA50 4H045/EA51 4H045/FA74
代理人(译)	夏木森下
优先权	61/019502 2008-01-07 US 61/023345 2008-01-24 US 61/084814 2008-07-30 US 61/043950 2008-04-10 US
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本发明提供了TATA结合蛋白结合因子15（TAF 15）的抗体，功能片段，修饰和突变，抗体靶标，核酸和其他组合物。这些抗体，功能片段，修饰形式和变体，核酸和其它组合物可用于治疗，诊断和接种的方法中。一种治疗方法包括抑制增殖细胞（如过度增殖细胞）的生长或增殖，或诱导过度增殖细胞（如细胞过度增殖性疾病细胞）消退。 。

Figure 2

Cell Death ELISA



Stomach Cancer Cells
23132/87