

(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2013-506428

(P2013-506428A)

(43) 公表日 平成25年2月28日 (2013. 2. 28)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006. 01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	2 G O 4 5
C O 7 K 16/28 (2006. 01)	C O 7 K 16/28	4 B O 2 4
C 1 2 N 1/15 (2006. 01)	C 1 2 N 1/15	4 B O 6 4
C 1 2 N 1/19 (2006. 01)	C 1 2 N 1/19	4 B O 6 5
C 1 2 N 1/21 (2006. 01)	C 1 2 N 1/21	4 C O 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 145 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2012-532427 (P2012-532427)	(71) 出願人	507196491
(86) (22) 出願日	平成22年10月6日 (2010. 10. 6)		アレシア・バイオセラピューティクス・インコーポレーテッド
(85) 翻訳文提出日	平成24年5月15日 (2012. 5. 15)		カナダ・H 2 X・1 Y 4・ケベック・モン
(86) 国際出願番号	PCT/CA2010/001586		トリオール・SB-5100・アヴニュ・
(87) 国際公開番号	W02011/041894		プレジダン・ケネディ・1 4 1
(87) 国際公開日	平成23年4月14日 (2011. 4. 14)	(74) 代理人	100108453
(31) 優先権主張番号	61/248, 960		弁理士 村山 靖彦
(32) 優先日	平成21年10月6日 (2009. 10. 6)	(74) 代理人	100064908
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 志賀 正武
(31) 優先権主張番号	12/580, 943	(74) 代理人	100089037
(32) 優先日	平成21年10月16日 (2009. 10. 16)		弁理士 渡邊 隆
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100110364
			弁理士 実広 信哉
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 破骨細胞特異的抗原の生物学的活性を特異的にブロックする抗体

(57) 【要約】

S i g l e c - 1 5 に特異的に結合する新規な抗体および抗原結合断片が開示される。いくつかの態様では、前記抗体および抗原結合断片は S i g l e x - 1 5 の生物学的活性をブロックし、骨量減少の治療用に有用、より具体的には細胞表面での S i g l e c - 1 5 の発現が増加する骨疾患（例えば、破骨細胞の骨分解活性の上昇がみられる状態など）の治療のための組成物に有用である。本発明はまた、抗体またはその抗原結合断片（例えばモノクローナル抗体、ヒト化またはキメラ抗体）を発現する細胞に関する。さらに前記抗体または抗原結合断片を用いた、骨量減少、骨関連疾患、または癌の検出方法および治療方法も開示される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

破骨細胞の分化を促進できるポリペプチドに結合する能力を有し、シアル酸結合免疫グロブリン様レクチン 15 (S i g l e c - 1 5 ; 配列番号 2) の 20 番目から 259 番目までのアミノ酸の領域と少なくとも 80 % の配列同一性を有する、単離された抗体または抗原結合断片であって、

前記抗体または抗原結合断片は、破骨細胞の分化を阻害する能力、骨再吸収を阻害する能力、または S i g l e c - 1 5 がシアル酸に結合するのをブロックする能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 2】

前記抗体または抗原結合断片は、破骨細胞前駆細胞が分化した破骨細胞に分化するのを阻害する能力を有する、請求項 1 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 3】

前記単離された抗体または抗原結合断片は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片である、請求項 2 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4】

単離された哺乳類細胞から産生されることを特徴とする、請求項 3 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 5】

前記単離された哺乳類細胞がヒトの細胞である、請求項 4 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 6】

前記単離された抗体は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片である、請求項 5 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 7】

ヒト抗体の定常領域またはその断片のアミノ酸を含むヒト抗体またはキメラ抗体であることを特徴とする、請求項 6 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 8】

前記定常領域またはその断片は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 に由来する、請求項 7 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 9】

前記定常領域が、I g G 2 に由来する、請求項 8 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 10】

ヒト抗体の定常領域またはその断片のアミノ酸を含むヒト抗体またはキメラ抗体であることを特徴とする、請求項 3 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 11】

前記定常領域またはその断片は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 に由来する、請求項 10 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 12】

前記定常領域が、I g G 2 に由来する、請求項 11 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 13】

前記抗原結合断片が、F V (s c F v)、F a b、F a b'、または (F a b')₂ である、請求項 2 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 14】

前記破骨細胞前駆細胞は、ヒト破骨細胞前駆細胞である、請求項 2 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 15】

前記ヒト破骨細胞前駆細胞は、初代ヒト破骨細胞前駆細胞である、請求項 8 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 16】

前記単離された抗体または抗原結合断片は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片である、請求項 9 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 17】

前記単離された抗体または抗原結合断片は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片である、請求項 16 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

10

【請求項 18】

ヒト抗体の定常領域またはその断片のアミノ酸を含むヒト抗体またはキメラ抗体であることを特徴とする、請求項 17 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 19】

前記定常領域またはその断片は、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4に由来する、請求項 18 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 20】

前記定常領域が、IgG2に由来する、請求項 19 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 21】

非変性Siglec-15に結合することを特徴とする請求項 1 乃至 20 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片。

20

【請求項 22】

Siglec-15に特異的に結合し、Siglec-2またはCD33には結合しないことを特徴とする請求項 21 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 23】

1ngの抗体が、500ng未満の配列番号2に結合する能力を有することを特徴とする請求項 1 乃至 22 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 24】

配列番号2、または配列番号2の20番目から259番目までのアミノ酸の領域と少なくとも80%の配列同一性を有するその変異体に特異的に結合する能力を有し、かつ卵巢癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞中の前記配列番号2またはその変異体を検出する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片。

30

【請求項 25】

配列番号2、または配列番号2の20番目から259番目までのアミノ酸の領域と少なくとも80%の配列同一性を有するその変異体に特異的に結合する能力を有し、かつ卵巢癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞の増殖を阻害する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片。

40

【請求項 26】

前記抗体が、配列番号38と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号42と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号46と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号50と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号54と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号58と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号62と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号66と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号162と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号166と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、および配列番号170と少なくとも70%の配列同一性を有する配列からなる群から選択された配列を含む軽鎖可変ドメインを含む、請求項 1 乃至 25 のい

50

れかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 27】

前記抗体が、配列番号 40 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列、配列番号 44 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列、配列番号 48 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列、配列番号 52 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列、配列番号 56 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列、配列番号 60 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列、配列番号 64 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列、配列番号 68 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列、配列番号 164 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列、配列番号 168 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列、および配列番号 172 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する配列からなる群から選択された配列を含む重鎖可変ドメインを含む、請求項 1 または 26 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

10

【請求項 28】

S i g l e c - 15 またはその変異体に特異的に結合する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片であって、

前記抗体は、

a) 配列番号 38 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 40 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

b) 配列番号 42 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 44 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

20

c) 配列番号 46 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 48 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

d) 配列番号 50 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 52 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

e) 配列番号 54 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 56 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

f) 配列番号 58 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 60 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

g) 配列番号 62 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 64 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

30

h) 配列番号 66 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 68 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

i) 配列番号 162 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 164 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

j) 配列番号 166 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 168 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、および

k) 配列番号 170 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 172 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s を含む、単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 29】

40

S i g l e c - 15 またはその変異体に特異的に結合する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片であって、

前記抗体は、

a) 配列番号 194 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 191 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

b) 配列番号 195 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 192 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

c) 配列番号 196 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 193 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

d) 配列番号 38 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および

50

配列番号 40 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

e) 配列番号 42 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 44 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

f) 配列番号 46 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 48 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

g) 配列番号 50 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 52 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

h) 配列番号 54 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 56 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

i) 配列番号 58 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 60 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

j) 配列番号 62 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 64 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

k) 配列番号 66 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 68 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

l) 配列番号 162 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 164 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

m) 配列番号 166 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 168 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、および

n) 配列番号 170 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 172 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメインを含む、単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 30】

a) 配列番号 194 と少なくとも 70 % の配列同一性を有し、かつ配列番号 148 または配列番号 201 で定義された CDR L1 と、配列番号 149 で定義された CDR L2 と、配列番号 151 または配列番号 203 で定義された CDR L3 とを有する軽鎖可変ドメイン、および

b) 配列番号 191 と少なくとも 70 % の配列同一性を有し、かつ配列番号 153 または配列番号 205 で定義された CDR H1 と、配列番号 155 または配列番号 207 で定義された CDR H2 と、配列 ARG GD G D Y F D Y を有する CDR H3 とを有する重鎖可変ドメイン、を含むことを特徴とする請求項 29 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 31】

前記 CDR L1 が、RSSKSL LHSNG I T Y L Y、RSSKSL LHSNG V T Y L Y、または RSSESL LHSNG I T Y L Y からなる群から選択される、請求項 30 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 32】

前記 CDR L2 が、QMSNLAS である、請求項 29 または 30 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 33】

前記 CDR L3 が、AQNLELPYT、MQHLEYPYT、または AQNLEYPYT からなる群から選択される、請求項 29 乃至 32 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 34】

前記 CDR H1 が、GYTF TSYWMH および GYTF TTYWMH からなる群から選択される、請求項 29 乃至 33 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 35】

前記 CDR H2 が、LINPTNGRTN、LINPSNARTN、および LINPSNGRPN からなる群から選択される、請求項 29 乃至 34 のいずれかに記載の単離され

10

20

30

40

50

た抗体または抗原結合断片。

【請求項 36】

a) 配列番号 195 と少なくとも 70% の配列同一性を有し、かつ配列番号 197 で定義された C D R L 1 と、配列番号 198 で定義された C D R L 2 と、配列番号 204 で定義された C D R L 3 とを有する軽鎖可変ドメイン、および

b) 配列番号 192 と少なくとも 70% の配列同一性を有し、かつ配列 G Y T F T R N W I Q を有する C D R H 1 と、配列番号 200 で定義された C D R H 2 と、配列 A R L A G N Y A Y Y F D Y を有する C D R H 3 とを有する重鎖可変ドメイン、を含むことを特徴とする請求項 29 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 37】

前記 C D R L 1 が、R A S G N I H N Y L A および R A S E N I Y S Y L A からなる群から選択される、請求項 36 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 38】

前記 C D R L 2 が、N A K T L P E および N A K T L A D からなる群から選択される、請求項 36 または 37 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 39】

前記 C D R L 3 が、Q H H Y G V P L T および Q H H Y G A P L T からなる群から選択される、請求項 36 乃至 38 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 40】

前記 C D R H 2 が、A I Y P G N G D S R および A V Y P G N G D S R からなる群から選択される、請求項 36 乃至 39 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 41】

a) 配列番号 196 と少なくとも 70% の配列同一性を有し、かつ配列番号 202 で定義された C D R L 1 と、配列番号 150 で定義された C D R L 2 と、配列番号 151 または配列番号 203 で定義された C D R L 3 とを有する軽鎖可変ドメイン、および

b) 配列番号 193 と少なくとも 70% の配列同一性を有し、かつ、配列番号 154 または配列番号 208 で定義された C D R H 1 と、配列番号 156 または配列番号 209 で定義された C D R H 2 と、配列番号 158 または配列番号 210 で定義された C D R H 3 とを有する重鎖可変ドメイン、を含むことを特徴とする請求項 29 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 42】

前記 C D R L 1 が、R S S K S L L H S N G N T Y L Y および R S T K S L L H S N G N T Y L Y からなる群から選択される、請求項 41 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 43】

前記 C D R L 2 が、R M S N L A S である、請求項 41 または 42 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 44】

前記 C D R L 3 が、M Q H L E Y P F T である、請求項 41 乃至 43 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 45】

前記 C D R H 1 が、G Y T F T D Y D M H および G Y T F T D Y E M H からなる群から選択される、請求項 41 乃至 44 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 46】

前記 C D R H 2 が、T I D P E T G G T A および A I D P E T G G T A からなる群から選択される、請求項 41 乃至 45 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 47】

10

20

30

40

50

前記CDRH3が、TSFYYSNVDVGFA Y、TSFYYSYNYDVGFA Y、およびTSFYYSHYNYDVGFA Yからなる群から選択される、請求項41乃至46のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項48】

請求項1乃至47のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片と競合する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項49】

前記抗体は、定常領域またはその断片を含む、請求項1乃至48のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項50】

s c F v、F a b、F a b'、または(F a b')₂である、請求項1乃至48のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項51】

前記抗体は、モノクローナル抗体である、請求項1乃至49のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項52】

前記抗体は、ポリクローナル抗体である、請求項1乃至49のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項53】

前記抗体が、検出可能部分または細胞毒性部分とコンジュゲートしている、請求項1乃至52のいずれかに記載の単離された抗体。

【請求項54】

請求項26乃至47のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の軽鎖可変ドメインおよび／または重鎖可変ドメインをコードする核酸。

【請求項55】

請求項54の核酸を含むベクター。

【請求項56】

前記ベクターが発現ベクターである、請求項55に記載のベクター。

【請求項57】

請求項54の核酸を含む、単離された細胞。

【請求項58】

前記細胞は、軽鎖可変ドメインをコードする核酸と、重鎖可変ドメインをコードする核酸とを含む、請求項57に記載の単離された細胞。

【請求項59】

前記細胞は、抗体またはその抗原結合断片を発現、構築、および／または分泌する能力を有する、請求項58に記載の単離された細胞。

【請求項60】

請求項1乃至53のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片を含む、または発現する、単離された細胞。

【請求項61】

前記細胞は、軽鎖可変ドメインをコードする核酸と、重鎖可変ドメインをコードする核酸とを含む、請求項60に記載の単離された細胞。

【請求項62】

前記細胞は、抗体またはその抗原結合断片を発現、構築、および／または分泌する能力を有する、請求項61に記載の単離された細胞。

【請求項63】

請求項1乃至53のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも1つと、薬学的に許容される担体、とを含む医薬組成物。

【請求項64】

請求項1乃至53のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも1つと、担

10

20

30

40

50

体、とを含む医薬組成物。

【請求項 6 5】

骨量減少の治療における、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つの使用。

【請求項 6 6】

卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の治療における、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つの使用。

【請求項 6 7】

骨量減少または骨疾患の診断における、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つの使用。

【請求項 6 8】

卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の診断における、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つの使用。

【請求項 6 9】

骨量減少の治療方法であって、

治療を必要とする哺乳類に対し、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つを投与する工程を含む、方法。

【請求項 7 0】

卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の治療方法であって、

治療を必要とする哺乳類に対し、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つを投与する工程を含む、方法。

【請求項 7 1】

骨量減少または骨疾患を検出する方法であって、

検出を必要とする哺乳類に対し、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つを投与する工程を含む、方法。

【請求項 7 2】

卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の検出方法であって、

検出を必要とする哺乳類に対し、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つを投与する工程を含む、方法。

【請求項 7 3】

配列番号 2、または配列番号 2 の 2 0 番目から 2 5 9 番目までのアミノ酸の領域と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する配列番号 2 の変異体を検出する方法であって、

配列番号 2 または配列番号 2 の変異体を発現する細胞、あるいは配列番号 2 または配列番号 2 の変異体を含む、または含む疑いがあるサンプルを、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つと接触させる工程と、

結合を測定する工程とを含む、方法。

【請求項 7 4】

前記サンプルが、哺乳類に由来するものである、請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記哺乳類が、骨量減少を罹患している、または罹患している疑いがある哺乳類である、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 7 6】

前記哺乳類が、卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌に罹患している、または罹患している疑いがある哺乳類である、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 7 7】

10

20

30

40

50

前記サンプルは、前記哺乳類から採取された血清サンプル、血漿サンプル、または血液サンプルである、請求項 7 3 乃至 7 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 8】

前記サンプルは、前記哺乳類から採取された組織サンプルである、請求項 7 3 乃至 7 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 9】

前記サンプルは、細胞培養物上清である、請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 8 0】

配列番号 2 または配列番号 2 の変異体に結合した抗体の量を定量する工程を含む、請求項 7 8 乃至 7 9 のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 8 1】

請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体を含む、キット。

【請求項 8 2】

骨量減少、卵巢癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の診断用または治療用の抗体を製造するための、配列番号 2 または少なくとも 1 0 個のアミノ酸からなるその断片の使用。

【請求項 8 3】

前記断片は、配列番号 2 の 2 0 番目から 2 5 9 番目までのアミノ酸の領域内の部分から構成される、請求項 8 2 に記載の使用。

【請求項 8 4】

破骨細胞前駆細胞が（分化した破骨細胞に）分化するのを阻害する、または破骨細胞の骨再吸収活性を阻害する能力を有する抗体または抗原結合断片を生成する方法であって、哺乳類に対し、配列番号 2、配列番号 2 と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するその変異体、または少なくとも 1 0 個のアミノ酸からなるその断片を投与する工程を含む、方法。

20

【請求項 8 5】

前記抗体または抗原結合断片を単離または精製する工程をさらに含む、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記断片は、配列番号 2 の 2 0 番目から 2 5 9 番目までのアミノ酸の領域内の部分から構成される、請求項 8 5 に記載の使用。

30

【請求項 8 7】

卵巢癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞の増殖を阻害する能力を有する化合物を同定する方法であって、

配列番号 2 の 2 0 番目から 2 5 9 番目までのアミノ酸の領域と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する領域を含むポリペプチド、または前記ポリペプチドを発現する細胞に対し、候補の化合物を提供する工程と、

前記ポリペプチドの活性または発現を測定する工程であって、前記ポリペプチドの活性または発現の低下により適切な阻害剤化合物が積極的に同定される、方法。

40

【請求項 8 8】

前記候補化合物が、前記ポリペプチドに特異的に結合する、請求項 8 7 に記載の方法。

【請求項 8 9】

前記候補化合物は、抗体または抗原結合断片である、請求項 8 8 に記載の方法。

【請求項 9 0】

前記候補化合物は、s i R N A またはアンチセンスである、請求項 8 9 に記載の方法。

【請求項 9 1】

卵巢癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞から選択された癌細胞の増殖を阻害する方法であって、

前記癌細胞に対し、配列番号 2 と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するポリペプチド

50

の発現を減じる能力を有する核酸を提供する工程を含み、

前記癌細胞は、配列番号2と少なくとも80%の配列同一性を有するポリペプチドを発現する、方法。

【請求項92】

前記核酸は、siRNAまたはアンチセンスである、請求項90に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、Siglec-15に特異的に結合するモノクローナル抗体およびその抗原結合断片、ならびに癌または骨量減少（例えば骨関連疾患に関連する、もしくは破骨細胞の分化や活性の増加に関連する、重度または過度な骨量減少など）の診断、予防、および治療を含む、特定疾患の処置のための、それらの使用に関するものである。本発明はまた、破骨細胞の活性が増加する他の各種疾患の診断、予防、および治療のための、これらの抗体の使用にも関連する。

10

【背景技術】

【0002】

骨は動的な結合組織であって、骨の構造的、機械的および生化学的な完全性、ならびに人体のミネラルのホメオスタシスを支えるのに必要とされる、機能的に異なる複数の細胞集団で構成される。関与する主な細胞の種類には、骨形成と骨量の維持を担う骨芽細胞、骨吸収を担う破骨細胞が含まれる。動的なプロセスでの骨芽細胞および破骨細胞の機能は、骨再形成と呼ばれる。これらの細胞のその前駆細胞からの発達と増殖は、全身性のホルモンによってだけでなく、骨の微小環境において生産される成長因子やサイトカインのネットワークによって支配されている。骨再形成は、個体の生涯を通じて進行中であり、健康な骨組織とミネラルのホメオスタシスの維持のため必要である。そのプロセスは概ね平衡状態のままで、全身性のホルモン、ペプチド、および下流のシグナル伝達経路タンパク質、局所的転写因子、サイトカイン、成長因子および骨基質再形成遺伝子の複雑な相互作用によって支配されている。

20

【0003】

骨の再形成の過程で生じるあらゆる阻害または不均衡が骨疾患を生じ得、最も一般的な骨疾患は正味の骨量の減少によって特徴付けられる。骨量の減少の主な原因は、破骨細胞の数および／または活性の上昇である。そのような疾患のうち最も一般的で、おそらく最もよく知られたものは、特に閉経後の女性に発生する骨粗鬆症である。実際、骨粗鬆症は、中後年および高齢の女性における骨折の最も重要かつ根本的な原因である。エストロゲン欠乏は閉経後骨粗鬆症の要因として密接に関係づけられてきたが、Frostが40年前に記載しているように（Frost H. M. 1964）、骨再形成は骨格全体での個々のパケットで生じる局所的に制御されたプロセスであることの証拠がかなり以前から存在している。

30

【0004】

骨再形成は個々のパケットで行われるため、骨吸収の開始および通常の骨再形成プロセスにおいては、局所的に産生されるホルモンおよび酵素が全身性のホルモンよりも重要であり得る。このような局所的な調節は、それらが作用する微小環境における骨芽細胞と破骨細胞によって媒介される。複数の小胞が、骨基質に向かって酵素を輸送し、部分的に消化された骨基質を内部に取り込む。密閉ゾーン内の微小環境は、リソソーム酵素が豊富に存在し、体の正常な生理的pHに比べて非常に酸性度が高い。波状縁膜は、RANK、RANKLの受容体、およびマクロファージコロニー刺激因子（M-CSF）受容体を発現し、RANKLおよびM-CSFの両受容体は、急速に破骨細胞を不活性化することのできるカルシトニン受容体とともに破骨細胞の分化を担っている（Baron, R. 2003）。

40

【0005】

阻害と刺激の複雑なパターンにおいて、成長ホルモン、インスリン様成長因子1、性ス

50

テロイド、甲状腺ホルモン、カルシウム代謝活性型ホルモン（例えば、PTHやプロスタグランジンE₂など）、各種サイトカイン（例えばインターロイキン1 β 、インターロイキン6、および腫瘍壊死因子 α など）、および1, 25-ジヒドロキシビタミンD（カルシトリオール）は、骨再形成の過程で協働して作用する（Jilkから1992；Politiから1994；Srivastavaから1998；de Vemejou1 1996）。

【0006】

したがって、これらの特殊な細胞によって生成された独特な局所的環境は、他の組織で発現していない独特の遺伝子配列、および／または他の組織で発現されるポリペプチドおよびポリヌクレオチドのスプライス変異体のいずれかの発現によるもの、とするのが理にかなっている。破骨細胞活性に特異的なポリヌクレオチド、ポリペプチドおよびそれらの変異体および誘導体を単離および同定することにより、再形成プロセスの明確な理解が可能となり、骨再形成に関連する疾病状態の治療のための組織特異的な治療の標的が提供されることになろう。

【0007】

骨再形成に結びついている多くの疾患が十分に理解されておらず、一般的に治療不可能であるかまたは限られた範囲内でしか治療できない。例えば、変形性関節症は、疼痛の軽減や患部の関節の変形を防止することに焦点を当てた治療や処置の方法が存在しないことから、治療が困難である。非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）が、一般に疼痛を軽減するために使用されている。

【0008】

別の例として挙げられるのは、現状FDAに米国での使用が承認された薬物としては骨破壊を防止する骨再吸収阻害薬しか存在しない、骨粗鬆症である。エストロゲン補充療法は、再吸収阻害薬の一例である。その他の再吸収阻害薬としては、アレンドロネート（フォサマックス（Fosamax）ービスホスホネート系再吸収阻害薬）、リセドロネート（アクトネル（Actonel）ービスホスホネート系再吸収阻害薬）、ラロキシフェン（エビスタ（Evista）ー選択的エストロゲン受容体調整薬（SERM））、カルシトニン（カルシマー（Calcimar）ーホルモン）、および副甲状腺ホルモン／テリパラチド（フェルテオ（Forteo）ーカルシウム代謝を調節するのに役立つヒトのホルモン、副甲状腺ホルモンの合成型）などが挙げられる。

【0009】

アレンドロネートおよびリセドロネートなどのビスホスホネートは骨の表面に永久的に結合し、破骨細胞活性を阻害する。これによって骨芽細胞の再吸収率を増大させることができる。最も一般的な副作用は悪心、腹痛および下痢である。しかしアレンドロネートは、食道の過敏症および炎症を引き起こし、場合によっては、食道の潰瘍を引き起こすことも報告されている。リセドロネートはアレンドロネートと化学的に異なり、食道の過敏症を引き起こす可能性が低い。しかし、ある種の食品、カルシウム、鉄サプリメント、ビタミンおよびミネラル、または酸中和剤（カルシウム、マグネシウム、またはアルミニウムを含む）はリセドロネートの吸収を低下させて、有効性の消失をもたらすことがある。

【0010】

ラロキシフェンおよび他のSERM（タモキシフェンなど）の、最も一般的な副作用は顔面紅潮である。しかし、ラロキシフェンおよび他のホルモン補充療法剤は、深部静脈血栓症および肺塞栓症を含む血栓、心血管疾患および癌の危険を増大させることが判明してきている。

【0011】

カルシトニンは、骨密度の増大および骨の強化について、エストロゲンおよび他の再吸収阻害薬ほど有効ではない。注射用または鼻腔スプレー用カルシトニンの一般的な副作用は悪心および紅潮である。患者は鼻過敏症、鼻水、または鼻血を発症することがある。注射用カルシトニンは、注射部位における局所的な皮膚の発赤、皮膚の発疹、および紅潮を引き起こすことがある。

【0012】

骨再形成が関与するいくつかの疾患または状態同士の関連を示す状況証拠としては、FDAにより最初はページェット病の治療用に承認されたエチドロネート（ダイドロネル）を使用したものが挙げられる。ページェット病は、骨の脆弱化や疼痛をもたらす、無秩序かつ加速的な骨再形成によって特徴付けられる骨疾患である。いくつかの研究において、ダイドロネルをオフラベル使用することにより、確定した骨粗鬆症を罹患する閉経後の女性において骨密度が増加することが判明した。さらに、長期のステロイド（例えば、プレドニゾンまたはコルチゾンなど）の投薬を必要とする患者では骨量減少の防止に効果があることも判明した。しかしダイドロネルを高用量でまたは連続的に使用すると、骨軟化症と呼ばれる別の骨疾患を引き起こす可能性がある。骨粗鬆症と同様に、骨軟化症は骨の脆弱化と骨折のリスク増加をもたらす得る。骨軟化症の懸念があることと骨折率の減少に関する十分な研究が依然不足しているために、米国FDAは、骨粗鬆症の治療目的ではダイドロネルを承認していない。

10

【0013】

骨粗鬆症の治療法は、主に骨量の減少率を低下させる再吸収阻害薬に焦点を合わせてきていたが、新しい療法は単に骨を維持するかあるいはその劣化を遅らせる代わりに、骨ミネラル濃度を増大させることに効果を発揮する。骨粗鬆症治療薬の初期段階の開発パイプラインは、概ね新しい治療クラスの薬剤候補、特にカテプシンK阻害剤、オステオプロテゲリン、およびカルシウム受容体アンタゴニストならびに新規のビスホスホネートからなる。これらのうちいくつかは、骨の生物学の深い理解に基づきゲノムプログラムを利用して新規の薬剤を開発している例であり、長期的には骨疾患の治療の様相を変える可能性を有する。

20

【0014】

本発明は、癌や骨量減少（例えば、骨関連疾患に関連する、または破骨細胞の分化や活性の増加に関連する重度または過度な骨量減少）の診断、予後、治療（予防を含む）のためのSiglec-15に特異的な抗体の使用方法を開示する。具体的には、本発明は、破骨細胞の分化を阻害するための抗Siglec-15抗体の使用に関するものである。

【0015】

シアル酸結合免疫グロブリン様レクチン（Siglec）は、シアル酸と相互作用する能力）を有する免疫グロブリン（Ig）スーパーファミリーのメンバーである（McMillanおよびCrocker, 2008; Crockerら, 2007）。特定の構造上の特徴として、特にシアル酸および不特定数のC2セットIgドメインに結合するアミノ末端VセットIgドメインを示す特徴を共有するいくつかのSiglecのファミリーが存在する。これらの膜受容体は、一般的に高度に特異的な方式で発現され、そのファミリーの多くは造血細胞で発現される（McMillanおよびCrocker, 2008）。

30

これらのタンパク質は、細胞間相互作用を促進し、シグナル伝達を媒介し、また糖鎖の認識を介して免疫機能を調節すると考えられている（Crockerら, 2007）。シアル酸は、通常細胞表面上の複合糖質の両端に位置する9炭糖である。シアル酸は種々のタンパク質および脂質に付着できる（McMillanおよびCrocker, 2008）。

40

【0016】

Siglec-15は、Siglec-14と高い相同性を有する、最近報告されたSiglecファミリーメンバーの1種である（Angataら, 2007）。この著者らは、Siglec-15がシアルルTn構造に優先的に結合し、かつDAP12およびDAP10と相互作用することを報告している。これらの相互作用の機能的意義はわかっていないが、Siglec-15は、おそらく活性化機能を有しているのではないかと述べられている（Angataら, 2007）。Siglec-15の哺乳類における潜在的な役割についてのこのような洞察が従前よりなされてはいたが、新規な破骨細胞の分化調節因子を発見するためのスクリーニングの一部としてその配列が同定されたとき、当該タン

50

パク質の生物学的機能を理解する上で重要な進歩が生じた（Sooknananら、2007）。本特許出願には、破骨細胞発生のマウスモデルにおけるRNA阻害によるSiglec-15転写物の減弱により、RANKL処理に応じた前駆物質の分化の有意な減少がもたらされたことが開示されている。同様の結果がヒト破骨細胞についても開示されている。さらに本明細書に開示した研究により、Siglec-15の細胞膜における局在は、破骨細胞の分化におけるその機能発揮のために必要であることも判明した。さらに、最近の出版物によれば、表面の複合糖質の末端におけるシアル酸の存在は、適正な破骨細胞の分化に必要であり、破骨細胞前駆細胞の融合にとってもおそらく重要であることが判明している（Takahataら、2007）。この最後の観察結果は、シアル酸の結合と分化している破骨細胞におけるSiglec-15の発現との間の直接の機能的な結びつきを新たに示しており、かつSiglec-15は破骨細胞前駆体の初期の分化プログラムにおいて重要な役割を果たしていることを強く示唆している。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0017】

【非特許文献1】Frost H.M., 1964 Dynamics of Bone Remodelling. In: Bone Biodynamics, Little and Brown, Boston, MA, USA pp.315

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0018】

20

したがって、Siglec-15の発現プロファイル、破骨細胞分化の間のその強力な誘導能、膜表面でのその局在、およびその構造的特徴はいずれも、モノクローナル抗体による細胞表面の当該タンパク質のターゲティングの可能性を支持する理由となる。破骨細胞を標的とするモノクローナル抗体をベースにした治療法の他の唯一の例は、デノスマブ、即ちRANKLに特異的なヒトモノクローナル抗体の利用である（Ellisら、2008）。本発明は、特に骨関連疾患や破骨細胞の分化が増大する場合での、骨量減少の検出または治療における破骨細胞分化の遮断薬としての抗Siglec-15抗体または抗原結合断片の使用に関する。本発明はまた、癌の検出や治療における当該抗体または抗原結合断片の使用にも関連する。

【課題を解決するための手段】

30

【0019】

本発明は、骨量減少または癌の治療（予防を含む）、検出および診断に有用な、抗体および抗原結合断片ならびにキットに関連する。前記抗体および抗原結合断片は、分化した破骨細胞、卵巣癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞の検出、ならびに骨量減少、卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌または結腸癌の診断にも有用であり得る。本発明の抗体または抗原結合断片はまた、骨量減少、卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の治療にも有用であり得る。

【0020】

本発明の抗体または抗原結合断片は、Siglec-15（配列番号2）の20番目から259番目までのアミノ酸の領域、またはSiglec-15変異体（例えば、配列番号4）の対応する領域に結合し得る。より詳細には、本発明の抗体または抗原結合断片は、Siglec-15（配列番号2）の49番目から165番目までのアミノ酸の領域、またはSiglec-15変異体（例えば、配列番号4）の対応する領域に結合し得る。

40

【0021】

本発明は特に、破骨細胞の分化を促進できるポリペプチドに結合する能力、および前記ポリペプチドの破骨細胞分化活性を阻害する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片に関する。

【0022】

本発明の抗体または抗原結合断片は、配列番号2の20番目から259番目までのアミ

50

ノ酸の領域に結合するもの、または配列番号2の20番目から259番目までのアミノ酸の領域と少なくとも80%の配列同一性を有する変異体に結合するものも包含する。

【0023】

より具体的には、本発明の抗体または抗原結合断片は、特に配列番号2の49番目から165番目までのアミノ酸の領域、または配列番号2の49番目から165番目までのアミノ酸の領域と少なくとも80%の配列同一性を有する変異体に結合し得る。

【0024】

さらに具体的には、本発明の抗体または抗原結合断片は、特に配列番号2と少なくとも80%の配列同一性を有するポリペプチドに結合し得る。

【0025】

したがって本発明によれば、抗体または抗原結合断片が、前記ポリペプチドの破骨細胞の分化を促進する能力または腫瘍の増殖を促進する能力を阻害し得る。

【0026】

配列番号2または配列番号2の変異体の細胞外領域に結合する能力を有する抗体または抗原結合断片は、特に本発明の意図するところである。

【0027】

したがって本発明は、破骨細胞の分化を促進できるポリペプチドに結合する能力を有し、シアル酸結合免疫グロブリン様レクチン15 (S i g l e c - 1 5 ; 配列番号2)の20番目から259番目までのアミノ酸の領域と少なくとも80%の配列同一性を有する、単離された抗体または抗原結合断片であって、前記抗体または抗原結合断片は、破骨細胞の分化を阻害する能力、骨再吸収を阻害する能力、またはS i g l e c - 1 5がシアル酸に結合するのをブロックする能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片を提供する。

【0028】

本発明の抗体または抗原結合断片は、破骨細胞前駆細胞の分化した破骨細胞への分化に干渉する(阻害する)能力を有し得る。

【0029】

本発明によれば、前記単離された抗体または抗原結合断片は、例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片であり得る。

【0030】

ある典型的な実施形態では、前記単離された抗体または抗原結合断片は、ヒト抗体またはその断片の定常領域のアミノ酸を含み得るヒト抗体またはキメラ抗体であり得る。

【0031】

前記定常領域またはその断片は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4に由来するものであり得る。より具体的な態様では、前記定常領域が、I g G 2に由来するものであり得る。

【0032】

特に有用であり得る抗原結合断片としては、例えば、F V (s c F v)、F a b、F a b'、または(F a b')₂が挙げられる。

【0033】

前記抗体または抗原結合断片は、単離された哺乳類細胞(ハイブリドーマ細胞を除く)またはハイブリドーマ細胞において、または該細胞から産生され得る。単離された哺乳類細胞の一例はヒトの細胞である。

【0034】

単離された哺乳類細胞(例えばヒトの細胞)におけるモノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片の産生は、本発明の特に意図するところである。このようにして産生されるキメラ抗体またはヒト抗体は、ヒト抗体の定常領域のアミノ酸またはその断片、例えばI g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4に由来する定常領域またはその断片を含み得る。より具体的な態様では、前記定常領域はI g G 2由来のものであり得る。

10

20

30

40

50

【0035】

本発明の一側面において、本発明の抗体または抗原結合断片は、ヒト破骨細胞前駆細胞が分化したヒト破骨細胞に分化するのを干渉する（阻害する）能力を有し得る。

【0036】

典型的な実施形態では、本発明の抗体または抗原結合断片は、初代ヒト破骨細胞前駆細胞が分化したヒト破骨細胞に分化するのを干渉する（阻害する）能力を有し得る。

【0037】

そのような活性を有する抗体または抗原結合断片には、例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片が含まれる。

【0038】

より具体的な実施形態では、そのような活性を有し得る抗体または抗原結合断片には、例えば、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片が含まれる。

【0039】

さらに具体的な実施形態では、そのような活性を有し得る抗体または抗原結合断片には、例えば、ヒト抗体またはその断片の定常領域のアミノ酸を含み得るキメラ抗体、ヒト抗体、またはその断片が含まれる。

【0040】

ヒト抗体またはキメラ抗体の定常領域またはその断片は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4に由来するものであり得る。より具体的には、前記定常領域は、I g G 2に由来するものであり得る。

【0041】

本発明の抗体および抗原結合断片はまた、一般的にS i g l e c - 1 5を発現または過剰発現する細胞をターゲティングするために用いることができ、そのような細胞としては、骨細胞、および乳癌細胞、結腸癌細胞、肺癌細胞、卵巢癌細胞、前立腺癌細胞、腎癌細胞、ならびに、メラノーマ細胞、および中枢神経系の癌の細胞などが挙げられる。

【0042】

より具体的には、前記抗体および抗原結合断片は、分化しつつある破骨細胞をターゲティングするために用いることができる。

【0043】

本発明はその一側面において、配列番号2に特異的に結合する能力を有し得る、単離された、または実質的に精製された抗体または抗原結合断片を提供する。

【0044】

より具体的に、本発明のある実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、配列番号2の20番目のアミノ酸から259番目のアミノ酸までの間に位置するドメインに結合し得る。

【0045】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、配列番号2の20番目のアミノ酸から259番目のアミノ酸までの領域内で構成されるエピトープに結合する能力を有し得る。

【0046】

したがって本発明は、配列番号2に特異性を有する、診断用および／または治療用の抗体または抗原結合断片を包含する。また本発明には、本発明の抗体と同一のエピトープ特異性を有する抗体または抗原結合断片も包含される。候補の抗体は、本明細書に記載の抗体に対するエピトープに結合するものであるか否かを判定することにより、および／または前記エピトープに結合することが知られている抗体または抗原結合断片を用いて競合アッセイを行うことにより同定することができる。

【0047】

したがって、本発明はその別の側面において、本明細書に記載する抗体または抗原結合断片と競合する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片を提供する。

【0048】

本発明はさらに別の側面において、本発明の抗体または抗原結合断片を用いる治療方法および検出方法を提供する。

【0049】

「抗体」という用語は、インタクトな抗体、モノクローナルまたはポリクローナル抗体をさす。「抗体」という用語には、二特異性抗体などの多特異的な抗体も包含される。ヒト抗体は通常、それぞれ可変領域および定常領域を含む2つの軽鎖および2つの重鎖から形成されている。軽鎖可変領域は、本明細書中ではフレームワーク領域に挟まれたCDRL1、CDRL2およびCDRL3として特定されている、3つのCDRを含む。重鎖可変領域は、本明細書中ではフレームワーク領域に挟まれたCDRH1、CDRH2とCDRH3として特定されている、3つのCDRを含む。

10

【0050】

本明細書において使用される「抗原結合断片」なる用語は、抗原（例えば配列番号2またはその変異体）に結合する能力を有する抗体の1つまたは複数の断片をさす。抗体の抗原結合機能は、インタクトな抗体の断片によって発揮され得ることが判明している。「抗原結合断片」という用語の範囲内に包含される結合断片の例としては、(i) Fab断片(VL、VH、CLおよびCH1ドメインからなる一価の断片)、(ii) F(ab')₂断片(ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFab断片を含む二価の断片)、(iii) VHおよびCH1ドメインからなるFd断片、(iv) 抗体の単一アームVLおよびVHドメインからなるFv断片、(v) dAb断片(Wardら、(1989) Nature 341: 544-546)、VHドメインからなる断片、および(vi) 単離された相補性決定領域(CDR)(例えば、VH CDR3)などが挙げられる。さらに、Fv断片の2つのドメイン、VLおよびVHは、それぞれ別の遺伝子によってコードされているが、両ドメインは、それらを一本鎖のポリペプチドにできる合成リンカーにより、組換えの方法を用いて結合することができ、この場合一本鎖のポリペプチドにおいては、VLおよびVH領域の対が一価分子を形成する(一本鎖Fv(ScFv))としても知られる；例えば、Birdら(1988) Science 242: 423-426；およびHustonら(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883を参照)。そのような一本鎖抗体が、抗体の「抗原結合断片」という用語の範囲内に包含されることも本発明の意図するところである。さらに抗原結合断片は、(i) 免疫グロブリンのヒンジ領域ポリペプチドに融合された結合ドメインポリペプチド(例えば、重鎖可変領域、軽鎖可変領域、またはリンカーペプチドを介して軽鎖可変領域に融合された重鎖可変領域など)、(ii) ヒンジ領域に融合された免疫グロブリン重鎖CH2定常領域、および(iii) CH2定常領域に融合された免疫グロブリン重鎖CH3定常領域を含む、結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質を含む。ヒンジ領域は二量体化を防ぐべく、1つまたは複数のシステイン残基をセリン残基で置換することによって改変することができる。このような結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質は、米国特許出願第2003/0118592号および同第2003/0133939号にさらに開示されている。これらの抗体断片は、当業者に公知の従来技術を用いて取得されるものであり、当該断片は、インタクトな抗体の場合と同様に有用性の有無についてスクリーニングされる。

20

30

40

【0051】

典型的な抗原結合部位は、軽鎖免疫グロブリンと重鎖免疫グロブリンの組み合わせによって形成される可変領域から構成される。抗体の可変領域の構造は非常に不変性が高く、非常に類似な構造を示す。これらの可変領域は、典型的には、3つの超可変領域(相補性決定領域(CDR)と呼ばれる)が間に配置された、比較的相同性の高いフレームワーク領域(FR)から構成される。抗原結合断片の全体的な結合活性は、多くの場合、CDRの配列によって決定される。FRは、多くの場合、最適な抗原結合のためのCDRの三次元における適切な配置とアライメントにおいて一定の役割を果たす。

【0052】

本発明の抗体および／または抗原結合断片は、例えば、マウス、ラットまたは他の哺乳

50

類に由来するものであるか、あるいは組換えDNA技術による場合などのように他のソースに由来するものであり得る。

【0053】

本発明のさらなる範囲、利用性および利点は、後述する限定を意図しない詳細な説明から明らかとなろう。本明細書の詳細な説明は、本発明の実施の形態を記載しているが、これは添付図面とともに本発明の実施形態の例示のみを目的とするものであることを理解されたい。

【図面の簡単な説明】

【0054】

【図1】6名の異なるドナー由来の、ヒトの分化している破骨細胞のサンプルにおける、S i g l e c - 1 5 mRNAのPCRベースの発現プロファイリングを示す。30個のヒト正常組織由来のRNAサンプルにおける発現プロファイリングも示す。対照として、S i g l e c - 1 5の発現パターンを既知の破骨細胞マーカーであるカテプシンK (C A T K)と比較し、また各サンプル中のRNAの質を確保するためにハウスキーピング遺伝子であるグリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素 (G A P D H)を対照に含めた。

【図2】癌細胞株のNCI-60パネルから単離されたサンプル中のS i g l e c - 1 5 mRNAの発現を示す。

【図3】293-6E細胞においてFc融合タンパク質として発現された、精製したヒト組換えS i g l e c - 1 5のサンプルが含まれているクマシー染色したポリアクリルアミドゲルを示す。この調製物は、本明細書中に開示するモノクローナル抗体を生成するために用いられた。

【図4】抗S i g l e c - 1 5 Fabを含むオムニクローナル (O m n i c l o n a l) ライブラリー#25からの96穴プレートから選択された各モノクローナル抗体のFc-S i g l e c - 1 5 E L I S Aの結果を示す。太字の数字で示されたウェルには、典型的なモノクローナル抗体25A1、25B4、25B8、25C1、25D8、25E5、25E6、および25E9が含まれていた。また、Fc-S i g l e c - 1 5融合タンパク質のFc部分に特異的なモノクローナル抗体を特定するためにFc部分を単独で使用した同一プレート上のE L I S Aも示されている。

【図5】マウスFabをIgG2のマウス-ヒトキメラモノクローナル抗体に変換するために必要な手順を示すスキームを提示する。

【図6】典型的な抗体25B4、25B8、25C1、25D8、25E6、および25E9に対する、マウス抗S i g l e c - 1 5 Fabの結合と、対応するIgG2キメラモノクローナル抗体の結合とを比較する図を示す。この結果から、Fab可変領域の相対的な結合が、完全ヒトIgG2のスカフォールドに移されたときに維持されることが分かる。

【図7】漸次濃度を増加させた抗S i g l e c - 1 5 IgG2のキメラモノクローナル抗体の25B8、25E6、および25E9で処置したときのヒトの破骨細胞の分化の阻害を示す。処置の後に破骨細胞をTRAP発現の有無を調べるために染色した。

【図8】漸次濃度を増加させた抗S i g l e c - 1 5 IgG2のキメラモノクローナル抗体の25B8、25E6、および25E9で処置したときのマウスの破骨細胞の分化の阻害を示す。処置の後に破骨細胞をTRAP発現の有無を調べるべく染色した。

【図9】典型的な抗体25C8の存在下でのヒトおよびマウスS i g l e c - 1 5の比較結合度を示す。この結果は、ヒトS i g l e c - 1 5に対して産生された抗体の結合が、マウスS i g l e c - 1 5とも相互作用することを示す。

【図10A】Clustal W2プログラムを用いて、選択されたCDRL1、CDRL2、およびCDRL3配列について（それぞれ）得られたアライメント結果の要約を示す。ここで「*」は当該位置の残基がアライメントをとった全て配列において同一であることを意味し、「:」は、保存された置換が観察されたことを意味し、「.」は半保存的な置換が観察されたことを意味する。コンセンサスCDRは、Clustal Wプログラムを用いて生成した (L a r k i n M. A. , ら, (2007) Clustal W

10

20

30

40

50

and ClustalX version 2. Bioinformatics 2007 23 (21): 2947-2948)。

【図10B】Clustal W2プログラムを用いて、選択されたCDRL1、CDRL2、およびCDRL3配列について（それぞれ）得られたアライメント結果の要約を示す。ここで「*」は当該位置の残基がアライメントをとった全て配列において同一であることを意味し、「:」は、保存された置換が観察されたことを意味し、「.」は半保存的な置換が観察されたことを意味する。コンセンサスCDRは、Clustal Wプログラムを用いて生成した（Larkin M. A., ら, (2007) ClustalW and ClustalX version 2. Bioinformatics 2007 23 (21): 2947-2948)。

10

【図10C】Clustal W2プログラムを用いて、選択されたCDRL1、CDRL2、およびCDRL3配列について（それぞれ）得られたアライメント結果の要約を示す。ここで「*」は当該位置の残基がアライメントをとった全て配列において同一であることを意味し、「:」は、保存された置換が観察されたことを意味し、「.」は半保存的な置換が観察されたことを意味する。コンセンサスCDRは、Clustal Wプログラムを用いて生成した（Larkin M. A., ら, (2007) ClustalW and ClustalX version 2. Bioinformatics 2007 23 (21): 2947-2948)。

【図11A】Clustal W2プログラムを用いて、選択されたCDRH1、CDRH2、およびCDRH3配列について（それぞれ）得られたアライメント結果の要約を示す。ここで「*」は当該位置の残基がアライメントをとった全て配列において同一であることを意味し、「:」は、保存された置換が観察されたことを意味し、「.」は半保存的な置換が観察されたことを意味する。コンセンサスCDRは、Clustal Wプログラムを用いて生成した（Larkin M. A., ら, (2007) ClustalW and ClustalX version 2. Bioinformatics 2007 23 (21): 2947-2948)。

20

【図11B】Clustal W2プログラムを用いて、選択されたCDRH1、CDRH2、およびCDRH3配列について（それぞれ）得られたアライメント結果の要約を示す。ここで「*」は当該位置の残基がアライメントをとった全て配列において同一であることを意味し、「:」は、保存された置換が観察されたことを意味し、「.」は半保存的な置換が観察されたことを意味する。コンセンサスCDRは、Clustal Wプログラムを用いて生成した（Larkin M. A., ら, (2007) ClustalW and ClustalX version 2. Bioinformatics 2007 23 (21): 2947-2948)。

30

【図11C】Clustal W2プログラムを用いて、選択されたCDRH1、CDRH2、およびCDRH3配列について（それぞれ）得られたアライメント結果の要約を示す。ここで「*」は当該位置の残基がアライメントをとった全て配列において同一であることを意味し、「:」は、保存された置換が観察されたことを意味し、「.」は半保存的な置換が観察されたことを意味する。コンセンサスCDRは、Clustal Wプログラムを用いて生成した（Larkin M. A., ら, (2007) ClustalW and ClustalX version 2. Bioinformatics 2007 23 (21): 2947-2948)。

40

【図12】Siglec-15に特異的な25E9候補抗体の、破骨細胞の骨再吸収活性を阻害する能力を示す。

【図13A-C】Siglec-15のcDNAを過剰発現する細胞から調製されたライセート（図13A）、ヒト破骨細胞から調製されたライセート（図13B）、マウス破骨細胞から調製されたライセート（図13C）、およびU87神経膠芽腫細胞から調製されたライセートの免疫ブロッキングによって、およびインタクトなU87細胞のフローサイトメトリーによって、Siglec-15抗体がタンパク質を検出できることを示す。

【図13D-E】Siglec-15のcDNAを過剰発現する細胞から調製されたライ

50

セート（図13A）、ヒト破骨細胞から調製されたライセート（図13B）、マウス破骨細胞から調製されたライセート（図13C）、およびU87神経膠芽腫細胞から調製されたライセートの免疫ブロッティングによって、およびインタクトなU87細胞のフローサイトメトリーによって、S i g l e c - 1 5抗体がタンパク質を検出できることを示す。

【図14】S i g l e c - 1 5に対して産生された抗体が、他の近縁なS i g l e c（S i g l e c - 2およびC D 3 3を含む）に結合しないことを示す。

【図15】抗S i g l e c - 1 5抗体が、S i g l e c - 1 5とシアル酸との間の相互作用を阻害できることを示す。

【発明を実施するための形態】

【0055】

10

〔破骨細胞および正常な組織におけるS i g l e c - 1 5の発現プロファイル〕

本発明は、破骨細胞の活性の上昇に起因する重度の骨量減少が観察される各種骨関連疾患に見られる破骨細胞を標的とするモノクローナル抗体の使用に関する。破骨細胞に対して抗体を誘発するためには、前記細胞の表面で発現される破骨細胞特異的抗原の特定を行わなければならない。破骨細胞特異的抗原を特定するのに利用可能ないくつかの技術が存在し、RANKLで処置された分化している破骨細胞においてS i g l e c - 1 5を特定するのに使用された方法である、mRNAのサブトラクティブ転写ベースの増幅（STAR）と呼ばれる革新的なプラットフォームについては国際特許出願PCT/CA2007/000210の明細書に記載されている。

【0056】

20

ヒト破骨細胞のSTARライブラリーの解析では、分泌された細胞表面タンパク質をコードする多くの遺伝子が得られた。AB-0326と呼ばれるこれらの遺伝子の1つは、配列番号1に示す塩基配列の987塩基対のcDNAによってコードされる配列番号2に対応する328アミノ酸のポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームを含んでいた。公開データベースの検索により、AB-0326ヌクレオチド配列は、CD33抗原様3（CD33L3）と呼ばれるヒトの遺伝子の配列と同一であることが判明した。CD33L3は、後にシアル酸結合タンパク質、S i g l e cファミリーのメンバーであることが判明し、他のS i g l e cとの相同性に基づいて、S i g l e c - 1 5と改名された（Crockerら、2007）。この情報に基づいて、マウスのオルソログを単離して配列決定し、アミノ酸レベルの塩基配列でヒト配列と約85%の配列同一性を有することを発見した。配列番号3および配列番号4はそれぞれ、マウスS i g l e c - 1 5のcDNAとポリペプチドの配列とを示す。バイオインフォマティクス解析により、細胞外区画にその機能ドメインを提示する1型膜タンパク質の種類を予測した。他のS i g l e c配列では、アミノ末端のシグナルペプチド（配列番号2の1番目のアミノ酸から19番目のアミノ酸の間に位置する）が、当該タンパク質に細胞の膜を標的とさせ、最終的なプロセッシングされたタンパク質が、カルボキシ末端に位置する（配列番号2の26番目のアミノ酸と283番目のアミノ酸の間に位置する）単一の膜貫通らせんを介して膜に固定される。Vセット免疫グロブリンドメインは、配列番号2の49番目のアミノ酸と165番目のアミノ酸の間に位置し、C2セット免疫グロブリンドメインは、配列番号2の178番目のアミノ酸と24番目のアミノ酸の間に位置している。

30

40

【0057】

本発明は、破骨細胞が分化している間のS i g l e c - 1 5の機能に関連している。以前の調査結果（Sookenanら、2007）により、ヒトS i g l e c - 1 5をコードする転写物がRANKLに応答して大幅にアップレギュレートされることが確認された。この決定は、異なるヒトPBMNCドナーに由来するいくつかの異なるヒト破骨細胞の分化実験のスポットされた全RNAのサンプルが含まれているRNAのマクロアレイで行われた。さらにこれらの研究（Sookenanら、2007）により、S i g l e c - 1 5転写物が30のヒト正常組織の巨大なパネルの中ただ1つの正常組織で発現されたが、これからS i g l e c - 1 5遺伝子発現が非常に高い破骨細胞特異性を示すことが判明した。半定量的RT-PCRなどのより高感度の方法を使用し、多数の破骨細胞サン

50

プル中における S i g l e c - 1 5 の m R N A の発現を R A N K L 処置後 1 日以内に刺激し、この遺伝子が細胞融合の開始前に破骨細胞前駆細胞において早期に発現されることを示した。最後に S i g l e c - 1 5 の組織発現プロファイルを半定量的 R T - P C R により評価し、ただ 1 つのヒト正常組織で発現されることを見出し、これにより S o o k n a n a n らのマクロアレイの結果を検証した。まとめると、これらの発現の結果が、本出願人の発見した方法が、(S i g l e c - 1 5 によって例示されているような) 分化している破骨細胞に非常に限定されている標的を特定する能力が高いことを強調している。

【0058】

破骨細胞の分化の初期段階での S i g l e c - 1 5 の発現、その正常組織に限定された発現、および破骨細胞の活性における S i g l e c - 1 5 の重要な生物学的役割に基づいて、S i g l e c - 1 5 を、癌誘発性骨量減少や骨粗鬆症など骨関連疾患の発見、予防、および治療のためのモノクローナル抗体開発のための治療用標的として選択した。

【0059】

したがって、S i g l e c - 1 5 をターゲティングするための、種々の抗 S i g l e c - 1 5 抗体およびその免疫学的機能性断片(キメラおよびヒト化モノクローナル抗体、抗体断片、一本鎖抗体、ドメイン抗体、抗原結合領域を有するポリペプチドなど)が提供される。

【0060】

[抗原としての配列番号 2 および配列番号 2 由来のエピトープ]

国際特許出願第 P C T / C A 2 0 0 7 / 0 0 0 2 1 0 において、出願人は、配列番号 2 が破骨細胞の分化に関与しているという予想外の発見に到達した。したがって、この抗原は、i n v i t r o または i n v i v o で抗原を発現する細胞をターゲティングするために、もしくは i n v i t r o または i n v i v o で抗原を測定するための検出アッセイの開発のために有用であり得る。

【0061】

したがって、本発明は、特異的な抗体の生成のために有用で、および/または配列番号 2 を発現する細胞に特異的な抗原を提供する。抗原またはエピトープは、配列番号 2 または配列番号 2 の変異体の、少なくとも 10 個のアミノ酸(かつ最長でその全長まで)の断片を含み得る。

【0062】

典型的な抗原は、配列番号 2 タンパク質の全体、または配列番号 2 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列番号 2 の変異体、または配列番号 2 または配列番号 2 の変異体の少なくとも 10 個のアミノ酸を含む断片である。

【0063】

本明細書に記載する抗原またはエピトープは、抗体および抗原結合断片を生成するために、キーホールリンペット(KH L)、ウシ血清アルブミン(B S A)、卵白アルブミン(O V A)その他の担体と融合させることができる。

【0064】

本発明はまた、本明細書中に記載する抗体および抗原結合断片を生成するために、配列番号 2 の 20 番目のアミノ酸から 259 番目のアミノ酸までの領域内で構成されるエピトープを提供する。エピトープは、配列番号 2 の 20 番目のアミノ酸から 259 番目のアミノ酸までの領域または配列番号 2 の変異体の対応する部分の領域内に含まれる少なくとも 10 個のアミノ酸の断片を含み得る。

【0065】

本発明はさらに、配列番号 2 または配列番号 2 の変異体に対する抗体を生成するための組成物を提供する。当該組成物は、配列番号 2 の 20 番目のアミノ酸から 259 番目のアミノ酸までの領域または配列番号 2 の変異体の対応する部分の領域内に含まれる配列番号 2 のエピトープと、担体とを含み得る。

【0066】

前記組成物の典型的な態様としては、配列番号 2 または配列番号 2 の変異体に対する抗

10

20

30

40

50

体を生成するための医薬組成物が挙げられる。その医薬組成物は、配列番号2の20番目のアミノ酸から259番目のアミノ酸までの領域または配列番号2の変異体の対応する部分の領域内に含まれる配列番号2のエピトープと、薬学的に許容される担体とを含み得る。

【0067】

本発明はさらに別の側面において、配列番号2または配列番号2の変異体に対する抗体を生成する方法を提供する。その方法は、配列番号2の20番目のアミノ酸から259番目のアミノ酸までの領域または配列番号2の変異体の対応する部分の領域内に含まれる配列番号2のエピトープを含むポリペプチドを投与する工程を含み得る。

【0068】

本発明は別側面において、配列番号2または配列番号2の変異体に対する抗体を生成するための、配列番号2の20番目のアミノ酸から259番目のアミノ酸までの領域または配列番号2の変異体の対応する部分の領域内に含まれる配列番号2のエピトープの使用を提供する。

【0069】

配列番号2と80%の配列同一性を有する配列番号2の変異体の典型的な実施形態としては、例えば、以下に限定しないが、配列番号4、ならびにGeneBankアクセシオン番号またはNCBI参照配列：AA Y40743.1、XP_512109.2、XP_001089000.1、XP_601064.4、NP_001094508.1、XP_855238.1、XP_574176.2、およびEAX01462.1としてデータベースに登録されているその他の類似体が挙げられる。

【0070】

[配列番号2または配列番号2の変異体に結合する抗体および抗原結合断片]

抗体は、最初に目的の抗原に対するその特異性に基づいてFabライブラリーから単離した。最大の特徴を示す抗体の軽鎖可変ドメインまたは重鎖可変ドメインのアミノ酸配列どうしの比較により、本発明者は、CDR内および可変領域内でのコンセンサス配列を導出することができた。CDRのコンセンサス配列は、配列番号148-158および197-210に提示されている。可変領域のコンセンサス配列は、配列番号191-196に記載されている。

【0071】

本明細書に記載の可変領域を所望の種の定常領域と融合することにより、所望の種のエフェクター細胞が抗体を認識できるようにさせることができる。定常領域は、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4サブタイプに由来するものであり得る。可変領域のフレームワーク領域に定常領域をクローニングすなわち合成することは、当業者の知識の範囲内であって、例えば組換えDNA技術によって実行することができる。

【0072】

本発明の特定の実施形態では、配列番号2に結合する抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4サブタイプのものであり得る。本発明のより具体的な態様は、IgG1サブタイプの抗体に関連する。当該抗体は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)、補体媒介性細胞傷害(CMC)、または免疫複合体と関連するものの媒介について生物学的に活性であるIgG1サブタイプのヒト化抗体であり得る。典型的なADCCは、ナチュラルキラー(NK)細胞が活性化し、NK細胞の表面上のFc受容体が抗体被覆された細胞を認識することにより生じる。Fc受容体は、標的細胞(特に配列番号2などの抗原を発現する骨細胞)の表面に結合するIgG1上に存在するもののような、抗体のFcドメインを認識する。一旦IgGのFc受容体に結合すると、NK細胞はサイトカインおよび細胞毒性のある顆粒を放出し、これらは標的細胞に入りアポトーシスを誘発することによって細胞死を促進する。

【0073】

本発明は、配列番号2に結合する抗体の集団について記載した。特定の態様において、抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体(例えば、キメラ抗体またはヒト化抗

10

20

30

40

50

体など)、抗体断片(例えば、抗原結合断片など)、一本鎖抗体、ドメイン抗体、および抗原結合領域を有するポリペプチドからなる群から選択され得る。

【0074】

したがって本発明はその別の側面において、単離された抗体または抗原結合断片であって、軽鎖可変ドメインとして

a) 配列番号69, 配列番号75, 配列番号81, 配列番号87, 配列番号93, 配列番号99, 配列番号105, 配列番号111, 配列番号173、配列番号179および配列番号185からなる群から選択されるCDRL1配列、

b) 配列番号70, 配列番号76, 配列番号82, 配列番号88, 配列番号94, 配列番号100, 配列番号106, 配列番号112, 配列番号174、配列番号180および配列番号186からなる群から選択されるCDRL2配列、および/または

c) 配列番号71, 配列番号77, 配列番号83, 配列番号89, 配列番号95, 配列番号101, 配列番号107, 配列番号113, 配列番号175、配列番号181および配列番号187からなる群から選択されるCDRL3配列、

を有するものを含む、単離された抗体または抗原結合断片を提供する。

【0075】

前記単離された抗体または抗原結合断片は、重鎖可変ドメインとしては、

a) 配列番号72, 配列番号78, 配列番号84, 配列番号90, 配列番号96, 配列番号102, 配列番号108, 配列番号114, 配列番号176、配列番号182および配列番号188からなる群から選択されるCDRH1配列、

b) 配列番号73, 配列番号79, 配列番号85, 配列番号91, 配列番号97, 配列番号103, 配列番号109, 配列番号115, 配列番号177、配列番号183および配列番号189からなる群から選択されるCDRH2配列、および/または

c) 配列番号74, 配列番号80, 配列番号86, 配列番号92, 配列番号98, 配列番号104, 配列番号110, 配列番号116, 配列番号178、配列番号184および配列番号190からなる群から選択されるCDRH3配列、
を有し得る。

【0076】

本発明はさらに別の側面において、単離された抗体または抗原結合断片であって、軽鎖可変ドメインとして

a) 配列番号148、配列番号69、配列番号75および配列番号105からなる群から選択されるCDRL1配列と少なくとも80%の配列同一性を有し得るCDRL1、

b) 配列番号149、配列番号:150、配列番号:76、配列番号82および配列番号106からなる群から選択されるCDRL2配列と少なくとも80%の配列同一性を有し得るCDRL2、または

c) 配列番号151、配列番号152、配列番号77、配列番号83、配列番号95、配列番号107および配列番号152からなる群から選択されるCDRL3配列と少なくとも80%の配列同一性を有し得るCDRL3、

を有するものを含む、単離された抗体または抗原結合断片を提供する。

【0077】

本発明はさらに別の側面において、単離された抗体または抗原結合断片であって、重鎖可変ドメインとして

a) 配列番号153、配列番号154、配列番号84、配列番号96および配列番号102からなる群から選択されるCDRH1配列と少なくとも80%の配列同一性を有し得るCDRH1、

b) 配列番号155、配列番号156、配列番号157、配列番号73、配列番号79、配列番号85、配列番号97、配列番号103、配列番号109からなる群から選択されるCDRH2配列と少なくとも80%の配列同一性を有し得るCDRH2、または

c) 配列番号158、配列番号74、配列番号98、配列番号104、配列番号110および配列番号116からなる群から選択されるCDRH3配列と少なくとも80%の配

10

20

30

40

50

列同一性を有し得る C D R H 3、
を有するものを含む、単離された抗体または抗原結合断片を提供する。

【0078】

典型的な実施形態では、前記抗体またはその抗原結合断片は、いずれかの軽鎖可変領域の C D R、または C D R 1、C D R 2 および／または C D R 3 の組み合わせを含み得る。C D R 3 は、より具体的に選択され得る。前記組み合わせには、例えば C D R L 1 と C D R L 3；C D R L 1 と C D R L 2；C D R L 2 と C D R L 3；ならびに C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 の各組み合わせが含まれ得る。

【0079】

別の典型的な実施形態では、前記抗体またはその抗原結合断片は、いずれかの重鎖可変領域の C D R、または C D R 1、C D R 2 および／または C D R 3 の組み合わせを含み得る。C D R 3 は、より具体的に選択され得る。前記組み合わせには、例えば C D R H 1 と C D R H 3；C D R H 1 と C D R H 2；C D R H 2 と C D R H 3；ならびに C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 の各組み合わせが含まれ得る。

【0080】

本発明によれば、前記抗体またはその抗原結合断片は、C D R L 1、C D R L 2、または C D R L 3 のなかの少なくとも 2 種類の C D R を含み得る。

【0081】

また本発明によれば、前記抗体またはその抗原結合断片は、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を 1 つずつ含み得る。

【0082】

さらに本発明によれば、前記抗体またはその抗原結合断片は、

a) C D R L 1、C D R L 2、または C D R L 3 のなかの少なくとも 2 種類の C D R および；

b) C D R H 1、C D R H 2、または C D R H 3 のなかの少なくとも 2 種類の C D R を含み得る。

【0083】

前記抗体またはその抗原結合断片は、より好ましくは C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 をそれぞれ 1 つずつ含み得る。

【0084】

前記抗体またはその抗原結合断片はまた、より好ましくは C D R H 1、C D R H 2、および C D R H 3 をそれぞれ 1 つずつ含み得る。

【0085】

本発明はさらに別の側面において、単離された抗体または抗原結合断片であって、重鎖可変ドメインとして

a) 配列番号72、配列番号78、配列番号84、配列番号90、配列番号96、配列番号102、配列番号108、配列番号114、配列番号176、配列番号182 および配列番号188 からなる群から選択される C D R H 1 配列、

b) 配列番号73、配列番号79、配列番号85、配列番号91、配列番号97、配列番号103、配列番号109、配列番号115、配列番号177、配列番号183 および配列番号189 からなる群から選択される C D R H 2 配列、および／または

c) 配列番号74、配列番号80、配列番号86、配列番号92、配列番号98、配列番号104、配列番号110、配列番号116、配列番号178、配列番号184 および配列番号190 からなる群から選択される C D R H 3 配列、
を有するものを含む、単離された抗体または抗原結合断片を提供する。

【0086】

本発明によれば、前記抗体またはその抗原結合断片は、C D R H 1、C D R H 2、または C D R H 3 を 1 つ含み得る。

【0087】

本発明によれば、前記抗体またはその抗原結合断片はまた、C D R H 1、C D R H 2、

10

20

30

40

50

およびCDRH3を1つずつ含み得る。

【0088】

軽鎖可変ドメインまたは重鎖可変ドメインの一方のみが利用可能な場合は、抗体またはその抗原結合断片は、当技術分野で公知の方法を用いて相補的な可変ドメインのライブラリーをスクリーニングすることによって再構築することができる (Portolanoら The Journal of Immunology (1993) 150: 880-887, Clarksonら, Nature (1991) 352: 624-628)。

【0089】

本明細書中に記載するCDRの少なくとも1つにおいて、少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチドすなわち抗体も、本発明に包含される。

10

【0090】

CDRの少なくとも2つにおいて少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチドすなわち抗体も本発明に包含される。

【0091】

CDRの3つにおいて少なくとも1つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチドすなわち抗体も本発明に包含される。

【0092】

CDRの少なくとも1つにおいて少なくとも2つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチドすなわち抗体も本発明に包含される。

【0093】

CDRの少なくとも2つにおいて少なくとも2つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチドすなわち抗体も本発明に包含される。

20

【0094】

CDRの3つにおいて少なくとも2つの保存的アミノ酸置換を有する可変鎖を含むポリペプチドすなわち抗体も本発明に包含される。

【0095】

本発明は別の側面において、抗体またはその抗原結合断片であって、本明細書中に記載する抗体またはその抗原結合断片のいずれかの、軽鎖可変ドメインの相補性決定領域を少なくとも1つおよび重鎖可変ドメインの相補性決定領域の少なくとも1つを、(一本鎖ポリペプチド上にまたは分離した複数のポリペプチド鎖上に) 含む、抗体またはその抗原結合断片を提供する。

30

【0096】

本発明はさらに別の側面において、本明細書中に記載する抗体またはその抗原結合断片のいずれかの、6つの全ての相補性決定領域(CDR)を、(一本鎖ポリペプチド上にまたは分離した複数のポリペプチド鎖上に) 含む、抗体またはその抗原結合断片に関連する。

【0097】

本発明の抗体または抗原結合断片はさらに、1つまたは複数のCDRのアミノ末端領域および／またはカルボキシ末端領域に隣接する追加のアミノ酸を含んでもいてもよい。これらの追加のアミノ酸は、本明細書中に記載する対応する抗体のフレームワーク領域と同一であるか、または、例えば保存的アミノ酸置換を含み得る。

40

【0098】

本発明のある実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式RSX_{1a}X_{2a}SLHSGX_{3a}TYLY(配列番号148)で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL1配列を含み得、ここで

X_{1a}は、例えば、中性親水性アミノ酸であり得；

X_{2a}は、例えば、リジン、グルタミン酸であり得；

X_{3a}は、例えば、疎水性アミノ酸またはアスパラギンであり得る。

【0099】

より具体的な実施形態では、X_{1a}は、例えばセリンであり得る。

50

【0100】

より具体的な実施形態では、 X_{2a} は、例えばリジンであり得る。

【0101】

より具体的には、 X_{3a} は、例えばイソロイシンまたはバリンであり得る。

【0102】

より具体的な実施形態では、 X_{3a} は、イソロイシンであり得る。

【0103】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $RASX_{a10}NIX_{b10}X_{c10}YLA$ (配列番号197) で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL1配列を含み得、ここで

X_{a10} は、例えば、GまたはEであり得；

X_{b10} は、例えば、YまたはHであり得；

X_{c10} は、例えば、SまたはNであり得る。

【0104】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $RSSX_{1x}SLHSGX_{2x}TYLY$ (配列番号201) で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL1配列を含み得、ここで X_{1x} および X_{2x} は、本明細書に定義するものである。

【0105】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $RSSX_{a6}KSLHSGNTYLY$ (配列番号202) で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL1配列を含み得、ここで X_{a6} は、本明細書に定義するものである。

【0106】

前記抗体または抗原結合断片はまた、表3または表5Bに記載の配列番号75、配列番号69、配列番号105および他のCDRL1を含むもの、またはその配列からなるものから選択されたCDRL1配列を含み得る。

【0107】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $X_{1b}MSNLSAS$ (配列番号149) で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL2配列を含み得、ここで X_{1b} は、例えば、塩基性アミノ酸であり得る。

【0108】

より具体的には、 X_{1b} は、例えばグルタミンまたはアスパラギンであり得る。

【0109】

より具体的な実施形態では、 X_{1b} は、例えばグルタミンであり得る。

【0110】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $RX_{1c}SNLX_{2c}S$ (配列番号150) で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL2配列を含み得、ここで X_{1c} は、例えば、メチオニンまたはスレオニンであり得、 X_{2c} は、例えば、疎水性アミノ酸であり得る。

【0111】

より具体的には、 X_{2c} は、例えばアラニンまたはバリンであり得る。

【0112】

より具体的な実施形態では、 X_{1c} は、例えばメチオニンであり得る。

【0113】

より具体的な実施形態では、 X_{1c} は、例えばアラニンであり得る。

【0114】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $NAKTLX_{a1}X_{b11}$ (配列番号198) で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL2配列を含み得、ここで

10

20

30

40

50

X_{a11} は任意のアミノ酸、または例えば、PまたはAであり得；

X_{b11} は任意のアミノ酸、または例えば、EまたはDなどの酸性アミノ酸であり得る。

【0115】

前記抗体または抗原結合断片はまた、例えば、表3または表5Bに記載の配列番号76、配列番号82、配列番号106および他のCDRL2を含むもの、またはその配列からなるものから選択されたCDRL1配列を含み得る。

【0116】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $X_{1d}QX_{2d}LEX_{3d}PX_{4d}T$ （配列番号151）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL3配列を含み得、ここで

X_{1d} は、例えば、疎水性アミノ酸であり得；

X_{2d} は、例えば、塩基性アミノ酸であり得；

X_{3d} は、例えば、チロシンまたはロイシンであり得；

X_{4d} は、例えば、芳香族アミノ酸であり得る。

【0117】

より具体的には、 X_{1d} は、例えばメチオニンまたはアラニンであり得る。より具体的な実施形態では、 X_{1d} は、例えばメチオニンであり得る。

【0118】

より具体的には、 X_{2d} は、例えばヒスチジンまたはアスパラギンであり得る。より具体的な実施形態では、 X_{2d} は、例えばヒスチジンであり得る。

【0119】

より具体的な実施形態では、 X_{3d} は、例えばチロシンであり得る。

【0120】

より具体的には、 X_{4d} は、例えばチロシンまたはフェニルアラニンであり得る。より具体的な実施形態では、 X_{4d} は、例えばチロシンであり得る。

【0121】

付加的な実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $QQWSSNPX_{1e}T$ （配列番号152）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL3配列を含み得、ここで X_{1e} は、例えば、プロリンまたはロイシンであり得る。

【0122】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $QHYGX_{a12}PLT$ （配列番号199）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL3配列を含み得、ここで X_{a12} は任意のアミノ酸、または例えば、AまたはVなどの疎水性アミノ酸であり得る。

【0123】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $X_{a8}QX_{b8}LEX_{c8}PYT$ （配列番号203）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL3配列を含み得、ここで X_{a8} 、 X_{b8} 、 X_{c8} は、本明細書に定義するものである。

【0124】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $QHHYGX_{a4}PLT$ （配列番号204）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRL3配列を含み得、ここで X_{a4} は、本明細書に定義するものである。

【0125】

前記抗体または抗原結合断片はまた、表3または表5Bに記載の配列番号77、配列番号83、配列番号95、配列番号107、配列番号152および他のCDRL3を含むもの、またはその配列からなるものから選択されたCDRL3配列を含み得る。

【0126】

10

20

30

40

50

付加的な実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式GYTFX_{1 f}X_{2 f}YX_{3 f}MX_{4 f}（配列番号153）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRH1配列を含み得、ここで

X_{1 f}は、例えば、スレオニンまたはアスパラギンであり得；

X_{2 f}は、例えば、スレオニン、アルギニン、セリンまたはアスパラギン酸であり得；

X_{3 f}は、例えば、トリプトファンまたはアスパラギン、アスパラギン酸またはグルタミン酸であり得；

X_{4 f}は、例えば、チロシン、ヒスチジン、またはアスパラギン酸であり得る。

【0127】

より具体的な実施形態では、X_{1 f}は、例えば、スレオニンであり得る。

10

【0128】

より具体的な実施形態では、X_{2 f}は、例えば、セリンであり得る。

【0129】

より具体的な実施形態では、X_{3 f}は、例えば、トリプトファンであり得る。

【0130】

より具体的な実施形態では、X_{4 f}は、例えば、ヒスチジンであり得る。

【0131】

付加的な実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式GYTFTDYX_{5 f}MH（配列番号154）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRH1配列を含み得、ここでX_{5 f}は、例えば、酸性アミノ酸であり得る。

20

【0132】

より具体的には、X_{5 f}は、例えば、グルタミン酸またはアスパラギン酸であり得る。

より具体的な実施形態では、X_{5 f}は、例えば、アスパラギン酸であり得る。

【0133】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式GYTFTX_{1 1}YWMH（配列番号205）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRH1配列を含み得、ここでX_{1 1}は、本明細書に定義するものである。

【0134】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式GYTFTDYX_{1 s}MH（配列番号208）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRH1配列を含み得、ここでX_{1 s}は、本明細書に定義するものである。

30

【0135】

前記抗体または抗原結合断片は例えば、表3または表5Aに記載の配列番号84、配列番号96、配列番号102および他のCDRH1を含むもの、またはその配列からなるものから選択されたCDRH1配列を含み得る。

【0136】

別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式LINPX_{1 g}NX_{2 g}RX_{3 g}N（配列番号155）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得るCDRH2配列を含み得、ここで

X_{1 g}は、例えば、中性親水性アミノ酸であり得；

X_{2 g}は、例えば、アラニンまたはグリシンであり得；

X_{3 g}は、例えば、プロリンまたはスレオニンであり得る。

40

【0137】

より具体的な実施形態では、X_{1 g}は、例えば、セリンまたはスレオニンであり得る。

より具体的な実施形態では、X_{1 g}は、例えば、スレオニンであり得る。

【0138】

より具体的な実施形態では、X_{2 g}は、例えば、グリシンであり得る。

【0139】

より具体的な実施形態では、X_{3 g}は、例えば、スレオニンであり得る。

【0140】

50

さらに別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $X_{1h} \text{ I D P E T G G T A}$ （配列番号156）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得る C D R H 2 配列を含み得、ここで X_{1h} は、例えば、アラニンまたはスレオニンであり得る。

【0141】

より具体的な実施形態によれば、 X_{1h} は、例えば、スレオニンであり得る。

【0142】

さらに別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $E \text{ I } X_{1i} \text{ P } X_{2i} \text{ X}_{3i} \text{ S } X_{4i} \text{ X}_{5i} \text{ N}$ （配列番号157）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得る C D R H 2 配列を含み得、ここで

X_{1i} は、例えば、アスパラギン酸またはアスパラギンであり得；

X_{2i} は、例えば、アスパラギン酸またはセリンであり得；

X_{3i} は、例えば、アスパラギン酸またはセリンであり得；

X_{4i} は、例えば、チロシンまたはスレオニンであり得；

X_{5i} は、例えば、スレオニンまたはイソロイシンであり得る。

【0143】

さらに別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $A \text{ X}_{a13} \text{ Y P G N G D S R}$ （配列番号200）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得る C D R H 2 配列を含み得、ここで X_{a13} は、I または V などの疎水性アミノ酸であり得る。

【0144】

本発明の付加的な実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $X_{1t} \text{ I D P E T G G T A}$ （配列番号206）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得る C D R H 2 配列を含み得、ここで X_{1t} は、本明細書に定義するものである。

【0145】

本発明の他の付加的な実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $L \text{ I N P } X_{1m} \text{ N } X_{2m} \text{ R } X_{3m} \text{ N}$ （配列番号207）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得る C D R H 2 配列を含み得、ここで X_{1m} 、 X_{2m} 、および X_{3m} は、本明細書に定義するものである。

【0146】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $X_{1t} \text{ I D P E T G G T A}$ （配列番号209）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得る C D R H 2 配列を含み得、ここで X_{1t} は、本明細書に定義するものである。

【0147】

前記抗体または抗原結合断片はまた、表3または表5Aに記載の配列番号73、配列番号79、配列番号85、配列番号97、配列番号103、配列番号109および他の C D R H 2 を含むもの、またはその配列からなるものから選択された C D R H 2 配列を含み得る。

【0148】

付加的な実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $T \text{ X}_{1j} \text{ F Y Y } X_{2j} \text{ X}_{3j} \text{ X}_{4j} \text{ N Y D V G F A Y}$ （配列番号158）で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得る C D R H 3 配列を含み得、ここで

X_{1j} は、例えば、中性親水性アミノ酸であり得；

X_{2j} は、例えば、中性親水性アミノ酸であり得；

X_{3j} は、例えば、チロシンまたはヒスチジンであり得；

X_{4j} は、例えば、チロシンまたはセリンであり得る。

【0149】

より具体的には、 X_{1j} は、例えば、セリンまたはスレオニンであり得る。より具体的な実施形態では、 X_{1j} は、例えば、セリンであり得る。

【0150】

より具体的には、 X_{2j} は、例えば、セリンまたはスレオニンであり得る。より具体的な実施形態では、 X_{2j} は、例えば、スレオニンであり得る。

【0151】

より具体的な実施形態では、 X_{3j} は、例えば、チロシンであり得る。より具体的な実施形態では、 X_{4j} は、例えば、セリンであり得る。

【0152】

本発明の別の実施形態によれば、前記抗体または抗原結合断片は、式 $TX_{1v}FYX_{2v}X_{3v}X_{4v}NYDVGFAY$ (配列番号 210) で表される配列を含むもの、またはその配列からなるものであり得る CDRH3 配列を含み得、ここで X_{1v} 、 X_{2v} 、 X_{3v} 、および X_{4v} は、本明細書に定義するものである。

10

【0153】

前記抗体または抗原結合断片は例えば、表 3 または表 5A に記載の配列番号 74、配列番号 98、配列番号 104、配列番号 110、配列番号 116 および他の CDRH3 を含むもの、またはその配列からなるものから選択された CDRH3 配列を含み得る。

【0154】

本明細書に記載の重鎖および／または軽鎖のフレームワーク領域は、本明細書に示されるフレームワーク領域の 1 または複数に由来するものであり得る。したがって、前記抗体またはその抗原結合断片は、本明細書に記載する CDR (例えば、特定の CDR または配列番号 148-158 および 197-210 のコンセンサス CDR から選択されたもの)、および本明細書に示される軽鎖または重鎖可変領域に由来するフレームワーク領域の 1 または複数を含み得る。

20

【0155】

本発明によれば、抗体または抗原結合断片は、重鎖可変領域 (またはその断片) として、式

$X_{1k}X_{2k}QX_{3k}QX_{4k}X_{5k}X_{6k}EX_{7k}VX_{8k}PGASVKLSCKASGYTFTX_{1l}YWMHWVKQRPGQGLEWIGLINPX_{1m}NX_{2m}RX_{3m}NYNEX_{1n}FX_{2n}X_{3n}KATLTVDKSSSTAYMX_{4n}LSSLTSEDSAVYYCARGGDGDYFDYWGQGTTTLTVSS$ (SEQ ID NO.:191)

30

を有するものを含み得、ここで

X_{1k} は、例えば Q または E であり得；

X_{2k} は、任意のアミノ酸、または V または I などの疎水性アミノ酸であり得；

X_{3k} は、任意のアミノ酸、または V または L などの疎水性アミノ酸であり得；

X_{4k} は、任意のアミノ酸、または例えば P または S であり得；

X_{5k} は、任意のアミノ酸、または例えば R または G であり得；

X_{6k} は、任意のアミノ酸、または例えば A または T であり得；

X_{7k} は、任意のアミノ酸、または L または I などの疎水性アミノ酸であり得；

X_{8k} は、任意のアミノ酸、または R または K などの塩基性アミノ酸であり得；

X_{1l} は、任意のアミノ酸、または例えば S または T などの中性親水性アミノ酸であり得；

40

X_{1m} は、任意のアミノ酸、または例えば T または S などの中性親水性アミノ酸であり得；

X_{2m} は、任意のアミノ酸、または例えば G または A であり得；

X_{3m} は、任意のアミノ酸、または例えば P または T であり得；

X_{1n} は、任意のアミノ酸、または例えば K または R などの塩基性アミノ酸であり得；

X_{2n} は、任意のアミノ酸、または例えば N または K などの塩基性アミノ酸であり得；

X_{3n} は、任意のアミノ酸、例えば N、または S または T などの中性親水性アミノ酸であり得；

X_{4n} は、任意のアミノ酸、または Q または H などの塩基性アミノ酸であり得る。

50

【0156】

本発明の別の実施形態によれば、本発明の抗体または抗原結合断片は、重鎖可変領域（またはその断片）として、式

$X_{1_0}VX_{2_0}LQQSGAELARPGASVKFSCASGYTFTRNWIQWVKQRPQGLEWIGAX_{a_{13}}YPGNGDSRYTQKFKGKATLTAD$
 $KSSX_{1_q}TAYMQLX_{2_q}X_{3_q}LX_{4_q}SEDSAVYYCARLAGNYAYYFDYWGGTALTIVSS$ (SEQ ID NO.:192)

を有するものを含み得、ここで

X_{1_0} は、例えば、QまたはDであり得；

X_{2_0} は、任意のアミノ酸、またはKまたはQなどの塩基性アミノ酸であり得；

10

$X_{a_{13}}$ は、任意のアミノ酸、または例えばIまたはVなどの疎水性アミノ酸であり得；

X_{1_q} は、任意のアミノ酸、または例えばSまたはNであり得；

X_{2_q} は、任意のアミノ酸、または例えばSまたはNであり得；

X_{3_q} は、任意のアミノ酸、または例えばGまたはSであり得；

X_{4_q} は、任意のアミノ酸、または例えばAまたはSであり得る。

【0157】

本発明のさらに別の実施形態によれば、本発明の抗体または抗原結合断片は、重鎖可変領域（またはその断片）として、式

20

$X_{1_r}X_{2_r}X_{3_r}LQQSGX_{4_r}ELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYX_{1_s}MHWVKQTPVHGLEWIGX_{1_t}IDPETGGTAYNQKFKGKA$
 $TLTADX_{1_u}SSX_{2_u}TAYMELSSLTSEDSAVYYCTX_{1_v}FYYX_{2_v}X_{3_v}X_{4_v}NYDVGFAYWGGTLVTVSA$ (SEQ ID NO.:193)

を有するものを含み得、ここで

X_{1_r} は、例えば、EまたはQであり得；

X_{2_r} は、任意のアミノ酸、またはAまたはIなどの疎水性アミノ酸であり得；

X_{3_r} は、任意のアミノ酸、または例えばYまたはQであり得；

X_{4_r} は、任意のアミノ酸、またはAまたはVなどの疎水性アミノ酸であり得；

X_{1_s} は、任意のアミノ酸、またはDまたはEなどの酸性アミノ酸であり得；

30

X_{1_t} は、任意のアミノ酸、または例えばAまたはTであり得；

X_{1_u} は、任意のアミノ酸、またはKまたはRなどの塩基性アミノ酸であり得；

X_{2_u} は、任意のアミノ酸、またはSまたはTなどの中性親水性アミノ酸であり得；

X_{1_v} は、任意のアミノ酸、またはSまたはTなどの中性親水性アミノ酸であり得；

X_{2_v} は、任意のアミノ酸、またはTまたはSなどの中性親水性アミノ酸であり得；

X_{3_v} は、任意のアミノ酸、または例えばYまたはHであり得；

X_{4_v} は、任意のアミノ酸、または例えばSまたはYであり得る。

【0158】

付加的な実施形態によれば、本発明の抗体または抗原結合断片は、軽鎖可変領域（またはその断片）として、式

40

$DIVMTX_{1_w}AX_{2_w}FSNPVX_{3_w}LGTX_{4_w}ASISCRSSX_{1_x}SLLHSNGX_{2_x}TYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFS$
 $X_{1_y}SGSGTX_{2_y}FTLRISRVEAEDVGYYCX_{a_8}QX_{b_8}LEX_{c_8}PYTFGX_{a_9}GTKLEIK$ (SEQ ID NO.:194)

を有するものを含み得、ここで

X_{1_w} は、任意のアミノ酸、またはQまたはHなどの塩基性アミノ酸であり得；

X_{2_w} は、任意のアミノ酸、またはVまたはAなどの疎水性アミノ酸であり得；

X_{3_w} は、任意のアミノ酸、または例えばTまたはIであり得；

X_{4_w} は、任意のアミノ酸、または例えばSまたはPであり得；

X_{1_x} は、任意のアミノ酸、または例えばEまたはKであり得；

50

X_{2x} は、任意のアミノ酸、またはVまたはIなどの疎水性アミノ酸であり得；
 X_{1y} は、任意のアミノ酸、または例えばSまたはGであり得；
 X_{2y} は、任意のアミノ酸、または例えばDまたはAであり得；
 X_{a8} は、任意のアミノ酸、またはMまたはAなどの疎水性アミノ酸であり得；
 X_{b8} は、任意のアミノ酸、またはNまたはHなどの塩基性アミノ酸であり得；
 X_{c8} は、任意のアミノ酸、または例えばYまたはLであり得；
 X_{a9} は、任意のアミノ酸、または例えばGまたはSであり得る。

【0159】

別の実施形態では、本発明の抗体または抗原結合断片は、軽鎖可変領域（またはその断片）として、式

10

$$X_{1z}IQMTQSPASLSASVGETVTITCRASX_{a10}NIX_{b10}X_{c10}YLAWYQQKQKSPQLLVYNAKTLX_{a11}X_{b11}GVX_{a3}X_{b3}RFSGSGSGTQX_{c3}SLKINX_{d3}LQPEDFGSYX_{e3}CQHYYGX_{a4}PLTFGX_{a5}GTKX_{b5}ELK \text{ (SEQ ID NO.:195)}$$

を有するものを含み得、ここで

X_{1z} は、任意のアミノ酸、または例えばDまたはNであり得；
 X_{a10} は、任意のアミノ酸、または例えばEまたはGであり得；
 X_{b10} は、任意のアミノ酸、または例えばYまたはHであり得；
 X_{c10} は、任意のアミノ酸、または例えばSまたはNであり得；
 X_{a11} は、任意のアミノ酸、または例えばPまたはAであり得；
 X_{b11} は、任意のアミノ酸、またはEまたはDなどの酸性アミノ酸であり得；
 X_{a3} は、任意のアミノ酸、または例えばPまたはSであり得；
 X_{b3} は、任意のアミノ酸、または例えばVまたはSであり得；
 X_{c3} は、任意のアミノ酸、またはFまたはYなどの芳香族アミノ酸であり得；
 X_{d3} は、任意のアミノ酸、または例えばNまたはSであり得；
 X_{e3} は、任意のアミノ酸、または例えばHまたはYであり得；
 X_{a4} は、任意のアミノ酸、またはAまたはVなどの疎水性アミノ酸であり得；
 X_{a5} は、任意のアミノ酸、または例えばSまたはAであり得；
 X_{b5} は、任意のアミノ酸、またはVまたはLなどの疎水性アミノ酸であり得る。

20

【0160】

30

さらに別の実施形態では、本発明の抗体または抗原結合断片は、軽鎖可変領域（またはその断片）として、式

$$DIVMTQAAPSPVPTPGESVSISCRSX_{a6}KSLHSNGNTYLYWFLQRPQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRX_{a7}SRVEADVGYYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK \text{ (SEQ ID NO.:196)}$$

を有するものを含み得、ここで

X_{6a} は、任意のアミノ酸、またはSまたはTなどの中性親水性アミノ酸であり得；
 X_{a7} は、任意のアミノ酸、またはIまたはLなどの疎水性アミノ酸であり得る。

【0161】

40

[S i g l e c - 1 5 に結合する抗体]

本発明の特定の実施形態では、S i g l e c - 1 5 に結合する抗体は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4サブタイプである。好ましい実施形態において、抗体は、I g G 2のサブタイプの抗体である。本実施形態において、抗体は、破骨細胞の表面上の通常のS i g l e c - 1 5の機能の生物学的活性をブロックすることについて生物学的に活性であるI g G 2のサブタイプのヒト化抗体である。このようなブロックは、例えば、S i g l e c - 1 5と、その基質、そのリガンド、S i g l e c - 1 5自体、または隣接する細胞上の他のタンパク質との会合を防止するものであり得る。

【0162】

本発明は、S i g l e c - 1 5 に結合する抗体の集団を開示している。特定の態様にお

50

いて、抗体は、モノクローナル抗体およびその免疫機能性断片（例えば、キメラおよびヒト化モノクローナル抗体）、抗体断片、一本鎖抗体、ドメイン抗体、抗原結合領域を有するポリペプチドからなる。

【0163】

典型的な抗原結合部位は、軽鎖免疫グロブリンと重鎖免疫グロブリンの組み合わせによって形成される可変領域から構成される。抗体可変領域の構造は非常に一貫しており、極めてよく似た構造を示す。これらの可変領域は、典型的には、3つの超可変領域（相補性決定領域（CDR）と呼ばれる）が間に配置された、比較的相同性の高いフレームワーク領域（FR）から構成される。抗原結合断片の全体的な結合活性は、多くの場合、CDRの配列によって決定されているが、FRは最適な抗原結合のためのCDRの三次元における適切な配置とアライメントにおいて重要な役割を果たす。

【0164】

表1は、抗Siglec-15抗体の具体例の完全な軽鎖および重鎖免疫グロブリンに対応するアミノ酸およびヌクレオチドの配列を開示する。

【0165】

【表1】

表1-Siglec-15に結合する軽鎖および重鎖免疫グロブリンの完全な配列

抗体 記号表示	鎖の種類	ヌクレオチド配列 (配列番号)	アミノ酸配列 (配列番号)
25A1	軽鎖(L)	5	6
25A1	重鎖(H)	7	8
25B4	軽鎖	9	10
25B4	重鎖	11	12
25B8	軽鎖	13	14
25B8	重鎖	15	16
25C1	軽鎖	17	18
25C1	重鎖	19	20
25D8	軽鎖	21	22
25D8	重鎖	23	24
25E5	軽鎖	25	26
25E5	重鎖	27	28
25E6	軽鎖	29	30
25E6	重鎖	31	32
25E9	軽鎖	33	34
25E9	重鎖	35	36

【0166】

Siglec-15に結合することができた抗体は、表1に記載されているいずれかのL鎖といずれかのH鎖の免疫グロブリンを含み得る。特定の実施形態では、抗体25A1の軽鎖は、25A1の重鎖または25B4の重鎖と組み合わせられて、Siglec-15結合活性を有する完全な抗体を形成し得る。本発明の例示的な実施形態では、25A1のL鎖は25A1のH鎖と組み合わせられ得、25B4のL鎖は25B4のH鎖と組み合わせられ得、25B8のL鎖はH鎖25B8と組み合わせられ得、25C1のL鎖は25C1のH鎖と組み合わせられ得、25D8のL鎖は25D8のH鎖と組み合わせられ得、25E5のL鎖は25E5のH鎖と組み合わせられ得、25E6のL鎖は、25E6のH鎖と組み合わせられ得、または25E9のL鎖は、25E9のH鎖と組み合わせられ得る。さらに、抗体またはその抗原結合断片のいくつかの例は、表1に記載されている抗体のリストにおける2つのL鎖といずれかの2つのH鎖の任意の組み合わせからなるものであり得る。

【0167】

抗体25A1の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の完全なヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号5および7に示され、抗体25A1の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の対応するアミノ酸配列は、配列番号6および8にそれぞれ示されている。したがって例示的な実施形態では、S i g l e c - 1 5に特異的に結合する抗体は、配列番号6に示される軽鎖アミノ酸と、配列番号8に示される重鎖アミノ酸配列との組み合わせを含み得る。別の実施形態では、抗体は、配列番号6またはその変異体を含む2個の同一または実質的に同一な25A1軽鎖と、配列番号8またはその変異体を含む2個の同一または実質的に同一な25A1重鎖を含むものであり得る。

【0168】

抗体25B4の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の完全なヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号9および11に示され、抗体25B4の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の対応するアミノ酸配列は、配列番号10および12にそれぞれ示されている。したがって例示的な実施形態では、S i g l e c - 1 5に特異的に結合する抗体は、配列番号10に示される軽鎖アミノ酸と、配列番号12に示される重鎖アミノ酸配列との組み合わせを含み得る。別の実施形態では、抗体は、配列番号10またはその変異体を含む2個の同一または実質的に同一な25B4軽鎖と、配列番号12またはその変異体を含む2個の同一または実質的に同一な25B4重鎖を含むものであり得る。

【0169】

抗体25B8の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の完全なヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号13および15に示され、抗体25B8の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の対応するアミノ酸配列は、配列番号14および16にそれぞれ示されている。したがって例示的な実施形態では、S i g l e c - 1 5に特異的に結合する抗体は、配列番号14に示される軽鎖アミノ酸と、配列番号16に示される重鎖アミノ酸配列との組み合わせを含み得る。別の実施形態では、抗体は、配列番号14またはその変異体を含む2個の同一または実質的に同一な25B8軽鎖と、配列番号16またはその変異体を含む2個の同一または実質的に同一な25B8重鎖を含むものであり得る。

【0170】

抗体25C1の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の完全なヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号17および19に示され、抗体25C1の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の対応するアミノ酸配列は、配列番号18および20にそれぞれ示されている。したがって例示的な実施形態では、S i g l e c - 1 5に特異的に結合する抗体は、配列番号18に示される軽鎖アミノ酸と、配列番号20に示される重鎖アミノ酸配列との組み合わせを含み得る。別の実施形態では、抗体は、配列番号18またはその変異体を含む2個の同一または実質的に同一な25C1軽鎖と、配列番号20またはその変異体を含む2個の同一または実質的に同一な25C1重鎖を含むものであり得る。

【0171】

抗体25D8の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の完全なヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号21および23に示され、抗体25D8の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の対応するアミノ酸配列は、配列番号22および24にそれぞれ示されている。したがって例示的な実施形態では、S i g l e c - 1 5に特異的に結合する抗体は、配列番号22に示される軽鎖アミノ酸と、配列番号24に示される重鎖アミノ酸配列との組み合わせを含み得る。別の実施形態では、抗体は、配列番号22またはその変異体を含む2個の同一または実質的に同一な25D8軽鎖と、配列番号24またはその変異体を含む2個の同一または実質的に同一な25D8重鎖を含むものであり得る。

【0172】

抗体25E5の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の完全なヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号25および27に示され、抗体25E5の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の対応するアミノ酸配列は、配列番号26および28にそれぞれ示されている。したがって例示的な実施形態では、S i g l e c - 1 5に特異的に結合する抗体は、配列番号26に示さ

10

20

30

40

50

れる軽鎖アミノ酸と、配列番号 28 に示される重鎖アミノ酸配列との組み合わせを含み得る。別の実施形態では、抗体は、配列番号 26 またはその変異体を含む 2 個の同一または実質的に同一な 25E5 軽鎖と、配列番号 28 またはその変異体を含む 2 個の同一または実質的に同一な 25E5 重鎖を含むものであり得る。

【0173】

抗体 25E6 の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の完全なヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号 29 および 31 に示され、抗体 25E6 の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の対応するアミノ酸配列は、配列番号 30 および 32 にそれぞれ示されている。したがって例示的な実施形態では、S i g l e c - 15 に特異的に結合する抗体は、配列番号 30 に示される軽鎖アミノ酸と、配列番号 32 に示される重鎖アミノ酸配列との組み合わせを含み得る。別の実施形態では、抗体は、配列番号 30 またはその変異体を含む 2 個の同一または実質的に同一な 25E6 軽鎖と、配列番号 32 またはその変異体を含む 2 個の同一または実質的に同一な 25E6 重鎖を含むものであり得る。

【0174】

抗体 25E9 の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の完全なヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号 33 および 35 に示され、抗体 25E9 の免疫グロブリン軽鎖および重鎖の対応するアミノ酸配列は、配列番号 34 および 36 にそれぞれ示されている。したがって例示的な実施形態では、S i g l e c - 15 に特異的に結合する抗体は、配列番号 34 に示される軽鎖アミノ酸と、配列番号 36 に示される重鎖アミノ酸配列との組み合わせを含み得る。別の実施形態では、抗体は、配列番号 34 またはその変異体を含む 2 つの同一または実質的に同一な 25E9 軽鎖と、配列番号 36 またはその変異体を含む 2 つの同一または実質的に同一な 25E9 重鎖を含むものであり得る。

【0175】

表 1 に記載のアミノ酸配列と少なくとも 80%、85%、90%、95%、97%、または 99% の配列同一性をそれぞれ独立して有し得る、免疫グロブリン軽鎖および／または重鎖の組み合わせによって形成された他の抗 S i g l e c - 15 抗体またはその抗原結合断片の変異体も提供される。特定の実施形態において、抗体変異体は、少なくとも 1 本の軽鎖と 1 本の重鎖を含み得る。他の例では、抗体変異体は、2 本の同一または実質的に同一な軽鎖および 2 本の同一または実質的に同一な重鎖を含むことができる。本発明によれば、変異した領域は、定常領域または可変領域に位置し得る。また本発明では、変異した領域がフレームワーク領域に配置し得る。

【0176】

また、表 1 に記載する軽鎖配列の可変領域の 1 つまたはその変異体、および表 1 に記載する重鎖配列の可変領域の 1 つまたはその変異体を含む抗体も本発明に包含される。軽鎖と重鎖は定常領域を含み得る。表 1 の軽鎖と重鎖の組み合わせもまた、本発明に包含される。

【0177】

軽鎖および重鎖可変領域を含む抗体またはその抗原結合断片もまた、本発明において提供される。さらに特定の実施形態は、これらの軽鎖および重鎖可変領域の抗原結合断片、変異体、および誘導体を含む。

【0178】

さらに別の実施形態は、配列番号 2 またはその変異体の特異的に結合する能力を有する単離された抗体またはその抗原結合断片であって、前記抗体が、

- a) 配列番号 38 に定義される軽鎖可変ドメインおよび配列番号 40 に定義される重鎖可変ドメイン；
- b) 配列番号 42 に定義される軽鎖可変ドメインおよび配列番号 44 に定義される重鎖可変ドメイン；
- c) 配列番号 46 に定義される軽鎖可変ドメインおよび配列番号 48 に定義される重鎖可変ドメイン；
- d) 配列番号 50 に定義される軽鎖可変ドメインおよび配列番号 52 に定義される重鎖

可変ドメイン；

e) 配列番号 54 に定義される軽鎖可変ドメインおよび配列番号 56 に定義される重鎖可変ドメイン；

f) 配列番号 58 に定義される軽鎖可変ドメインおよび配列番号 60 に定義される重鎖可変ドメイン；

g) 配列番号 62 に定義される軽鎖可変ドメインおよび配列番号 64 に定義される重鎖可変ドメイン；

h) 配列番号 66 に定義される軽鎖可変ドメインおよび配列番号 68 に定義される重鎖可変ドメイン；

を含む、単離された抗体またはその抗原結合断片を含む。

【0179】

上記の特定の組み合わせの軽鎖可変領域は、他の軽鎖可変領域（特に、表 2 に記載のもの）に変更され得ることを、ここに理解されたい。同様に、上記の特定の組み合わせの重鎖可変領域は、他の重鎖可変領域（特に、表 2 に記載のもの）に変更される場合がある。

【0180】

軽鎖および重鎖可変領域を含む抗体も、本発明において提供される。さらに特定の実施形態は、これらの軽鎖および重鎖可変領域の抗原結合断片、変異体、および誘導体を含む。これらの軽鎖および重鎖可変領域に存在する配列の例は表 2 に開示されている。

【0181】

【表 2】

表 2 - S i g l e c - 1 5 に結合する軽鎖および重鎖可変領域の配列

抗体 記号表示	鎖の種類	ヌクレオチド配列 (配列番号)	アミノ酸配列 (配列番号)
25A1	軽鎖(L)	37	38
25A1	重鎖(H)	39	40
25B4	軽鎖	41	42
25B4	重鎖	43	44
25B8	軽鎖	45	46
25B8	重鎖	47	48
25C1	軽鎖	49	50
25C1	重鎖	51	52
25D8	軽鎖	53	54
25D8	重鎖	55	56
25E5	軽鎖	57	58
25E5	重鎖	59	60
25E6	軽鎖	61	62
25E6	重鎖	63	64
25E9	軽鎖	65	66
25E9	重鎖	67	68
25B02	軽鎖	161	162
25B02	重鎖	163	164
25D11	軽鎖	165	166
25D11	重鎖	167	168
25E10	軽鎖	169	170
25E10	重鎖	171	172

【0182】

したがって、S i g l e c - 1 5 に結合する抗体および抗原結合断片は、同一の記号表

示された抗体の、または抗体の任意の組み合わせにおける１つの軽鎖可変領域と１つの重鎖可変領域を含み得る。例えば、典型的な実施形態では、抗 S i g l e c - 1 5 抗体またはその断片は、2 5 A 1 の軽鎖可変領域（配列番号 3 8）と 2 5 A 1 の重鎖可変領域（配列番号 N O 4 0）を含み得る。別の実施形態では、抗 S i g l e c - 1 5 抗体またはその断片は、2 5 A 1 軽鎖可変領域（配列番号 3 8）と 2 5 B 4 重鎖可変領域（配列番号 N O 4 4）を含み得る。別の実施形態では、抗 S i g l e c - 1 5 抗体は、２つの同一または実質的に同一の軽鎖可変領域および２つの同一または実質的に同一の重鎖領域を含み得る。さらに別の実施形態では、抗 S i g l e c - 1 5 抗体は、２つの異なる軽鎖可変領域および２つの異なる重鎖領域を含むものであり得る。

【 0 1 8 3 】

10

表 2、表 5 A および表 5 B に記載のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 7 %、または 9 9 % の配列同一性をそれぞれ独立して有し得る、軽鎖および／または重鎖の可変領域の組み合わせによって形成された他の抗 S i g l e c - 1 5 抗体またはその抗原結合断片の変異体も提供される。抗 S i g l e c - 1 5 抗体の変異体は、表 2 に記載する軽鎖および／または重鎖の可変領域のアミノ酸配列における保存的なアミノ酸の変化、アミノ酸の置換、欠失、または付加も含み得ることも当業者は理解されよう。

【 0 1 8 4 】

【表 3 A】

表 3 - 軽鎖および重鎖 C D R の配列

抗体 記号表示	鎖の種類	CDR	配列 番号	アミノ酸配列
25A1	軽鎖(L)	CDR1	69	SASSSVSYMY
25A1	軽鎖	CDR2	70	RTSNLAS
25A1	軽鎖	CDR3	71	QQWSSNPLT
25A1	重鎖(H)	CDR1	72	GYTFTRYWMD
25A1	重鎖	CDR2	73	EIDPSDSYTN
25A1	重鎖	CDR3	74	ARSGAYSSDYSYDGFAY
25B4	軽鎖	CDR1	75	RSSKSLLHSNGITYLY
25B4	軽鎖	CDR2	76	QMSNLAS
25B4	軽鎖	CDR3	77	MQHLEYPYT
25B4	重鎖	CDR1	78	GYTFTSYWMH
25B4	重鎖	CDR2	79	LINPTNGRTN
25B4	重鎖	CDR3	80	ARGGDGDYFDY
25B8	軽鎖	CDR1	81	RSTKSLLHSNGNTYLY
25B8	軽鎖	CDR2	82	RMSNLAS
25B8	軽鎖	CDR3	83	MQHLEYPFT
25B8	重鎖	CDR1	84	GYTFTDYDMH
25B8	重鎖	CDR2	85	TIDPETGGTA
25B8	重鎖	CDR3	86	TTFYYSHYNYDVGFAF
25C1	軽鎖	CDR1	87	RSSKSLLHSNGNTYLY
25C1	軽鎖	CDR2	88	RMSNLAS
25C1	軽鎖	CDR3	89	MQHLEYPFT
25C1	重鎖	CDR1	90	GYTFTDYEMH
25C1	重鎖	CDR2	91	AIDPETGGTA
25C1	重鎖	CDR3	92	TSFYTTYNYDVGFAF
25D8	軽鎖	CDR1	93	RSSKSLLHSNGITYLY
25D8	軽鎖	CDR2	94	QMSNLAS
25D8	軽鎖	CDR3	95	AQNLELPYT
25D8	重鎖	CDR1	96	GYTFTSYWMH
25D8	重鎖	CDR2	97	LINPSNARTN
25D8	重鎖	CDR3	98	ARGGDGDYFDY
25E5	軽鎖	CDR1	99	SASSSVSYMY
25E5	軽鎖	CDR2	100	RTSNLVS
25E5	軽鎖	CDR3	101	QQWSSNPPT
25E5	重鎖	CDR1	102	GFDGSKDWMS
25E5	重鎖	CDR2	103	EINPDSSTIN
25E5	重鎖	CDR3	104	SRLEDYEDWYFDV
25E6	軽鎖	CDR1	105	KASQSVSNAVA
25E6	軽鎖	CDR2	106	YTSNRYT
25E6	軽鎖	CDR3	107	QQDYTSPWT
25E6	重鎖	CDR1	108	GYTFNTYNMY
25E6	重鎖	CDR2	109	GIDPSNGDTK
25E6	重鎖	CDR3	110	TSHTY

【表 3 B】

抗体 記号表示	鎖の種類	CDR	配列 番号	アミノ酸配列
25E9	軽鎖	CDR1	111	RSTKSLLHSNGNTYLY
25E9	軽鎖	CDR2	112	RMSNLAS
25E9	軽鎖	CDR3	113	MQHLEYPFT
25E9	重鎖	CDR1	114	GYTFTDYDMH
25E9	重鎖	CDR2	115	TIDPETGGTA
25E9	重鎖	CDR3	116	TSFYTYTSNYDVGFAY
25B02	軽鎖	CDR1	173	RASENIYSYLA
25B02	軽鎖	CDR2	174	NAKTLPE
25B02	軽鎖	CDR3	175	HHYGVPLT
25B02	重鎖	CDR1	176	GYTFTRNWIQ
25B02	重鎖	CDR2	177	AIYPGNGDSR
25B02	重鎖	CDR3	178	ARLAGNYAYYFDY
25D11	軽鎖	CDR1	179	RASGNIHNYLA
25D11	軽鎖	CDR2	180	NAKTLPE
25D11	軽鎖	CDR3	181	QHHYGVPLT
25D11	重鎖	CDR1	182	GYTFTRNWIQ
25D11	重鎖	CDR2	183	AIYPGNGDSR
25D11	重鎖	CDR3	184	ARLAGNYAYYFDY
25E10	軽鎖	CDR1	185	RASGNIHNYLA
25E10	軽鎖	CDR2	186	NAKTLAD
25E10	軽鎖	CDR3	187	QHHYGAPLT
25E10	重鎖	CDR1	188	GYTFTRNWIQ
25E10	重鎖	CDR2	189	AVYPGNGDSR
25E10	重鎖	CDR3	190	ARLAGNYAYYFDY

【0186】

本発明の特定の実施形態では、抗 S i g l e c - 1 5 抗体またはその抗原結合断片は、表 3 に示す C D R 配列を含むか、または表 3 の C D R 配列と実質的な配列同一性を有し得る。例示的な実施形態では、25A1 抗 S i g l e c - 1 5 抗体は、配列番号 68、69、および 70 でコードされた C D R 1、2、および 3 をそれぞれ含む軽鎖可変領域、および／または配列番号 71、72、および 73 でコードされた C D R 1、2 および 3 をそれぞれ含む重鎖可変領域を含み得る。他の実施形態では C D R 3 領域は、抗原結合を提供するのに十分なものであり得る。C D R L 3 または C D R H 3 のいずれか、もしくは C D R L 3 と C D R H 3 の両方を含むようなポリペプチドは、本発明に包含される。

【0187】

さらに、抗 S i g l e c - 1 5 抗体またはその抗原結合断片は表 3 に記載する C D R の任意の組み合わせを含み得る。例えば、抗体またはその抗原結合断片は、軽鎖 C D R 3 および重鎖の C D R 3 を含み得る。抗 S i g l e c - 1 5 抗体またはその抗原結合断片に含まれている C D R が、表 3 に記載する C D R 配列と 80%、85%、90%、または 95% の配列同一性を有する変異体 C D R であり得ることは理解されよう。変異体が表 3 に記載する C D R 配列の保存的なアミノ酸の変化、アミノ酸の置換、欠失、または付加も含み得ることも、当業者は認識するはずである。

【0188】

本発明の他の典型的な態様は、配列番号 2 またはその変異体（配列番号 2 の 20 番目か

ら 259 番目までのアミノ酸の領域、または 40 番目から 165 番目までのアミノ酸の領域と少なくとも 80% の配列同一性を有する変異体) に特異的に結合する能力を有する、単離された抗体またはその抗原結合断片であって、前記抗体が、

a) 表 5 B に記載する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および表 5 A に記載する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

b) 配列番号 194 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 191 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

c) 配列番号 195 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 192 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

d) 配列番号 196 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 193 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

e) 配列番号 38 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 40 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

f) 配列番号 42 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 44 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

g) 配列番号 46 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 48 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

h) 配列番号 50 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 52 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

i) 配列番号 54 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 56 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

j) 配列番号 58 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 60 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

k) 配列番号 62 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 64 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

l) 配列番号 66 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 68 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

m) 配列番号 162 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 164 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

n) 配列番号 166 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 168 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

o) 配列番号 170 に定義する軽鎖可変ドメインの 3 つの C D R および配列番号 172 に定義する重鎖可変ドメインの 3 つの C D R ;

を含む、単離された抗体またはその抗原結合断片を含む。

【0189】

本発明は別の側面において、S i g l e c - 15 またはその変異体 (配列番号 2 の 20 番目から 259 番目までのアミノ酸の領域、または 40 番目から 165 番目までのアミノ酸の領域と少なくとも 80% の配列同一性を有する変異体) に特異的に結合する能力を有する、単離された抗体またはその抗原結合断片であって、前記抗体が、

a) 表 5 B に記載する配列と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび表 5 A に記載する配列と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン ;

b) 配列番号 194 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 191 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン ;

c) 配列番号 195 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 192 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖

10

20

30

40

50

可変ドメイン；

d) 配列番号 196 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 193 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

e) 配列番号 38 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 40 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

f) 配列番号 42 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 44 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

g) 配列番号 46 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 48 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

h) 配列番号 50 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 52 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

i) 配列番号 54 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 56 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

j) 配列番号 58 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 60 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

k) 配列番号 62 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 64 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

l) 配列番号 66 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 68 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

m) 配列番号 162 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 164 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

n) 配列番号 166 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 168 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

o) 配列番号 170 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインおよび配列番号 172 と少なくとも 70% (75%、80%、85%、90%、95%、100%) の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン；

を含む、単離された抗体またはその抗原結合断片に関する。

10

20

30

40

50

【0190】

さらに上記の特定の組み合わせの軽鎖可変領域は、本明細書に記載する他の軽鎖可変領域に変更され得る。同様に、上記の特定の組み合わせの重鎖可変領域は、本明細書に記載する他の重鎖可変領域に変更され得る。

【0191】

〔変異体抗体およびその抗原結合断片〕

また、本発明は、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合断片の変異体を包含する。本発明に包含される変異体抗体またはその抗原結合断片は、アミノ酸配列に変異を有するものである。例えば、本発明に包含される変異体抗体またはその抗原結合断片は、少なくとも1つの変異体CDR（2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、最大12個の変異体CDR）、変異体軽鎖可変ドメイン、変異体重鎖可変ドメイン、変異体軽鎖および／または変異体重鎖を有するものである。本発明に包含される変異体抗体またはその抗原結合断片は、元の抗体またはその抗原結合断片と比較して、例えば同程度または増強された結合親和性を有するものである。

10

【0192】

本明細書で使用される「変異体」という用語は、本明細書に記載するあらゆる配列に適用され、例えば変異体CDR（CDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1、CDRH2、および／またはCDRH3のいずれか）、変異体軽鎖可変ドメイン、変異体重鎖可変ドメイン、変異体軽鎖、変異体重鎖、変異体抗体、変異体抗原結合断片、および配列番号2の変異体が含まれる。

20

【0193】

本発明に包含される変異体抗体または抗原結合断片は、挿入、欠失またはアミノ酸置換（保存的または非保存的置換）を含み得るものである。これらの変異体は、そのアミノ酸配列中の少なくとも1つアミノ酸残基が除去され、その場所に挿入された異なる残基を有し得る。

【0194】

置換変異誘発について最も関心のある部位には、超可変領域（CDR）が含まれるが、フレームワーク領域における変化、あるいは定常領域における変化も意図するところに含まれる。保存的置換は、以下に記載のグループ（グループ1～6）のひとつに含まれる（CDR、可変鎖、抗体などの）アミノ酸を同じグループに属する他のアミノ酸に交換されることによって生じ得る。

30

【0195】

通常、CDRにおける変異は、フレームワーク領域における変異より抗体または抗原結合断片の抗原結合活性に大きな影響を与え得る。本発明に包含される変異体抗体またはその抗原結合断片は、本明細書に記載するものと実質的に同一の抗原結合能力を持つもの（同様の、同一の、またはわずかに小さいだけの抗原結合能力を持つものを含む）か、もしくは本明細書に記載するものより高い抗原結合能力を持つものである。

【0196】

保存的置換の他の典型的な態様は、表1Aの「好ましい置換」の見出しの下に記載されている。そのような置換が望ましくない特性をもたらす場合、より大きい変化、表1Aにおいて「典型的な置換」と命名されたもの、またはアミノ酸のクラスに関連して後に説明するものを導入し、生成物をスクリーニングしてもよい。

40

【0197】

変異体は、置換変異誘発によって生成され、かつ本発明のポリペプチドの生物活性を保持し得ることが知られている。これらの変異体は、そのアミノ酸配列中の少なくとも1つアミノ酸残基が除去され、その場所に挿入された異なる残基を有し得る。例えば、置換変異誘発について最も関心のある部位には、さまざまな種に由来する特定の残基が同一であるような部位が含まれる。「保存的置換」として特定される置換の例を、図1Aに示す。そのような置換が望ましくない変化をもたらす場合、他の種類の置換、表1において「典型的な置換」と命名されたもの、またはアミノ酸のクラスに関連して後に説明するものを

50

導入し、生成物をスクリーニングする。

【0198】

機能的または免疫学的同一性の大幅な変更は、例えばシート構造またはらせん構造のような、(a)置換領域におけるポリペプチド骨格の構造の維持、(b)標的部員における分子の電荷または疎水性の維持、または(c)側鎖の大きさの維持に対する影響について有意差を有する置換のなかから選択することによって、達成される。天然の残基は、共通の側鎖の特性に基づいて複数のグループ、即ち

(グループ1) 疎水性：ノルロイシン、メチオニン(Met)、アラニン(Ala)、バリン(Val)、ロイシン(Leu)、イソロイシン(Ile)

(グループ2) 中性親水性：システイン(Cys)、セリン(Ser)、スレオニン(Thr)

(グループ3) 酸性：アスパラギン酸(Asp)、グルタミン酸(Glu)

(グループ4) 塩基性：アスパラギン(Asn)、グルタミン(Gln)、ヒスチジン(His)、リジン(Lys)、アルギニン(Arg)

(グループ5) 鎖配向に影響を与える残基：グリシン(Gly)、(Pro)はプロリン、および

(グループ6) 芳香族：トリプトファン(Trp)、チロシン(Tyr)、フェニルアラニン(Phe)

に分割される。非保存的置換は、これらのクラスのいずれかのメンバーから別のクラスのメンバーへの交換を伴う。

【0199】

10

20

【表 4】

表 1 A アミノ酸の置換

元の残基	典型的な置換	保存的置換
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln, His, Lys, Arg, Asp	Gln
Asp (D)	Glu, Asn	Glu
Cys (C)	Ser, Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp, Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg,	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys (K)	Arg, Gln, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Leu, Met, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu

【0200】

変異体抗体またはその抗原結合断片のアミノ酸配列の変異は、アミノ酸の付加、欠失、挿入、置換等、1つまたは複数のアミノ酸の主鎖または側鎖における1箇所または複数箇所の変更、もしくは1つまたは複数のアミノ酸への他の分子群または別分子の付加（主鎖または側鎖）を含み得る。

【0201】

変異体抗体またはその抗原結合断片は、元の抗体または抗原結合断片と比較すると、そのアミノ酸配列にかなりの配列類似性および／または配列同一性を有し得る。2つの配列間の類似度は、同一なもの（同一のアミノ酸）のパーセンテージおよび保存的な置換のパ

ーセンテージに基づく。

【0202】

一般に、可変鎖間の配列類似性および同一性の程度は、使用してBlast2シーケンスプログラム(Tatiana A. Tatusova, Thomas L. Madden (1999), "Blast 2 sequences—a new tool for comparing protein and nucleotide sequences", FEMS Microbiol Lett. 174: 247–250)をデフォルト設定で使用して、すなわちBLASTPプログラム、BLOSUM62マトリックス(open gap 11およびextension gap penalty 1; gapx dropoff 50, expect 10.0, word size 3)、および活性化フィルタを用いてここに決定した。

10

【0203】

パーセント同一性は、したがって、元のペプチドと同一で、同一または類似した位置を占め得るアミノ酸の存在の指標となる。

【0204】

パーセント類似性は、同一または類似した位置における元のペプチドと同一なもの、および保守的アミノ酸置換で置換されているものであるアミノ酸の存在の指標となる。

【0205】

本発明の(VL変異体、VH変異体、CDR変異体、抗体変異体、ポリペプチド変異体などを含む)変異体(すなわち類似体)は、したがって、元の配列または元の配列の一部と少なくとも70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性を有し得るものを含む。

20

【0206】

本発明によれば、配列番号2の変異体は、配列番号2の49番目から165番目までのアミノ酸の領域、または、または20番目から259番目までのアミノ酸の領域と少なくとも80%の配列同一性を有する領域を有するポリペプチドを含む。配列番号2の変異体はまた、配列番号2と少なくとも80%の配列同一性を有するポリペプチドを含む。

【0207】

変異体の典型的な態様は、本明細書に記載するいずれかの配列と少なくとも81%の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部と81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列類似性を有するものである。

30

【0208】

変異体の他の典型的な態様は、本明細書に記載するいずれかの配列と少なくとも82%の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部と82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列類似性を有するものである。

【0209】

変異体のさらに別の典型的な態様は、本明細書に記載するいずれかの配列と少なくとも85%の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部と85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列類似性を有するものである。

40

【0210】

変異体のさらに別の典型的な態様は、本明細書に記載するいずれかの配列と少なくとも90%の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部と90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列類似性を有するものである。

【0211】

50

変異体のさらに別の典型的な態様は、本明細書に記載するいずれかの配列と少なくとも 95% の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部と 95%、96%、97%、98%、99% または 100% の配列類似性を有するものである。

【0212】

変異体のさらに別の典型的な態様は、本明細書に記載するいずれかの配列と少なくとも 97% の配列同一性を有し、元の配列または元の配列の一部と 97%、98%、99% または 100% の配列類似性を有するものである。

【0213】

簡潔化の目的で、本出願人は本明細書において、本発明に包含される個々の変異体の典型的な形態であって、特定の%配列同一性および%配列類似性を有するものを示す表1Bを提示している。表中の各「X」は、所定の変異体を定めるものと解されたい。

【0214】

【表5】

表1 B		パーセント (%) 配列同一性																				
パーセント (%) 配列類似性		80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
	80	X																				
	81	X	X																			
	82	X	X	X																		
	83	X	X	X	X																	
	84	X	X	X	X	X																
	85	X	X	X	X	X	X															
	86	X	X	X	X	X	X	X														
	87	X	X	X	X	X	X	X	X													
	88	X	X	X	X	X	X	X	X	X												
	89	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X											
	90	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X										
	91	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X									
	92	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X								
	93	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X							
	94	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						
	95	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X					
	96	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
	97	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
98	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X			
99	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
100	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

【0215】

本明細書において使用される「同一」なる用語は、ある配列が他の配列との100%の配列同一性を有することを意味する。

【0216】

本明細書において使用される「実質的に同一」なる用語は、ある配列が他の配列との70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性を有することを意味する。

【0217】

本発明は、本明細書に記載の配列と少なくとも80%の配列同一性を有する、CDR、軽鎖可変ドメイン、重鎖可変ドメイン、軽鎖、重鎖、抗体および／または抗原結合断片を包含する。

【0218】

本発明の抗体または抗原結合断片の典型的な態様は、配列番号38と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有す

るものを含む) 配列、配列番号 42 と少なくとも 70% の配列同一性を有する (80%、85%、90%、95% と 100% の配列同一性を有するものを含む) 配列、配列番号 46 と少なくとも 70% の配列同一性を有する (80%、85%、90%、95% と 100% の配列同一性を有するものを含む) 配列、配列番号 50 と少なくとも 70% の配列同一性を有する (80%、85%、90%、95% と 100% の配列同一性を有するものを含む) 配列、配列番号 54 と少なくとも 70% の配列同一性を有する (80%、85%、90%、95% と 100% の配列同一性を有するものを含む) 配列、配列番号 58 と少なくとも 70% の配列同一性を有する (80%、85%、90%、95% と 100% の配列同一性を有するものを含む) 配列、配列番号 62 と少なくとも 70% の配列同一性を有する (80%、85%、90%、95% と 100% の配列同一性を有するものを含む) 配列、配列番号 66 と少なくとも 70% の配列同一性を有する (80%、85%、90%、95% と 100% の配列同一性を有するものを含む) 配列、配列番号 162 と少なくとも 70% の配列同一性を有する (80%、85%、90%、95% と 100% の配列同一性を有するものを含む) 配列、配列番号 166 と少なくとも 70% の配列同一性を有する (80%、85%、90%、95% と 100% の配列同一性を有するものを含む) 配列、および配列番号 170 と少なくとも 70% の配列同一性を有する (80%、85%、90%、95% と 100% の配列同一性を有するものを含む) 配列からなる群から選択された配列を含む軽鎖可変ドメインを含むものである。

10

【0219】

これらの軽鎖可変ドメインは、配列番号 69 と少なくとも 80% の配列同一性を有する CDR L1 配列、配列番号 70 と少なくとも 80% の配列同一性を有する CDR L2 配列、および配列番号 71 と少なくとも 80% の配列同一性を有する CDR L3 配列を含み得る。

20

【0220】

本発明の典型的な実施形態においては、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 69 と少なくとも 90% の配列同一性を有し得る CDR L1 配列を含み得る。

【0221】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 69 と 100% の配列同一性を有し得る CDR L1 配列を含み得る。

【0222】

本発明の別の典型的な実施形態においては、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 70 と少なくとも 90% の配列同一性を有する CDR L2 配列を含み得る。

30

【0223】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 70 と 100% の配列同一性を有し得る CDR L2 配列を含み得る。

【0224】

本発明の別の典型的な実施形態においては、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 71 と少なくとも 90% の配列同一性を有し得る CDR L3 配列を含み得る。

【0225】

本発明のさらなる典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 71 と 100% の配列同一性を有し得る CDR L3 配列を含み得る。

40

【0226】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号 75 と少なくとも 80% の配列同一性を有する CDR L1 配列、配列番号 76 と少なくとも 80% の配列同一性を有する CDR L2 配列、配列番号 77 と少なくとも 80% の配列同一性を有する CDR L3 配列を含み得る。

【0227】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 75 と少なくとも 90% の配列同一性を有し得る CDR L1 配列を含み得る。

【0228】

本発明の別の典型的な実施形態においては、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配

50

列番号 75 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 1 配列を含み得る。

【0229】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 76 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 2 配列を含み得る。

【0230】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 76 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 2 配列を含み得る。

【0231】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 77 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 3 配列を含み得る。

10

【0232】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 77 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 3 配列を含み得る。

【0233】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号 81 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 1 配列、配列番号 82 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 2 配列、配列番号 83 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 3 配列を含み得る。

【0234】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 81 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 1 配列を含み得る。

20

【0235】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 81 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 1 配列を含み得る。

【0236】

本発明のさらなる典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 82 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 2 配列を含み得る。

【0237】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 82 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 2 配列を含み得る。

【0238】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 83 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 3 配列を含み得る。

30

【0239】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 83 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 3 配列を含み得る。

【0240】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号 87 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 1 配列、配列番号 88 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 2 配列、配列番号 89 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 3 配列を含み得る。

【0241】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 87 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 3 配列を含み得る。

40

【0242】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 87 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 1 配列を含み得る。

【0243】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 88 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 2 配列を含み得る。

【0244】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号

50

８８と１００％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ２配列を含み得る。

【０２４５】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号８９と少なくとも９０％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ３配列を含み得る。

【０２４６】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号８９と１００％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ３配列を含み得る。

【０２４７】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号９３と少なくとも８０％の配列同一性を有するＣＤＲＬ１配列、配列番号９４と少なくとも８０％の配列同一性を有するＣＤＲＬ２配列、配列番号９５と少なくとも８０％の配列同一性を有するＣＤＲＬ３配列を含み得る。

10

【０２４８】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号９３と少なくとも９０％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ１配列を含み得る。

【０２４９】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号９３と１００％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ１配列を含み得る。

【０２５０】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号９４と少なくとも９０％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ２配列を含み得る。

20

【０２５１】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号９４と１００％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ２配列を含み得る。

【０２５２】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号９５と少なくとも９０％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ３配列を含み得る。

【０２５３】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号９５と１００％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ３配列を含み得る。

【０２５４】

30

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号９９と少なくとも８０％の配列同一性を有するＣＤＲＬ１配列、配列番号１００と少なくとも８０％の配列同一性を有するＣＤＲＬ２配列、配列番号１０１と少なくとも８０％の配列同一性を有するＣＤＲＬ３配列を含み得る。

【０２５５】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号９９と少なくとも９０％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ１配列を含み得る。

【０２５６】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号９９と１００％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ１配列を含み得る。

【０２５７】

40

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号１００と少なくとも９０％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ２配列を含み得る。

【０２５８】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号１００と１００％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ２配列を含み得る。

【０２５９】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号１０１と少なくとも９０％の配列同一性を有し得るＣＤＲＬ３配列を含み得る。

【０２６０】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号

50

101と100%の配列同一性を有し得るCDRL3配列を含み得る。

【0261】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号105と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRL1配列、配列番号106と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRL2配列、配列番号107と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRL3配列を含み得る。

【0262】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号105と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRL1配列を含み得る。

【0263】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号105と100%の配列同一性を有し得るCDRL1配列を含み得る。

【0264】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号106と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRL2配列を含み得る。

【0265】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号106と100%の配列同一性を有し得るCDRL2配列を含み得る。

【0266】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号107と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRL3配列を含み得る。

【0267】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号107と100%の配列同一性を有し得るCDRL3配列を含み得る。

【0268】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号111と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRL1配列、配列番号112と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRL2配列、配列番号113と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRL3配列を含み得る。

【0269】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号111と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRL1配列を含み得る。

【0270】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号111と100%の配列同一性を有し得るCDRL1配列を含み得る。

【0271】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号112と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRL2配列を含み得る。

【0272】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号112と100%の配列同一性を有し得るCDRL2配列を含み得る。

【0273】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号113と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRL3配列を含み得る。

【0274】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号113と100%の配列同一性を有し得るCDRL3配列を含み得る。

【0275】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号173と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRL1配列、配列番号174と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRL2配

10

20

30

40

50

列、配列番号 175 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 3 配列を含み得る。

【0276】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 173 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 1 配列を含み得る。

【0277】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 173 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 1 配列を含み得る。

【0278】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 174 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 2 配列を含み得る。 10

【0279】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 174 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 2 配列を含み得る。

【0280】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 175 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 3 配列を含み得る。

【0281】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 175 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 3 配列を含み得る。 20

【0282】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号 179 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 1 配列、配列番号 180 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 2 配列、配列番号 181 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 3 配列を含み得る。

【0283】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 179 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 1 配列を含み得る。

【0284】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 179 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 1 配列を含み得る。 30

【0285】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 180 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 2 配列を含み得る。

【0286】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 180 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 2 配列を含み得る。

【0287】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 181 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R L 3 配列を含み得る。 40

【0288】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 181 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R L 3 配列を含み得る。

【0289】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号 185 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 1 配列、配列番号 186 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 2 配列、配列番号 187 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R L 3 配列を含み得る。

【0290】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 18 50

5と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRL1配列を含み得る。

【0291】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号185と100%の配列同一性を有し得るCDRL1配列を含み得る。

【0292】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号186と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRL2配列を含み得る。

【0293】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号186と100%の配列同一性を有し得るCDRL2配列を含み得る。

10

【0294】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号187と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRL3配列を含み得る。

【0295】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号187と100%の配列同一性を有し得るCDRL3配列を含み得る。

【0296】

本発明の典型的な実施形態では、本発明の抗体または抗原結合断片は、配列番号40と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有するものを含む)配列、配列番号44と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%の配列同一性を有するものを含む)配列、配列番号48と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有するものを含む)配列、配列番号52と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有するものを含む)配列、配列番号56と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有するものを含む)配列、配列番号60と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有するものを含む)配列、配列番号64と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有するものを含む)配列、配列番号68と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有するものを含む)配列、配列番号164と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有するものを含む)配列、配列番号168と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有するものを含む)配列、および配列番号172と少なくとも70%の配列同一性を有する(80%、85%、90%、95%と100%の配列同一性を有するものを含む)配列からなる群から選択された配列を含む重鎖可変ドメインを含むものである。

20

30

【0297】

上述の重鎖可変ドメインは、配列番号72と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH1配列、配列番号73と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH2配列、配列番号74と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH3配列を含み得る。

40

【0298】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号72と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

【0299】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号72と100%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

【0300】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号73と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

50

【0301】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号73と100%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0302】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号74と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0303】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号74と100%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0304】

上述の重鎖可変ドメインは、配列番号78と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH1配列、配列番号79と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH2配列、配列番号80と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH3配列を含み得る。

【0305】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号78と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

【0306】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号78と100%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

【0307】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号79と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0308】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号79と100%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0309】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号80と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0310】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号80と100%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0311】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号84と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH1配列、配列番号85と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH2配列、配列番号86と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH3配列を含み得る。

【0312】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号84と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

【0313】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号84と100%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

【0314】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号85と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0315】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号85と100%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0316】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号86と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

10

20

30

40

50

【0317】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号86と100%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0318】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号90と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH1配列、配列番号91と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH2配列、配列番号92と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH3配列を含み得る。

【0319】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号90と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

10

【0320】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号90と100%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

【0321】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号91と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0322】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号91と100%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0323】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号92と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

20

【0324】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号92と100%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0325】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号96と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH1配列、配列番号97と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH2配列、配列番号98と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH3配列を含み得る。

【0326】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号96と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

30

【0327】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号96と100%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

【0328】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号97と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0329】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号97と100%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

40

【0330】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号98と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0331】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号98と100%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0332】

上述の軽鎖可変ドメインは、配列番号102と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH1配列、配列番号103と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH2配

50

列、配列番号 104 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 3 配列を含み得る。

【0333】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 102 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

【0334】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 102 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

【0335】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 103 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 2 配列を含み得る。

10

【0336】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 103 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 2 配列を含み得る。

【0337】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 104 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 3 配列を含み得る。

【0338】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 104 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 3 配列を含み得る。

20

【0339】

上述の重鎖可変ドメインは、配列番号 108 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 1 配列、配列番号 109 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 2 配列、配列番号 110 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 3 配列を含み得る。

【0340】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 108 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

【0341】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 108 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

30

【0342】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 109 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 2 配列を含み得る。

【0343】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 109 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 2 配列を含み得る。

【0344】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 110 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 3 配列を含み得る。

40

【0345】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 110 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 3 配列を含み得る。

【0346】

上述の重鎖可変ドメインは、配列番号 114 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 1 配列、配列番号 115 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 2 配列、配列番号 116 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 3 配列を含み得る。

【0347】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 11

50

4 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

【0348】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 114 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

【0349】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 115 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

【0350】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 115 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

10

【0351】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 116 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 3 配列を含み得る。

【0352】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 116 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 3 配列を含み得る。

【0353】

上述の重鎖可変ドメインは、配列番号 176 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 1 配列、配列番号 177 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 2 配列、配列番号 178 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 3 配列を含み得る。

20

【0354】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 176 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

【0355】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 176 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

【0356】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 177 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 2 配列を含み得る。

30

【0357】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 177 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 2 配列を含み得る。

【0358】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 178 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 3 配列を含み得る。

【0359】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 178 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 3 配列を含み得る。

【0360】

上述の重鎖可変ドメインは、配列番号 182 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 1 配列、配列番号 183 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 2 配列、配列番号 184 と少なくとも 80 % の配列同一性を有する C D R H 3 配列を含み得る。

40

【0361】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 182 と少なくとも 90 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

【0362】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号 182 と 100 % の配列同一性を有し得る C D R H 1 配列を含み得る。

50

【0363】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号183と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0364】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号183と100%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0365】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号184と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0366】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号184と100%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0367】

上述の重鎖可変ドメインは、配列番号188と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH1配列、配列番号189と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH2配列、配列番号190と少なくとも80%の配列同一性を有するCDRH3配列を含み得る。

【0368】

本発明の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号188と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

【0369】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号188と100%の配列同一性を有し得るCDRH1配列を含み得る。

【0370】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号189と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0371】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号189と100%の配列同一性を有し得るCDRH2配列を含み得る。

【0372】

本発明のさらに別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号190と少なくとも90%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0373】

本発明の別の典型的な実施形態では、本明細書に記載する抗体のいずれかが、配列番号190と100%の配列同一性を有し得るCDRH3配列を含み得る。

【0374】

[細胞における抗体の産生]

本明細書中に開示される抗体は、当業者によく知られた様々な方法（例えば、ハイブリドーマによる方法、あるいは組換えDNA法）によって作ることができる。

【0375】

本発明の典型的な実施形態では、抗体は、マウスを抗原で免疫し、脾臓細胞を単離してHGPRTを発現しない骨髓腫細胞と融合し、ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミン（HAT）を含む培地によってハイブリッド細胞を選択する従来のハイブリドーマ技術によって製造することができる。

【0376】

本発明の別の典型的な実施形態では、抗体を組換えDNA法によって製造し得る。

【0377】

抗体を発現するために、本明細書に記載する免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードすることができるヌクレオチド配列は、発現ベクター（即ち、特定のホストにおいて挿入されたコード配列の転写および翻訳制御のための要素を含むベクター）に挿入し

10

20

30

40

50

得る。これらの要素としては、例えば、エンハンサー、構成的および誘導性プロモーター、5'および3'非翻訳領域などの調節配列が挙げられる。当業者によく知られている方法を用いてそのような発現ベクターを構築することができる。これらの方法には、in vitro組換えDNA技術、合成技術、およびin vivo遺伝子組換えが含まれる。

【0378】

当業者に公知の各種発現ベクター／宿主細胞の系を利用して、本明細書に記載する免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードすることができるヌクレオチド配列に由来するポリペプチドまたはRNAを発現させることができる。これらの系としては、組換えバクテリオファージ、プラスミド、またはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌；酵母は、酵母発現ベクターで形質転換された酵母；バキュロウイルスベクターを感染させた昆虫細胞系；ウイルスまたは細菌発現ベクターで形質転換した植物細胞系；または動物細胞系などの微生物が挙げられるが、これらに限定されない。哺乳動物系においては組換えタンパク質が長期的に生産されるため、細胞株での安定な発現が達成され得る。例えば、本明細書に記載の免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードできるヌクレオチド配列を、ウイルスの複製起点および／または内因性発現エレメントを含み得る発現ベクターと、同じベクター上または別のベクター上にある選択可能すなわち可視マーカー遺伝子とを用いて、細胞株に形質転換することができる。ただし、本発明は、使用されるベクターまたは宿主細胞によって限定されるものではない。本発明の特定の実施形態では、本明細書に記載する免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードできるヌクレオチド配列を、それぞれ別々の発現ベクターに連結し、各鎖が別々に発現させることができる。別の実施形態では、本明細書に記載の免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードできる軽鎖および重鎖の両方を単一の発現ベクターに連結し、同時に発現させることができる。

【0379】

また、RNAおよび／またはポリペプチドは、本明細書に記載する免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードできるヌクレオチド配列を含むベクターから、それぞれin vitro転写系または結合されたin vitro転写／翻訳系をそれぞれ使用して、発現することができる。

【0380】

一般的に、本明細書中に記載する免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードできるヌクレオチド配列を含む、および／または本明細書中に記載する免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードできるヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドまたはその一部を発現する宿主細胞は、当業者に公知の種々の手順によって特定できる。これらの手順としては、DNA／DNAもしくはDNA／RNAハイブリダイゼーション、PCR増幅、およびタンパク質バイオアッセイまたはイムノアッセイ技術（核酸またはアミノ酸配列の検出および／または定量のための膜、溶液、または核酸またはチップをベースにした技術を含む）などが挙げられるが、これらに限定されない。特異的なポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のいずれかを用いる、ポリペプチドの発現を検出し測定するための免疫学的方法は当技術分野で周知である。このような技術の例としては、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA法）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、蛍光活性化細胞選別法（FACS）などが挙げられる。当業者は容易にこれらの方法を本発明に適用し得る。

【0381】

したがって、本明細書に記載する免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードできるヌクレオチド配列を含む宿主細胞は、対応するRNA（mRNA、siRNAは、shRNAなど）の転写および／または細胞培養からのポリペプチドの発現のための条件下で培養することができる。細胞によって産生されるポリペプチドは、使用されるベクターおよび／または配列に応じて分泌されるか、または細胞内に保持され得る。典型的な実施形態では、本明細書に記載する免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードできる

ヌクレオチド配列を含む発現ベクターは、原核生物または真核生物の細胞膜を介したポリペプチドの分泌を誘導するシグナル配列を含むように設計され得る。

【0382】

遺伝コード固有の縮重のため、例えば本明細書に記載する免疫グロブリン軽鎖および重鎖のいずれかをコードできるヌクレオチド配列によりコードされたポリペプチドを発現する目的で、同一の、実質的に同一の、または機能的に同等のアミノ酸配列をコードする他のDNA配列を作製して使用することができる。以下に限定されないが、クローニング、プロセッシング、および／または遺伝子産物の発現の改変などの各種の目的で塩基配列を変更するため、本発明のヌクレオチド配列を一般的に当技術分野で公知の方法を用いて改変することができる。ランダムに断片化することによるDNAシャフリングおよび遺伝子断片や合成オリゴヌクレオチドのPCRによる再構築を用いて、塩基配列を改変し得る。例えば、オリゴヌクレオチドによる部位特異的突然変異誘発法を用いて、新しい制限部位を作成する変異、グリコシル化パターンを変更する変異、コドン選択を変更する変異、スプライスバリエーションをつくりだす変異、などの各種変異を導入することができる。

【0383】

さらに、宿主細胞株は、挿入された配列の発現を調節する能力または所望の方式で発現されたポリペプチドをプロセッシングする能力の有無により選択され得る。ポリペプチドの修飾としては、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化、リン酸化、脂質化、およびアシル化などが挙げられるが、これらに限定されない。典型的な実施形態では、特定の糖鎖結合の構造またはパターンを含む抗体が必要とされ得る。翻訳後プロセッシングは、ポリペプチドの「プリプロ」型を切断し、タンパク質のターゲティング、折り畳み、および／または活性を特定するために使用することもできる。翻訳後の活性のための特定の細胞機構および特徴的な機序を有する異なる宿主細胞（例えば、CHO細胞、HeLa細胞、MDCK細胞、HEK293細胞、およびW138細胞）は市販されており、アメリカンタイプカルチャーコレクション（ATCC）からも入手可能であり、発現されたポリペプチドの正しい修飾およびプロセッシングを確実にするべく選択することができる。

【0384】

ハイブリドーマ細胞はハイブリッドマウスの細胞であることから、マウス抗体を産生するために厳密に使用される。そのようなマウス抗体のグリコシル側鎖がヒトの細胞で観察されたグリコシル化パターンとは大幅に異なる可能性があることは明らかである。ヒトの細胞とハイブリドーマとの間でリン酸化パターンの違いはまた、抗体の活性にも影響を与える可能性がある。さらに、ヒトへのマウス抗体の投与は、通常、マウス抗体が持ち得る生物学的活性のいずれかを中和する可能性がある抗抗体の免疫応答を誘導する。

【0385】

ヒトの免疫系によるマウス抗体の認識を最小にするため、またはヒトでの抗体の生物活性を向上させるため、マウス抗体を部分的に（例えばキメラ）または完全なヒト化抗体に変換するのが有利である。このように、（部分的または完全な）ヒト化抗体の軽鎖および重鎖の組換え体を、ハイブリドーマ細胞（例えば、293細胞、CHO細胞など）以外の哺乳動物発現系に導入し得る。哺乳動物発現系は、得られるグリコシル化パターンが、天然に存在する抗体のヒト型それに近いものとなるという利点が得られる。

【0386】

例えば、溶解性IgG1抗体の場合には、免疫グロブリン鎖の適切なグリコシル化はエフェクター機能に必要である。IgG1モノクローナル抗体のこれらの生物学的機能は、抗体依存性細胞毒性作用（ADCC）や補体依存性細胞毒性作用（CDC）が含まれ、この両方が、哺乳動物細胞における発現時にアミノ酸にグラフトされている糖の側鎖の種類に大きく影響される。

【0387】

さらに、最適化された哺乳動物細胞発現系は、ハイブリドーマに比べて大量の抗体を分泌することが多い。したがって、生産のためにヒト細胞を導入することについては、実用的な、およびおそらく経済的な理由が存在する。

【0388】

天然の、改変した、または組換えられた核酸配列は異種配列に連結し、上記のホスト系のいずれかの異種ポリペプチド部分を含む融合ポリペプチドの翻訳物が生じることは、当業者は容易に理解するであろう。このような異種ポリペプチド部分により、市販のアフィニティーマトリックスを用いた融合ポリペプチドの精製が容易になり得る。このような部分には、グルタチオンS-トランスフェラーゼ（GST）、マルトース結合タンパク質、チオレドキシン、カルモジュリン結合ペプチド、6-His（His）、FLAG、c-myc、血球凝集素（HA）、およびモノクローナル抗体エピトープなどの抗体エピトープなどが含まれるが、これらに限定されない。

【0389】

本発明は別の側面において、融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含み得るポリヌクレオチドに関連する。当該融合タンパク質は、本明細書に記載するポリペプチド（例えば、完全な軽鎖、完全な重鎖、可変領域、CDRなど）に融合する融合の相手（例えば、HA、FCなど）を含み得る。

【0390】

核酸およびポリペプチド配列の全部または一部を、当技術分野で周知の化学的または酵素的方法を使用して合成できることを、当業者は認識するはずである。例えば、ペプチド合成は様々な固相技術を用いて行うことができ、ABI 431A ペプチドシンセサイザー（PE Biosystems）などの装置を用いて、合成を自動化することができる。必要に応じて、アミノ酸配列を、合成および／または他のタンパク質からの配列との結合の間に改変して、変異体タンパク質を作製し得る。

【0391】

[抗体コンジュゲート]

検出または治療目的のためには必ずしも必要ではないが、本発明の抗体または抗原結合断片は検出可能な部分（すなわち、検出または診断目的で利用される）または治療用部分（治療目的で利用される）と結合させることができる。

【0392】

検出目的で、非結合抗体（一次抗体）を抗原に結合するために使用し、かつ検出可能な部分を備えかつ一次抗体に結合可能な二次抗体を加えることができる。しかし、上記のように、抗Siglec-15抗体は、検出可能な標識とのコンジュゲートであってもよく、したがって二次抗体は不要であろう。

【0393】

「検出可能な部分」とは、分光学的、光化学的、生化学的、免疫化学的、化学的および／または他の物理的手段によって検出可能な部分をさす。検出可能な部分は、当技術分野で周知の方法を用いて、本発明の抗体およびその抗原結合断片に直接および／または間接的に結合（例えば、限定するものではないが、DOTAまたはNHS結合などの結合を介してなど）することができる。必要な感度、結合しやすさ、安定性の要件および使用できる器具類などに応じて選択される、多種多様な検出可能な部分を用い得る。適切な検出可能な部分としては、蛍光標識、放射性標識（例えば、限定するものではないが、 ^{125}I 、 In^{111} 、 Tc^{99} 、 I^{131} 、ならびにPETスキャナ用の陽電子放出放射性同位体など）、核磁気共鳴標識、発光標識、化学発光標識、発色団標識、酵素標識（例えば、限定するものではないが、限界西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼなど）、量子ドット、および／またはナノ粒子などが挙げられるが、これらに限定されない。検出可能な部分は、検出可能なシグナルを発生させる、および／または発生することによって、当該検出可能な部分からのシグナルが検出され得るようにする。

【0394】

本発明の別の典型的な実施形態において、抗体またはその抗原結合断片は、治療的部分（例えば、薬物、細胞毒性部分）に結合（修飾）することができる。

【0395】

いくつかの事例では、治療の目的で、非結合抗体が、その抗体自体が抗原を封鎖する能

10

20

30

40

50

力を有するもの、抗原と他の結合の相手と間の重要な相互作用をブロックし得るもの、またはエフェクター細胞などを動員できるもの等であり得る。しかし、上記のように、抗体は、治療用部分とコンジュゲートさせることができる。

【0396】

典型的な実施形態では、抗体および抗原結合断片は、化学療法剤または細胞毒性剤を含み得る。例えば、抗体および抗原結合断片は、化学療法剤または細胞毒性剤に結合させることができる。このような化学療法剤または細胞毒性剤としては、イットリウム90、スカンジウム47、レニウム186、ヨウ素131、ヨウ素125、当業者に周知のその他の物質（例えば、ルテチウム（例えばLu177）、ビスマス（例えばBi213）、銅（例えばCu67）など）などが挙げられるが、これらに限定されない。他の例では、化学療法剤または細胞毒性剤は、当業者に知られているもののなかでは、5-フルオロウラシル、アドリアマイシン、イリノテカン、タキサン、シュードモナスエンドトキシン、リシンおよび他の毒素からなるものであり得る。

【0397】

また、本発明の方法を実施するために、かつ当技術分野で周知のように、本発明の抗体またはその抗原結合断片（結合または非結合）を、本発明の抗体またはその抗原結合断片に特異的に結合でき、かつ望ましい検出可能な部分や診断用または治療用の部分を備え得る二次分子（例えば二次抗体など）とともに用いることができる。

【0398】

[本発明の抗体の医薬組成物とその使用]

抗体（結合または非結合）の医薬組成物も本発明に包含される。当該医薬組成物は、抗体またはその抗原結合断片を含み得、また薬学的に許容される担体を含み得る。

【0399】

本発明の他の側面は、本明細書に記載する抗体またはその抗原結合断片と、担体とを含み得る組成物に関連する。

【0400】

本発明のさらに別の側面は、骨疾患や癌の治療または診断における本明細書に記載する単離された抗体または抗原結合断片の使用に関連する。

【0401】

有効成分に加えて、医薬組成物には、薬学的に許容される担体（水、PBS、塩溶液、ゼラチン、油、アルコール、および他の賦形剤を含む）と、薬学的に使用され得る製剤にするための活性化化合物の処理を促進する助剤とを含めることができる。他の事例においては、このような製剤を滅菌し得る。

【0402】

本明細書中で使用される「医薬組成物」は、通常、治療上有効な量の薬剤とともに、薬学的に許容される希釈剤、防腐剤、可溶化剤、乳化剤、アジュバントおよび／または担体を含む。本明細書中で使用される「治療上有効な量」とは、与えられた条件と投与レジメンで治療効果を挙げられる量をさす。このような組成物は、液体のまたは凍結乾燥あるいは乾燥した製剤であり、様々なバッファー成分の希釈剤（例えば、トリスHCl、酢酸塩、リン酸塩など）、pHおよびイオン強度、表面への吸着を防止するためのアルブミンまたはゼラチンなどの添加剤、界面活性剤（例えば、Tween20、Tween80、ブルニックF68、胆汁酸塩など）、可溶化剤（例えば、グリセロール、ポリエチレングリセロール）、抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸、メタ重亜硫酸ナトリウム）、防腐剤（例えば、チメロサル、ベンジルアルコール、パラベン）、増量物質または等張剤（例えば、ラクトース、マンニトール）、共有結合しているポリマー（例えば、タンパク質に結合したポリエチレングリコール）、金属イオンとの錯体、あるいはポリマー化合物の特定の製剤（ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ヒドロゲルなど）内へ、またはその上に材料を組み込んだもの、もしくはリポソーム、マイクロエマルジョン、ミセル、単層または多層小胞、赤血球ゴースト、またはスフェロプラストに材料を組み込んだものを含む。このような組成物は、その物理的状态、溶解度、安定性、in vivo放出速度、およびin

v i v o クリアランス速度に影響を及ぼすことになる。徐放性組成物または持続放出性組成物は、親油性デポ剤（例えば、脂肪酸、ワックス、オイル）を含む。また、ポリマーで被覆した粒子状組成物（例えば、ポロキサマーまたはポロキサミン）も本発明で想定されている。本発明の組成物の別実施形態は、各種投与経路（非経口投与、経肺投与、経鼻投与、経口投与、経膈投与、経直腸投与など）のための浸透促進剤、プロテアーゼ阻害剤、または粒状の保護コーティングを組み込んでいる。一実施形態において、医薬組成物は、非経口投与、癌近傍（*paracancerally*）投与、経粘膜投与、経皮投与、筋肉内投与、静脈内投与、皮内投与、皮下投与、腹腔内投与、脳室内投与、頭蓋内投与、および腫瘍内投与される。

【0403】

さらに、本明細書で使用される「薬学的に許容される担体」または「医薬用担体」は、当分野で周知であり、0.01～0.1Mまたは0.05Mのリン酸緩衝液または0.8%生理食塩水などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。さらに、このような薬学的に許容される担体は、水性または非水性の溶液、懸濁液、およびエマルジョンであり得る。非水性溶媒の例としては、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油などの植物油、およびオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルなどが挙げられる。水性担体としては、水、アルコール／水性溶液、エマルジョンまたは懸濁液などが挙げられ、生理食塩水および緩衝培地も含まれる。経口ビークルには、塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロス用域、デキストロスおよび塩化ナトリウム溶液は、乳酸加リンゲル溶液、または固定油などが含まれる。静脈内ビークルには、液体および栄養補給液、リンゲルデキストロスをベースにしたものなどの電解質補充液などが含まれる。防腐剤や他の添加剤、例えば、抗菌剤、酸化防止剤、照合剤、不活性ガスなども含まれる。

【0404】

任意の化合物についての治療上有効な用量は、細胞培養アッセイか、またはマウス、ラット、ウサギ、イヌ、ブタなどの動物モデルのいずれかで最初に推定し得る。動物モデルはまた、投与の濃度範囲および経路を決定するためにも使用できる。このような情報は、ヒトでの投与のための有用な用量および経路を決定するために使用され得る。これらの技術は当業者に高知であり、治療上有効な用量とは、症状や状態を改善する有効成分の量をさす。治療効果と毒性は、細胞培地において標準的な薬学的手順によって、または実験動物を用いて、例えば、ED50（集団の50%に治療上有効な用量）およびLD50（集団の50%の致死量）の統計情報を算出し、対比することによって決定し得る。上記の治療組成物のいずれかを、治療を必要とする任意の被験体、例えば限定されないがイヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ウサギ、サル、ヒトなどの哺乳動物に適用し得る。

【0405】

本発明において利用される医薬組成物は、任意の数の投与経路（経口、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、脳室内、経皮、皮下、腹腔内、鼻腔内、経腸、局所、舌下、または直腸手段を含むが、これらに限定されない）によって投与し得る。

【0406】

本明細書の開示内容の趣旨での「治療」という用語は、標的の病態または疾患を予防もしくは抑制（軽減）することを目的とした、治療および予防処置の両方をさす。治療を必要とするものには、既に疾患に罹患したもの、ならびに、疾患を有する傾向のあるものまたは疾患が予防されるべきものが含まれる。

【0407】

抗体またはその抗原結合断片は種々の骨量減少または癌の治療における治療的用途を有し得る。典型的な実施形態においては、抗体またはその断片は、骨疾患（例えば、破骨細胞の骨分解活性が上昇する状態など）に関連する骨量減少の治療の用途を有し得る。特定の事例では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号2を発現し、ADCCを媒介することによって免疫反応を誘導する細胞と相互作用し得る。他の例では、抗体および断片は、配列番号2とそのタンパク質の結合対象との相互作用をブロックし得る。

【0408】

抗S i g l e c - 1 5抗体またはその抗原結合断片は、各種骨関連疾患（以下に限定されないが、骨粗鬆症、骨減少症、骨軟化症、副甲状腺機能亢進症、甲状腺機能低下症、甲状腺機能亢進症、性腺機能低下症、甲状腺中毒症、全身性肥満細胞症、成人、低フォスファターゼ症、副腎皮質機能亢進症、骨形成不全症、パジェット病、クッシング病／症候群、ターナー症候群、ゴーシェ病、エーラー・ダンロス症候群、マルファン症候群、メンケス症候群、ファンconi症候群、多発性骨髄腫、高カルシウム血症、低カルシウム血症、関節炎、歯周病、くる病（ビタミンD依存性くる病I型、II型およびX染色体性低リン酸塩血症性くる病）、骨性線維形成不全症（f i b r o g e n e s i s i m p e r f e c t a o s s i u m）、骨硬化性疾患（例えば、濃化異骨症など）、およびマクロファージ媒介炎症プロセスによって引き起こされる障害を含む）に関係する骨量減少の治療における治療用途があり得る。好ましい実施形態において、抗体および断片は、重度の骨量減少がみられる状態、特に骨に対する転移性癌において治療用途を有する。特定の事例では、抗S i g l e c - 1 5抗体および断片は、S i g l e c - 1 5を発現する細胞（例えば、破骨細胞など）と相互作用し得る。他の事例では、抗S i g l e c - 1 5抗体および断片は、S i g l e c - 1 5とそのタンパク質の結合相手との相互作用をブロックし得る。

10

【0409】

抗S i g l e c - 1 5抗体および抗原結合断片は、各種骨再形成疾患によって引き起こされるもしくはそれに関連する骨量減少、または癌の治療において治療的用途を有し得る。特に、抗S i g l e c - 1 5抗体および免疫学的機能性断片は、破骨細胞が非常に活発であり、それが骨表面の劣化をもたらしている状態において治療用途を有する。特定の事例では、抗S i g l e c - 1 5抗体および抗原結合断片を、同じ状態に対する他の治療と同時に組み合わせて投与することができる。したがって、抗体は当業者に知られている抗骨吸収阻害剤（例えばビスホスホネート）と併用して投与することができる。さらに、抗体は、細胞分裂阻害剤（例えばタキサン）、白金ベースの薬剤（例えばシスプラチン）、DNA損傷剤（例えばドキソルビシン）、および当業者に知られている他の細胞毒性治療とともに投与することができる。他の事例では、抗S i g l e c - 1 5抗体およびその免疫学的機能性断片は、他の治療用抗体とともに投与することができる。そのような治療用抗体には、R A N K L、E G F R、C D - 2 0、およびH E R 2を標的とする抗体が含まれるが、これらに限定されない。

20

30

【0410】

特定の事例では、前記抗体および抗原結合断片を、同じ状態に対する他の治療と同時に組み合わせて投与することができる。したがって、その抗体は、細胞分裂阻害剤（例えばタキサン）、白金ベースの薬剤（例えばシスプラチン）、DNA損傷剤（例えばドキソルビシン）、および当業者に知られている他の抗癌治療とともに投与することができる。他の事例では、その抗体および抗原結合断片は、他の治療用抗体とともに投与することができる。そのような治療用抗体には、E G F R、C D - 2 0、およびH E R 2を標的とする抗体が含まれるが、これらに限定されない

【0411】

本発明はさらに別の側面において、配列番号2を発現する細胞または配列番号2の変異体を発現する細胞の増殖を阻害する方法であって、本明細書に記載する抗体または抗原結合断片の有効量と細胞とを接触させる工程を含み得る、方法に関する。

40

【0412】

本発明はまた、哺乳動物において癌または骨量減少を治療する、すなわち配列番号2を発現する細胞または配列番号2の変異体を発現する細胞の増殖を阻害する方法であって、本明細書に記載する抗体またはその抗原結合断片を、それが必要な哺乳動物に対して投与する工程を含み得る、方法も包含する。

【0413】

また、本発明は、卵巣癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞からなる群から選択される癌細胞の増殖

50

を阻害する方法を提供する。前記方法は、配列番号2の20番目のアミノ酸から259番目のアミノ酸までの領域、または配列番号2の49番目のアミノ酸から165番目のアミノ酸までの領域と少なくとも80%の配列同一性を有するポリペプチドの発現を阻害する能力を有する核酸を癌細胞に対して提供する工程を含み得る。当該癌細胞は、配列番号2の20番目のアミノ酸から259番目のアミノ酸までの領域、または配列番号2の49番目のアミノ酸から165番目のアミノ酸までの領域と少なくとも80%の配列同一性を有するポリペプチドを発現し得る。

【0414】

本発明によれば、前記核酸は、例えば、siRNAまたはアンチセンスであり得る。

【0415】

本発明はまた、哺乳動物において癌または骨量減少を検出する、すなわち配列番号2を発現する細胞または配列番号2の変異体を発現する細胞の増殖を検出する方法であって、本明細書に記載する抗体またはその抗原結合断片を、それが必要な哺乳動物に対して投与する工程を含み得る、方法も包含する。

【0416】

本発明はさらに別の側面において、配列番号2を発現する細胞または配列番号2の変異体が発現する細胞の増殖を阻害する方法であって、本明細書に記載する抗体または抗原結合断片の有効量と細胞とを接触させる工程を含み得る、方法に関する。

【0417】

本発明の別の側面は、配列番号2、および配列番号2の20番目のアミノ酸から259番目のアミノ酸までの領域、または配列番号2の49番目のアミノ酸から165番目のアミノ酸までの領域と少なくとも80%の配列同一性を有する変異体を検出する方法に関連し、当該方法は、配列番号2またはその変異体が発現する細胞もしくは配列番号2またはその変異体を含むまたは含む疑いのあるサンプル（生検、血清、血漿、尿など）を、本明細書に記載する抗体または抗原結合断片と接触させる工程、および結合を測定する工程を含み得る。

【0418】

抗体と抗原との結合により、抗原の予想分子量の上昇が生ずることになる。したがって、抗体または抗原結合断片と抗原とが特異的に結合した後に物理的変化が生ずる。

【0419】

そのような変化は、例えば、電気泳動を行った後に、ウェスタンブロット法およびゲルまたはブロットの着色、質量分析、HPLCを、コンピュータなどと組み合わせて利用することによって検出し得る。分子量の変化を計算することができる装置は当技術分野で公知であり、例えばPhosphorImager（登録商標）が挙げられる。

【0420】

抗体が例えば検出可能な標識を含む場合、標識が放出する蛍光、標識の放射線の放出、基質その他により提供される標識の酵素活性によって、抗原-抗体複合体を検出し得る。

【0421】

抗体またはその抗原結合断片と抗原との結合の検出および／または測定は、当技術分野で公知の各種方法によって行うことができる。抗体またはその抗原結合断片と抗原との間の結合は、検出可能な標識（放射線放出、蛍光、色の変化など）によって放出されるシグナルを検出できる装置を用いてモニタリングし得る。このような装置は、結合が生じたこと示すデータを提供するとともに、抗原に結合した抗体の量に関する表示も提供し得る。この装置（通常はコンピュータと接続される）は、バックグラウンド信号（例えば、抗原-抗体結合の非存在下で得られたシグナル）即ちバックグラウンドノイズと、特定の抗体-抗原結合によって得られたシグナルとの差を計算し得る。したがって、当該装置は抗原が検出されたか否かに関する表示および結論をユーザーに対し提供し得る。

【0422】

サンプルは、癌または骨疾患を罹患しているか、癌または骨疾患が疑われるか、または骨量減少が起きているか、骨量減少の起こる対象となり得る哺乳動物（例えば、ヒト）に

10

20

30

40

50

由来するものであり得る。そのサンプルは、哺乳動物または細胞培養上清から得られた組織サンプルであり得る。

【0423】

本発明によれば、当該サンプルは、哺乳動物から得られた血清サンプル、血漿サンプル、血液サンプル、または腹水であり得る。本明細書に記載する抗体または抗原結合断片は、配列番号2を検出し得るという有利を有する。

【0424】

前記方法は、配列番号2または配列番号2の変異体に結合した抗体または抗原結合断片によって形成される複合体を定量する工程を含み得る。

【0425】

本発明の抗体または抗原結合断片は、特に、骨疾患または癌の検出、診断、または治療に使用され得る。

【0426】

本発明の別の側面は、本明細書に記載する1種以上の抗体またはその抗原結合断片を含む1つ以上の容器を含み得るキットにも関連する。

【0427】

[核酸、ベクターおよび細胞]

抗体は通常、軽鎖および重鎖をコードする核酸配列を含むベクターから発現される軽鎖および重鎖が発現できる細胞においてつくられる。

【0428】

したがって、本願は、本明細書中に記載するCDR（CDRの変異体を含む）、軽鎖可変ドメイン（軽鎖可変ドメインの変異体を含む）、重鎖可変ドメイン（重鎖可変ドメインの変異体を含む）、軽鎖（軽鎖の変異体を含む）、重鎖（重鎖の変異体を含む）のいずれかをコードできる核酸を包含する。

【0429】

本発明の核酸の典型的な態様は、軽鎖可変ドメインであって、

a) 配列番号69、配列番号75、配列番号81、配列番号87、配列番号93、配列番号99、配列番号105、および配列番号111からなる群から選択されるCDRL1配列、

b) 配列番号70、配列番号76、配列番号82、配列番号88、配列番号94、配列番号100、配列番号106、および配列番号112からなる群から選択されるCDRL2配列、および／または

c) 配列番号71、配列番号77、配列番号83、配列番号89、配列番号95、配列番号101、配列番号107、および配列番号113からなる群から選択されるCDRL3配列、

を有する、該軽鎖可変ドメインをコードする核酸を含む。

【0430】

本発明によれば、前記核酸は、CDRL1、CDRL2、またはCDRL3のなかの少なくとも2種類のCDRを含み得る軽鎖可変ドメインをコードし得る。

【0431】

また本発明によれば、前記核酸は、CDRL1、CDRL2、およびCDRL3を1つずつ含み得る軽鎖可変ドメインをコードし得る。

【0432】

本発明はまた、重鎖可変ドメインであって、

a) 配列番号72、配列番号78、配列番号84、配列番号90、配列番号96、配列番号102、配列番号108、および配列番号114からなる群から選択されるCDRH1配列、

b) 配列番号73、配列番号79、配列番号85、配列番号91、配列番号97、配列番号103、配列番号109、および配列番号115からなる群から選択されるCDRH2配列、および／または

10

20

30

40

50

c) 配列番号 74、配列番号 80、配列番号 86、配列番号 92、配列番号 98、配列番号 104、配列番号 110、および配列番号 116 からなる群から選択される CDRH3 配列、

を有する、該重鎖可変ドメインをコードする核酸にも関連する。

【0433】

本発明はその別の側面において、軽鎖可変ドメインであって、

a) 配列番号 153、配列番号 154、配列番号 84、配列番号 96 および配列番号 102 からなる群から選択される CDR L1 配列と少なくとも 80% の配列同一性を有し得る CDR L1、

b) 配列番号 149、配列番号：150、配列番号：76、配列番号 82 および配列番号 106 からなる群から選択される CDR L2 配列と少なくとも 80% の配列同一性を有し得る CDR L2、または

c) 配列番号 151、配列番号 152、配列番号 77、配列番号 83、配列番号 95、配列番号 107 および配列番号 152 からなる群から選択される CDR L3 配列と少なくとも 80% の配列同一性を有し得る CDR L3、

を有する、該軽鎖可変ドメインをコードする核酸を提供する。

【0434】

本発明はさらに別の側面において、重鎖可変ドメインであって、

a) 配列番号 153、配列番号 154、配列番号 84、配列番号 96 および配列番号 102 からなる群から選択される CDRH1 配列と少なくとも 80% の配列同一性を有し得る CDRH1、

b) 配列番号 155、配列番号 156、配列番号 157、配列番号 73、配列番号 79、配列番号 85、配列番号 97、配列番号 103、配列番号 109 からなる群から選択される CDRH2 配列と少なくとも 80% の配列同一性を有し得る CDRH2、または

c) 配列番号 158、配列番号 74、配列番号 98、配列番号 104、配列番号 110 および配列番号 116 からなる群から選択される CDRH3 配列と少なくとも 80% の配列同一性を有し得る CDRH3、

を有する、該重鎖可変ドメインをコードする核酸を提供する。

【0435】

本発明によれば、前記核酸は、CDRH1、CDRH2、または CDRH3 のなかの少なくとも 2 種類の CDR を含み得る重鎖可変ドメインをコードし得る。

【0436】

本発明によれば、前記核酸は、CDRH1、CDRH2、および CDRH3 を 1 つずつ含み得る重鎖可変ドメインをコードし得る。

【0437】

本発明はまた、少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する抗体変異体をコードする核酸を包含する。

【0438】

本発明によれば、前記核酸が、少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する CDR をコードし得る。

【0439】

本発明によれば、前記核酸が、少なくとも 2 つの CDR において少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する CDR をコードし得る。

【0440】

本発明によれば、前記核酸が、3 つの CDR において少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を有する CDR をコードし得る。

【0441】

本発明によれば、前記核酸が、少なくとも 1 つの CDR において少なくとも 2 つの保存的アミノ酸置換を有する CDR をコードし得る。

【0442】

10

20

30

40

50

本発明によれば、前記核酸が、少なくとも2つのCDRにおいて少なくとも2つの保存的アミノ酸置換を有するCDRをコードし得る。

【0443】

本発明によれば、前記核酸が、3つのCDRにおいて少なくとも2つの保存的アミノ酸置換を有するCDRをコードし得る。

【0444】

本発明の別の側面は、配列番号37、配列番号41、配列番号45、配列番号49、配列番号53、配列番号57、配列番号61および配列番号65からなる群から選択される配列と少なくとも70%（少なくとも80%も含む）の配列同一性を有する軽鎖可変ドメインをコードする核酸に関連する。

10

【0445】

本発明のさらに別の側面は、配列番号39、配列番号43、配列番号47、配列番号51、配列番号55、配列番号59、配列番号63および配列番号67からなる群から選択される配列と少なくとも70%（少なくとも80%も含む）の配列同一性を有する重鎖可変ドメインをコードする核酸に関連する。

【0446】

本発明はさらに別の側面において、本明細書に記載する核酸を含むベクターに関連する。

【0447】

本発明によれば、そのベクターは発現ベクターであり得る。

20

【0448】

特定のホストにおいて挿入されたコード配列の転写および翻訳の制御のための要素を含むベクターは当技術分野で公知である。これらの要素は、例えば、エンハンサー、構成的および誘導性プロモーター、5'および3'非翻訳領域のような調節配列を含み得る。当業者によく知られている方法を用いて、そのような発現ベクターを構築することができる。これらの方法としては、*in vitro*組換えDNA技術、合成技術、および*in vivo*遺伝的組換え技術が挙げられる。

【0449】

本発明の別の側面は、本明細書に記載する核酸を含み得る、単離された細胞に関連する。

30

【0450】

単離された細胞は、それぞれ別々のベクター上または同じベクトルのいずれかに位置する軽鎖可変ドメインをコードする核酸および重鎖可変ドメインをコードする核酸を含み得る。単離された細胞は、それぞれ別々のベクター上または同じベクトルのいずれかに位置する軽鎖をコードする核酸および重鎖をコードする核酸を含み得る。

【0451】

本発明によれば、その細胞は、抗体またはその抗原結合断片を、発現、構築、および／または分泌する能力を有し得る。本発明は別の側面において、本明細書に記載する抗体を含み得る、および／または発現し得る細胞を提供する。

【0452】

本発明によれば、その細胞は、軽鎖可変ドメインをコードする核酸および重鎖可変ドメインをコードする核酸を含み得る。その細胞は、抗体またはその抗原結合断片を、発現、構築、および／または分泌する能力を有し得る。

40

【0453】

本発明の詳細をさらに概説する実施例を以下に提示する。

【0454】

[スクリーニングアッセイの典型的な実施形態]

本発明は別の側面において、卵巣癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞の増殖を阻害できる化合物を特定する方法を提供する。当該方法は、配列番号2の20番目のアミノ酸から259番目

50

のアミノ酸までの領域と少なくとも80%の配列同一性を有する領域を含むポリペプチド、または前記ポリペプチドを発現する細胞を、候補の化合物とともに準備する工程と、前記ポリペプチドの活性または発現を測定する工程とを含み得る。ポリペプチドの活性または発現の低下により、適切な阻害剤化合物を積極的に特定し得る。

【0455】

本発明によれば、前記候補化合物は、前記ポリペプチドに特異的に結合し得る。

【0456】

本発明によれば、前記候補化合物は、例えば抗体またはその抗原結合断片であり得る。

【0457】

本発明によれば、前記候補化合物は、例えば siRNA または アンチセンス であり得る。

【0458】

本発明の範囲から逸脱することなく他の種類のアッセイも実施することができる。

【実施例】

【0459】

[実施例1]

本実施例は、破骨細胞およびヒト組織のRNAサンプルにおける Siglec-15 の発現のパターンについて記載するものである。

【0460】

同定された最も有望な遺伝子の1つは、細胞表面のI型膜タンパク質、Siglec-15をコードするもので、AB-0326と命名した。この候補遺伝子は、最初にヒト破骨細胞ライブラリーから単離され、初代マウスの破骨細胞ならびにマウスRAW264.7細胞において、RT-PCRによって前駆細胞と比較したとき、同様のRANKL依存アップレギュレーションも確認された(Sooknananら、2007)。Siglec-15の組織発現プロファイルは、有効性の有無にもとづいて選択されたすべての標的に影響を及ぼした基準である、発現の特異性を決定するべく評価した。末梢血単核細胞(PBMNCs)を6名のヒトのドナーから得て、少なくとも14日間、破骨細胞分化培地(MCS-FおよびRANKL)で培養した。全RNAを、前駆体細胞(RANKL処置なし(図1、上の囲みの▲部分)から、または中間の時間間隔で(図1、上の囲みの一部分)単離した。各RNAサンプルの1μgを、Thermoscript逆転写酵素(Invitrogen, Burlington, ON)を製造元の指示に従って使用して、一本鎖cDNAに変換し、200倍に希釈し、Siglec-15転写物の断片を特異的に増幅するために前もって最適化されたPCR反応で使用した。PCR反応に用いたオリゴヌクレオチドの配列は、配列番号117および118に示す。図1の上の囲み(分化している破骨細胞)に示すように、Siglec-15転写物は、前駆細胞において、分化している破骨細胞と比較してはるかに低いレベルで発現していた。さらに、分化が進むにつれて、Siglec-15転写物のレベルが増加した。比較すると、周知の破骨細胞マーカー遺伝子、カテプシンKも(図1のCATK、分化している破骨細胞)破骨細胞の分化の間にアップレギュレートされていた。CATKメッセージを増幅するために使用したオリゴヌクレオチドは、配列番号119および120に表示する。対照として、ハウスキーピング遺伝子の特異的に増幅するプライマー、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH、図1の下囲み、分化している破骨細胞を参照)を増幅するプライマーを用いて、同じサンプルでPCR反応を実施した。当該PCR反応に使用されるGAPDH特異的プライマーの配列は配列番号121および122に示す。この後者の反応は、開始時に等しい量のRNAが、各サンプル中に存在したことを示している。ヒト正常組織からの全RNAは、民間ベンダー(Clontech, Mountain View, CA)から購入した。図1(上の囲み、正常組織)に示すように、Siglec-15は、ただ1つの組織(肺、レーン9)において弱く検出され、他のすべての組織サンプルからは全く検出されなかった。この事実は、分化破骨細胞にきわめて制限されている標的を識別する能力についての本出願人の発見した方法の強みを強調している。図1のレ

ーン番号は以下の組織に対応している。即ち、レーン番号と組織との対応は次の通りです：1、副腎；2、乳房；3、空腸；4、気管；5、肝臓；6、胎盤；7、大動脈；8、脳；9、肺；10、副腎皮質；11、食道；12、結腸；13、卵巣；14、腎臓；15、前立腺；16、胸腺；17、骨格筋；18、上大静脈；19、胃；20、小腸；21、心臓；22、卵管；23、脾臓；24、膀胱；25、子宮頸部；26、膵臓；27、回腸；28、十二指腸；29、甲状腺；30、睾丸；レーン10と11の間およびレーン20と21の間の空白レーンは、ネガティブコントロール（cDNAなし）を表す。本出願人による試験の結果は、S i g l e c - 1 5 は、分化している破骨細胞でアップレギュレートされ、実質的にすべての正常ヒト組織には存在しないことを明示しており、かつ S i g l e c - 1 5 に対する抗体は、非標的組織で相互作用が有意に低下することを示唆している。

10

【0461】

追加の発現プロファイリングの研究を行って、癌の適応症における S i g l e c - 1 5 の発現を決定した。当業者であれば、S i g l e c - 1 5 遺伝子がこの種の適応で発現されたことが判明した場合、本発明の抗体が癌における有用性を有し得ることを認識するであろう。この研究に取り組むべく、PCRベースの方法を、9種の癌から単離された癌細胞株における S i g l e c - 1 5 転写物の発現パターンを決定するべく適合させた。細胞株が示す癌の種類は、白血病、中枢神経系の癌、乳癌、結腸癌、肺癌、悪性黒色腫、卵巣癌、前立腺癌、腎癌（表4を参照）である。これらのRNAサンプルは、NCI/NIHのDTP（Developmental Therapeutics Program）から入手した。NCIから得られた全RNAサンプルから増幅した同じRAMP RNAサンプルを使用して、500ngのRNAを、上記のように一本鎖cDNAに変換した。cDNA反応物を希釈して、反応物の1/200が各PCR実験に使用されたようにした。PCRは、MJ Research製のDNA Engine Tetradにおいて、Qiagen（Mississauga, ON）製のHot-Start Taqポリメラーゼを用いて96穴プレートで行った。反応混合物の半分を、1.2%アガロース/エチジウムブロミド染色ゲル上にロードし、増幅産物をUV光で可視化した。等量のRNAが各反応に用いられたことを確認するため、RNAのレベルをGAPDHの発現でモニタリングした。

20

【0462】

30

【表 6 A】

表 4 - N C I - 6 0 細胞パネルの癌細胞株のリスト

細胞株	癌の種類
K-562	白血病
MOLT-4	白血病
CCRF-CEM	白血病
RPMI-8226	白血病
HL-60(TB)	白血病
SR	白血病
SF-268	中枢神経系の癌
SF-295	中枢神経系の癌
SF-539	中枢神経系の癌
SNB-19	中枢神経系の癌
SNB-75	中枢神経系の癌
U251	中枢神経系の癌
BT-549	乳癌
HS 578T	乳癌
MCF7	乳癌
NCI/ADR-RES	乳癌
MDA-MB-231	乳癌
MDA-MB-435	乳癌
T-47D	乳癌
COLO 205	結腸癌
HCC-2998	結腸癌

10

20

【 0 4 6 3 】

30

【表 6 B】

HCT-116	結腸癌
HCT-15	結腸癌
HT29	結腸癌
KM12	結腸癌
SW-620	結腸癌
A549/ATCC	肺非小細胞癌
EKVX	肺非小細胞癌
HOP-62	肺非小細胞癌
HOP-92	肺非小細胞癌
NCI-H322M	肺非小細胞癌
NCI-H226	肺非小細胞癌
NCI-H23	肺非小細胞癌
NCI-H460	肺非小細胞癌
NCI-H522	肺非小細胞癌
LOX IMVI	メラノーマ
M14	メラノーマ
MALME-3M	メラノーマ
SK-MEL-2	メラノーマ
SK-MEL-28	メラノーマ
SK-MEL-5	メラノーマ
UACC-257	メラノーマ
UACC-62	メラノーマ
IGROV-1	卵巣癌
OVCAR-3	卵巣癌
OVCAR-4	卵巣癌
OVCAR-5	卵巣癌
OVCAR-8	卵巣癌
SK-OV-3	卵巣癌
DU-145	前立腺癌
PC-3	前立腺癌
786-O	腎癌
A498	腎癌
ACHN	腎癌
CAKI-1	腎癌

【0464】

図2に示すように、Siglec-15は、いくつかの癌のタイプ、具体的には卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、および前立腺癌において発現されることが判明した。実際、Siglec-15は、白血病を除き、これらのサンプルが示すほぼすべての癌の適応で検出された。この結果は、Siglec-15に対する抗体が癌疾患における用途を有し得ることを示唆している。

【0465】

実施例2（下記参照）に記載の抗体は、免疫ブロッティングによる細胞ライセート中のSiglec-15の検出のためにも使用できる。ヒトのSiglec-15のcDNAの全オープンリーディングフレームを、哺乳動物発現ベクターのCMVプロモーターの下

流にクローニングした (cDNA-Siglec-15)。この構築物、またはSiglec-15をコードしていない対照の空ベクターを、A375メラノーマ細胞にトランスフェクトした。A375メラノーマ細胞はSiglec-15タンパク質を低い内生レベルで発現する。安定したトランスフェクション体のプールを、G418を用いた選択により単離した。Siglec-15をトランスフェクトしたA375細胞(+)および対照のA375細胞(-)からの細胞ライセートを、モノクローナル抗体E6を用いた免疫ブロッティングで解析した。図13Aに示すように、抗体は、Siglec-15をトランスフェクトした細胞では35kDaの単一バンドを検出したが、対照の細胞では検出しなかった。これは、一次アミノ酸配列 (http://www.bioinformatics.org/sms/prot_mw.html) に基づくSiglec-15の予測分子量(35.62kDa)と、極めて近い値となっている。ライセートを抗β-アクチン抗体を用いて免疫ブロッティングにより解析し、各レーンには全量が同程度のライセートがロードされたことも確認した。この結果は、免疫ブロッティングにより、抗体E6が、クローニングされたSiglec-15のcDNAをトランスフェクトした細胞からのライセートにおいて過剰発現されたSiglec-15を非常に特異的な形で認識することを示している。

【0466】

分化したヒトPBMNC(図1)におけるSiglec-15のmRNAレベルの増加が、Siglec-15タンパク質レベルの増加に対応することを確認するため、MCSF単独で処理したヒトPBMNC(非分化、C)、またはMCSFとRANKLで処理したヒトPBMNC(分化、D)からライセートを調製した(図13B)。また、未処理のままのRAW264.7細胞(非分化、C)、またはRANKLで処理したRAW264.7細胞(分化、D)からもライセートを調製した(図13C)。RANKLによって破骨細胞の分化を誘導すると、RAW264.7細胞がSiglec-15のmRNAレベルをアップレギュレートすることは以前に明らかにされている(Sooknana、2007)。抗体E9を用いた免疫ブロッティングによるこれらのライセートを解析によって、RT-PCRの研究により予測されたように、破骨細胞への分化の際にPBMNCおよびRAW264.7細胞の両方においてSiglec-15タンパク質レベルが劇的に上昇することを証明される(図13Bおよび図13C)。

【0467】

NCI60細胞パネルからのmRNAのRT-PCR解析(図2)により、中枢神経系由来の癌細胞株が特に高い割合でSiglec-15を発現することが示されたが、最近のマイクロアレイを用いた研究で、NCI60細胞パネルの一部ではないが、Siglec-15のmRNAを非常に高いレベルで発現する、U87神経膠芽腫を含む癌細胞株の組がいくつか発見された(Shankavaram、2007)。したがって本発明者は、Siglec-15タンパク質の内因性発現はU87細胞で検出できるか否か試験した。確かに、U87細胞ライセートの免疫ブロッティングによって、Siglec-15のサイズのタンパク質が検出される。このタンパク質を同定するために、U87細胞に、Siglec-15を標的とする低分子干渉RNA(sRNA)のプール(SIGLEC15 siGENOME SMARTpool、Dharmacon)をトランスフェクトし(+)、若しくは同細胞に、対照の、標的なしのsRNAプールをトランスフェクトし(-)、72時間成長させて、その後細胞を溶解した。Siglec-15の特徴と一致して、標的のあるsRNAでの処理は、標的のない対照と比較して、このタンパク質の発現量の減少をもたらした(図13D)。Siglec-15が癌細胞の細胞表面で見出されるか否かを調べるため、本発明者はsRNAで処理したU87細胞をフローサイトメトリーによって解析した。生細胞を氷上に置き、Siglec-15抗体E9で染色(実施例2を参照)するか、もしくは抗体が細胞外の抗原とは結合できるが、細胞内の抗原とは結合できない条件の下で、アイソタイプの対照の抗体で染色した。標的のあるsRNAで処理すると、抗体E9の結合が減少したが、対照の抗体は結合に影響がなかった(図13E)。以上の結果は、Siglec-15は癌細胞で発現し、Siglec

c-15は抗体の結合のために細胞表面にアクセス可能であることを証明している。

【0468】

〔実施例2〕

この実施例は、Siglec-15に結合するモノクローナル抗体のファミリーに関する詳細を提供する。

【0469】

モノクローナル抗体を生成するため、組換え体ヒトSiglec-15を、大規模過渡的トランスフェクション技術を用いて293E細胞で産生させた(Durocherら, 2002; Durocher, 2004)。配列番号2の20番目のアミノ酸から259番目のアミノ酸までの領域をコードするcDNAを、BamHI制限部位(配列番号124)を組み込んだフォワードプライマーとNotI制限部位(配列番号125)を組み込んだリバープライマーとを用いたPCRによって、増幅した。得られたPCR産物をBamHIおよびNotIで消化して、断片を発現ベクターpYD5(配列番号126)に連結し、これを同様に同じ制限酵素で消化してpYD5-0326と呼ばれるベクターを作製した。pYD5発現プラスミドは、融合タンパク質の生成を可能とするヒトFcドメインのコード配列とともに、培養培地中への融合タンパク質の分泌を可能とするIgG1シグナルペプチドをコードする配列を含む。各1mlの細胞について、1μgの発現ベクター(pYD5-0326₂₀₋₂₅₉と呼ばれる)を、1ml当たり1.5-2.0百万細胞の密度まで懸濁液中で増殖させた2936E細胞にトランスフェクトした。使用されたトランスフェクション試薬は、ポリエチレンジイミン(PEI)であって、1:3のDNA:PEI比でDNAを含むもの(直鎖状、MW25000、型番23966、Polysciences, Inc., Warrington, PA)であった。細胞の増殖を5日間継続させ、その後、培養液を、組換え体Fc-0326₂₀₋₂₅₉融合タンパク質の精製のために回収した。そのタンパク質を、製造元(Sigma-Aldrich Canada Ltd., Oakville, ON)の指示通りにプロテインA-アガロースを用いて精製した。精製したFc-0326₂₀₋₂₅₉(Fc-Siglec-15₂₀₋₂₅₉として示す)のサンプルを示す代表的なポリアクリルアミドゲルを図3に示す。

【0470】

Siglec-15に結合する抗体を、Biositeのファージディスプレイ技術を用いて生成した。これらの抗体を生成するための当該技術と方法の詳細な説明は、米国特許第6,057,098号明細書に記載されている。簡単に述べると、当該技術は、抗原結合フラグメント(Fab)を表示するファージライブラリーのストリンジェントなパンニングを利用している。何回かパンニングを反復した後、Siglec-15に高い親和性と特異性をもって結合した軽鎖および重鎖可変領域を含む組換え体Fabが豊富に存在するライブラリー(Omnicloneと称する)を得た。このライブラリー(より正確にはOmniclone AL0025Z1と記号表示されたもの)から、96の独立した組換え体モノクローナルFabを大腸菌から調製し、Siglec-15との結合の有無について試験した。

【0471】

個々のモノクローナル抗体の相対的な結合度を測定するためには、組換え体ヒトFc-Siglec-15₂₀₋₂₅₉を、大規模過渡的トランスフェクション技術を用いて293E細胞で産生させた(Durocherら, 2002; Durocher, 2004)。モノクローナル調製物の96穴マスタープレートは、各ウェルに異なる濃度の精製された抗Siglec-15 Fabが含まれていた。2つ目のストックマスタープレートは、Fabを最終濃度10mg/mlに希釈することによって調製し、これ以降のすべての希釈はELISA測定のために行った。モノクローナル調節物へのFc-Siglec-15の結合を行うために、Fc-Siglec-15₂₀₋₂₅₉をNHS-ビオチン(Pierce, Rockford, IL)でビオチン化し、ウェル当たり10ngをストレプトアビジン96穴プレートに塗布した。それぞれ1ngのFabモノクローナル調製

物を各ウェルに添加し、室温で30分間インキュベートした。結合した抗体は、TMB液基質（Sigma-Aldrich Canada Ltd., Oakville, ON）の存在下でHRPコンジュゲートマウス抗κ軽鎖抗体で検出し、測定値読み出しは、マイクロタイタープレートリーダーにおいて450nmで行った。図4Aに示すように、合計53個の（濃灰色で強調表示した）モノクローナル抗体は、このアッセイにおいて有意な結合を示した（ >0.2 任意のOD₄₅₀単位）。抗体は、Siglec-15に対して最も高い親和性での結合を増強するべく、意図的に1ウェル当たり1ngに希釈した。抗体はFc融合タンパク質を用いて生成されたので、当該モノクローナル抗体は、ビオチン化Fcドメインのみを用いてELISAにおいても試験した。図4Bに示すように、17個の抗体が、Fc-Siglec-15₂₀₋₂₅₉のFc部分と相互作用した（薄灰色で強調表示した）。太字で示された値（図4を参照）は、典型的な抗体25A1、25B4、25B8、25C1、25D8、25E5、25E6、25E9を表す。これらのデータから、抗体の結合はウェルごとに異なっていることも明らかとなったが、これは抗体がSiglec-15に対して異なる親和性を有することを示している。

【0472】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、該抗原に特異的に効率的に結合できることを本出願人は指摘した。実際、1ngの抗体が、500ng未満の配列番号2に結合できることが判明した。

【0473】

Siglecファミリーに属する他の2種のメンバー、CD33およびSiglec-2への結合を試験することによって、これらのSiglec-15の抗体の特異性を評価した。CD33（GeneBank（登録商標）登録番号NM_001772.3）は、SiglecのCD33関連ファミリーの原型であって、ヒトタンパク質の中で、これらのSiglecはSiglec-15との最も高いアミノ酸配列の類似性を共有する（それらの2つのそれぞれのN末端Ig様ドメインの間には29%程度の配列同一性がある）。Siglec-2（GeneBank（登録商標）登録番号NM_001771.3）は、類似性は比較的小さい（23%の配列同一性）が、Siglec-15と同様に、そして他のほとんどのSiglecとは異なり、α2-6結合したシアル酸コンジュゲートへの結合に対して顕著なために顕著な選好性を有している（Angata 2007, Blixt 2003）。Siglec-2およびCD33のVセットおよびN末端C2セットIg様ドメインを有する配列（抗体産生のための抗原として用いられるSiglec-15の領域に対応する）を、ヒトPBMCのcDNAライブラリーからpYD5ベクターにクローニングした。これらの構築物をトランスフェクトした293-6E細胞の上清、および非トランスフェクト293-6E細胞の上清、もしくはpYD5-Siglec-15またはpYD5空ベクターでトランスフェクトをしたものの上清を、抗Fc抗体で免疫ブロッティングにより解析して、発現レベルを評価した（図14A）。これらの構築物をトランスフェクトしたことにより、予想されたサイズのFc標識タンパク質の発現がもたらされた（図14A）。これらの上清のアリコートを実験ドットブロッティングによりPVDF（登録商標）に吸着させ（Bio-dot装置、Bio-Rad）、かつ代表的なSiglec-15モノクローナル抗体の結合を評価した（多くの抗体がSiglec-15の原型、非変性形態にのみ反応するためにウェスタンブロットを使用しなかった）。対照としての、抗Fcおよび抗Siglec-15オムニクローナル（omniclonal）抗体は、すべての4つのFc標識タンパク質と反応した（図14B）。それに対して、モノクローナル抗体D8およびE9は、Fc単独、Siglec-2またはCD33に検出可能な結合を示さないが、このことはD8およびE9がSiglec-15に対して高度に特異的であることを示している。

【0474】

〔実施例3〕

この実施例では、Fabを完全IgG2キメラモノクローナル抗体に変換するために使用される方法が開示されている。方法論のスキームは、図5に示されている。

【0475】

抗原の生物学的機能を検証するべく *in vitro* および *in vivo* 試験を実施するために、Fabに含まれる軽鎖および重鎖可変領域を完全な抗体スカフォールドに移し、マウスーヒトキメラIgG2sを生成した。i) Fab発現ベクターの上流の元の細菌のシグナルペプチド配列が哺乳動物のシグナルペプチドに置換され、かつii)のマウス抗体の軽鎖および重鎖の定常領域がヒト定常領域に置換されるように、免疫グロブリン軽鎖および重鎖の両方のための発現ベクターを構築した。この移動を実現するための方法は、当業者に周知の標準的な分子生物学的手法を使用している。この方法論の概要は本明細書に記載されている（図5参照）。

【0476】

軽鎖発現ベクター：pTTVH8Gと呼ばれ（Durocherら、2002）、239E過渡的トランスフェクションシステムで使用されるように設計された、既存の哺乳動物発現プラスミドを、マウス軽鎖可変領域に対応するように変更した。得られたマウスーヒトキメラ軽鎖は、マウス可変領域、それに続くヒトκ定常ドメインを含んでいた。ヒトκ定常領域をコードするcDNA配列は、プライマーOGS1773とOGS1774（それぞれ配列番号127および128）を用いてPCRにより増幅した。ヒトκ定常領域のヌクレオチド配列および対応するアミノ酸配列は、それぞれ配列番号129および130に示されている。得られた321塩基対のPCR産物は、pTTVH8Gの、ヒトVEGF Aのシグナルペプチド配列（NM_003376）のすぐ下流に連結した。このクローニングステップにより、マウス軽鎖可変領域をコードするcDNAの正確な配置を可能にする独特の制限エンドヌクレアーゼ部位も配置させた。pTTVK1と呼ばれる最後の発現プラスミドの配列を配列番号131に示す。表2に開示された配列に基づいて、抗体25A1、25B4、25B8、25C1、25D8、25E5、25E6および25E9（それぞれ配列番号37、41、45、49、53、57、61、および65）の軽鎖可変領域に特異的なPCRプライマーを、その5'末端に、VEGFシグナルペプチドの最後の20塩基対と同一の配列が組み込まれるように設計した。これらのプライマーの配列は、25A1について配列番号132に、25B4、25B8、25C1、25D8、および25E9について配列番号133に、25E5について配列番号134に、25E6について配列番号135に、それぞれ示されている。3'末端が同一であったので、すべての4つの軽鎖可変領域を増幅するために同じリバースプライマーを用いた。このプライマー（配列番号136）には、その3'末端に、ヒトκ定常ドメインの最初の20塩基対と同一の配列が組み込まれている。PCR断片および消化されたpTTVK1の両方を、T4DNAポリメラーゼの3'-5'エキソヌクレアーゼ活性で処理し、アニールすることによって結合された相補的な両端を得た。アニーリングの反応物はコンピテントな大腸菌に形質転換し、発現プラスミドを配列決定によって確認して、マウスの軽鎖可変領域が正しくpTTVK1発現ベクターに挿入されたことを確認した。この軽鎖発現プラスミドの構築に使用される方法は、元のFabライブラリーに含まれているすべての抗Siglec-15抗体に適用できることを、当業者であれば容易に認識するはずである。

【0477】

重鎖発現ベクター：重鎖免疫グロブリンを生成するための発現ベクターは、軽鎖免疫グロブリンの産生のための上記のpTTVK1と同様の方法で設計されている。キメラ抗Siglec-15抗体の場合には、安定したブロック抗体の好ましい型であるIgG2のアイソタイプが必要であった。この目的のために、ヒトIgG2免疫グロブリンの定常領域（CH1、CH2、およびCH3）を増幅し、既存のIgG1発現ベクターに連結した。詳細な方法は、本明細書に記載されている。ヒトIgGシグナルペプチド配列とともに、IgG1のヒトFcドメインのCH3領域を含むプラスミドpYD11（Durocherら、2002）を、ヒト定常CH1領域をコードするcDNA配列を連結することによって改変した。独特の制限エンドヌクレアーゼ部位を含むように設計されたPCRプライマーOGS1769とOGS1770（配列番号137および138）を用いて、配列番号139および140に示す核酸配列および対応するアミノ酸配列を含む、ヒト

10

20

30

40

50

I g G 1 の C H 1 領域を増幅した。ヒト C H 1 の 3 0 9 塩基対の断片を I g G K シグナルペプチド配列のすぐ下流に連結した後、得られたプラスミドを制限酵素 A p a I および N s i I で消化した。これらの酵素は、I g G 1 の定常領域配列が、発現ベクターのヒト I g G 2 の配列に置換されることを可能にする、全く同じ位置において定常領域の I g G 1 および I g G 2 の c D N A の両方を消化する。ヒト I g G 2 定常ドメインをコードする c D N A は、市販のものを発売元 (O p e n B i o s y s t e m s , H u n t s v i l l e , A L) から入手した。I g G 2 の免疫グロブリン重鎖を発現するために使用される最終的なプラスミドは p Y D 1 9 と記号表示するものとし、その配列は配列番号 1 4 1 に示す。選択された重鎖可変領域がこのベクターに連結されている場合、得られたプラスミドは、ヒト定常領域とともに完全な I g G 2 重鎖免疫グロブリンをコードしている。表 2 に開示された配列に基づいて、抗体 2 5 A 1、2 5 B 4、2 5 B 8、2 5 C 1、2 5 D 8、2 5 E 5、2 5 E 6 および 2 5 E 9 (それぞれ配列番号 3 9、4 3、4 7、5 1、5 5、5 9、6 3、および 6 7) の重鎖可変領域に特異的な P C R プライマーを、その 5' 末端に、I g G K シグナルペプチドの最後の 2 0 塩基対と同一の配列が組み込まれるように設計した。これらのプライマーの配列は、2 5 A 1 について配列番号 1 4 2 に、2 5 B 4 および 2 5 D 8 について配列番号 1 4 3 に、2 5 B 8、2 5 C 1、および 2 5 E 9 について配列番号 1 4 4 に、2 5 E 5 について配列番号 1 4 5 に、2 5 E 6 について配列番号 1 4 6 に、それぞれ示されている。3' 末端が同一であったので、すべての 4 つの重鎖可変領域を増幅するために同じリバースプライマーを用いた。このプライマー (配列番号 1 4 7) には、その 3' 末端に、ヒト C H 1 定常ドメインの最初の 2 0 塩基対と同一の配列が組み込まれている。P C R 断片および消化された p Y D 1 9 の両方を、T 4 D N A ポリメラーゼの 3' - 5' エキソヌクレアーゼ活性で処理し、アニールすることによって結合された相補的な両端を得た。アニーリングの反応物はコンピテントな大腸菌に形質転換し、発現プラスミドを配列決定によって確認して、マウスの重鎖可変領域が正しく p Y D 1 9 発現ベクターに挿入されたことを確認した。この重鎖発現プラスミドの構築に使用される方法は、元の F a b ライブラリーに含まれているすべての抗 S i g l e c - 1 5 抗体に適用できることを、当業者であれば容易に認識するはずである。

【0478】

2 9 3 E 細胞におけるヒト I g G 2 s の発現：上述のように調製した、免疫グロブリンの軽鎖および重鎖をコードする発現ベクターは、過渡的トランスフェクションシステム (D u r o c h e r ら, 2 0 0 2) を用いて 2 9 3 E 細胞で発現された。両方の免疫グロブリン鎖のアミノ末端に組み込まれたシグナルペプチドによって、成熟した I g G 2 の細胞を無血清培養液から回収した。軽鎖および重鎖発現ベクターを同時トランスフェクトするために使用される方法は、本明細書中に記載されている。各 1 m l の細胞について、軽鎖および重鎖発現プラスミドの両方の組み合わせ 1 μ g を、1 m l 当たり 1 . 5 - 2 . 0 百万細胞の密度まで懸濁液中で増殖させた 2 9 3 E 細胞にトランスフェクトした。軽鎖プラスミドと重鎖プラスミドの比率は、組織培地において抗体の最大収率が達成できるように最適化したが、その比率は 9 : 1 (L : H) であることが判明した。使用されたトランスフェクション試薬は、ポリエチレンイミン (P E I) であって、1 : 3 の D N A : P E I 比で D N A を含むもの (直鎖状、MW 2 5 0 0 0、型番 2 3 9 6 6、P o l y s c i e n c e s , I n c . , W a r r i n g t o n , P A) であった。細胞の増殖を 5 日間継続させ、その後、培養液を、I g G 2 キメラモノクローナル抗体の精製のために回収した。そのタンパク質を、製造元 (S i g m a - A l d r i c h C a n a d a L t d . , O a k v i l l e , O N) の指示通りにプロテイン A - アガロースを用いて精製した。

【0479】

選択されたモノクローナル抗体の相対的結合親和性をより正確に決定するために、F a b n o 濃度を漸次増加させて、ビオチン標識した F c - S i g l e c - 1 5₂₀₋₂₅₉ とともにインキュベートした。1 0 n g のビオチン標識した F c - S i g l e c - 1 5₂₀₋₂₅₉ を、ストレプトアビジンマイクロタイタープレートに塗布し、図 6 に示すように、濃度を漸次増加させた F a b またはキメラ I g G 2 モノクローナル抗体 2 5 B 4、2

5 B 8、2 5 C 1、2 5 D 8、2 5 E 6、および2 5 E 9を添加した。図6に示すように、2 5 B 4、2 5 B 8、2 5 C 1、2 5 D 8、2 5 E 6、および2 5 E 9キメラI g G 2モノクローナル抗体の結合は、F a b sと非常に類似していた。この結果から、マウスF a bからヒトI g G 2の骨格へ可変ドメインを転置させることが、軽鎖および重鎖可変領域のS i g l e c - 1 5結合を与える能力に、あまり大きな影響を及ぼさないことが判明した。

【0480】

〔実施例4〕

この実施例では、破骨細胞の分化を阻害するための抗S i g l e c - 1 5抗体の使用が開示されている。

【0481】

ヒトPBMNCを(A l l C e l l s、E m o r y v i l l e、C A) 5% C O₂ 雰囲気中で37℃で24時間、適切な培地に入れた。細胞を1ml当たり100000細胞の細胞密度で96穴プレートに播種し、35ngのM-C S Fおよび30ng/mlのR A N K Lの存在下で、濃度を漸次増加させた(0.01mg/ml-100mg/ml)抗S i g l e c - 1 5 I g G 2キメラモノクローナル抗体で処理した。未分化前駆細胞をM-C S Fのみで処理した対照ウェルは、非S i g l e c - 1 5結合I g G 2で処理した。細胞を固定してT R A P染色し、多核細胞をカウントし、撮影(倍率40倍)した。図7に示すように、m A b s標的S i g l e c - 1 5は、用量依存的にヒトの破骨細胞の分化を効果的に阻害する可能性がある。破骨細胞分化の阻害は、試験された典型的なS i g l e c - 1 5抗体のすべてで程度の違いはあれ観察されたが、最も活性なモノクローナル抗体は、2 5 B 8、2 5 E 6、2 5 E 9であった。対照のキメラI g G 2で処理した細胞は阻害されなかった(図8の右下囲い、対照I g G 2参照)。この結果は、R N A干渉によるS i g l e c - 1 5発現のノックダウンがヒト破骨細胞分化の阻害を引き起こしたことを示した、S o o k n a n a n (S o o k n a n a nら、2007)に開示する実験結果と完全に一致している。

【0482】

分化した破骨細胞の生物学的機能は、骨を再吸収することであり、したがって、破骨細胞の活性は、S i g l e c - 1 5を標的とする抗体によっても阻害されるはずである。これを試験するため、ヒトPBMNCを合成リン酸カルシウム基板ディスク(B D B i o C o a t (登録商標) O s t e o l o g i c (登録商標) M u l t i T e s tスライド)上に播種し、上記と同様の条件で培養した。前駆細胞を、対照アイソタイプI g G、または2 5 D 8または2 5 E 9抗S i g l e c - 1 5抗体のいずれかの存在下で、M-C S FとR A N K Lで処理した。抗体の濃度は1mg/mlまたは10mg/mlであった。一旦は完全成熟した破骨細胞は、対照の未処置ウェル中に存在した。細胞をディスクから掻き取り、残りの骨基質には、カルシウムミネラルを茶色に発色させる標準フォンコッサ染色を施した。図12に示すように、未分化破骨細胞を含むウェル(左上の囲み、M-C S F)は、表面に白い斑点(分解ピット)として表れる基質の分解の証拠を全く示さなかった。予想通り、R A N K Lで処理した細胞は、顕著に分解の証拠を示しており、表面には多くのピットが含まれていた(左下の囲み、M-C S F+R A N K L)。同様に、対照I g Gで処理した破骨細胞も骨基質を分解することができ、これらの対照の抗体が非特異的に破骨細胞活性を阻害しなかったことが明らかになった。分化破骨細胞を抗S i g l e c - 1 5抗体で処理した場合は、2 5 E 9の候補は、このアッセイにおいて効果的に骨の分解を抑制した(図12、右の囲み)。これに対して、2 5 D 8抗体は、このアッセイにおいて分解を阻害しなかった(図12、中央右の囲みを参照)。まとめると、これらの結果(図7および図12)は、S i g l e c - 1 5に対する抗体が、破骨細胞の分化および骨の分解活性を阻害することを実証している。

【0483】

並列実験で、マウスPBMNCを同様の方法で処理した。図8に示すように、抗S i g l e c - 1 5キメラ抗体は、2 5 B 8、2 5 E 6、および2 5 D 8で記号表示されるキメ

ラmAbsに代表されるマウスの破骨細胞の分化を阻害する可能性がある。この結果により、ヒトのSiglec-15オルソログに対して生成されたモノクローナル抗体は、マウスのSiglec-15タンパク質に対しても同様に交差反応性であることが確認された。このことはELISAを用いて実験的に検証された。マウスSiglec-15cDNAの断片であって、21番目のアミノ酸から256番目のアミノ酸までの領域に対応するものを、配列番号159および160に示す配列を含むオリゴヌクレオチドを用いて増幅した。293-6E細胞での発現のためのヒトのSiglec-15断片について説明したのと同様に、このPCR断片をpYD5発現ベクターに連結した。組換え体Fc-マウスSiglec-15を、プロテインAアフィニティークロマトグラフィーを用いて精製した。

10

【0484】

典型的な抗Siglec-15モノクローナルFab(25C8と記号表示されるもの)を、Fc-ヒト(h)Siglec-15₂₀₋₂₅₉またはFc-マウス(M)Siglec-15₂₁₋₂₅₆のいずれかとともにインキュベートした。この結果(図9を参照)から、

ヒトのSiglec-15に対して生成された抗体の結合活性はまた、マウスのSiglec-15オルソログとも交差反応することを示している。

【0485】

上記の結果は、破骨細胞におけるSiglec-15の重要性を明確に示している。破骨細胞前駆細胞においてSiglec-15が減衰すると、多核成熟破骨細胞を形成する能力が著しく損なわれた細胞が生ずる。したがって、阻害剤(特に治療用モノクローナル抗体)でSiglec-15を標的とすることは、急性転移性骨癌または慢性骨粗鬆症による骨の分解の直接の原因となる細胞をターゲティングする非常に選択的な方法であることは明らかであろう。

20

【0486】

[実施例5]

この実施例は、シアル酸(SA)コンジュゲートへのSiglec-15の結合をブロックする抗Siglec-15抗体の能力に関するものである。

【0487】

シアル酸糖タンパク質の形成には、適切な破骨細胞が必要である(Takahataら、2007)。Siglec-15はシアル酸に結合するが、この結合はアミノ酸残基R143に依存している(Angata, 2007)。Siglec-15抗体が破骨細胞形成を阻害するメカニズムの1つには、R143を包含するエピトープとの相互作用に因るその標的のシアル酸結合機能の阻害が含まれている可能性がある。この可能性を確かめるために、本発明者は、組換え体Neu5Aca2-6-GalNAc-PAA-ビオチン(Glycotech, Rockville, MD)の結合をブロックするSiglec-15の能力を調べるべくELISAベースのアッセイを行った。Neu5Aca2-6-GalNAc-PAA-ビオチンは、好ましいSiglec-15のシアル酸を含む結合の相手である(Angata, 2007)。Fc-Siglec-15をプロテインA被覆したマイクロタイタープレート上に固定化し、次に別のシグレック-15抗体を塗布した。インキュベーションと非結合抗体の除去の後、Neu5Aca2-6-GalNAc-PAA-ビオチンを追加した。抗体がシアル酸結合部位をブロックしていない場合にのみ、このビオチン化プローブはシSiglec-15と複合体を形成しているはずである。ビオチン化プローブの存在は、標準的な方法によりストレプトアビジン-HRPを用いて検出した。図15に示すように、抗Siglec-15モノクローナルおよび25D8抗体は、非標的の対照の抗体と比較して、シアル酸の結合を阻害する。抗体E6も明確であるが、比較的目立たない程度の効果を有する。抗体E9はほとんど効果がなく、これはE9のエピトープがシアル酸結合部位と重複していないことを示している。対照の抗体を添加しても(図15、ctl IgG2を参照)、Siglec-15シアル酸部分の結合を防止できなかった。Fcのみをプレートに塗布したとき、SAを取り除いたと

30

40

50

きに結合が検出されなかったことから（図15、SA無、Fc+SA、およびFcのみ、の各場合参照）、この方法は、Siglec-15の存在に大きく依存していた。以上の結果から、Siglec-15モノクローナル抗体が、R143に近い相互作用に起因するとみられるが、Siglec-15のシアル酸結合機能を、程度の多少はあれ阻害し得ることが証明された。この特性は、破骨細胞形成に対するその影響において重要である可能性がある。

【0488】

[参考資料]

CITED REFERENCES

- Frost H.M., 1964 Dynamics of Bone Remodelling. In: Bone Biodynamics, Little and Brown, Boston, MA, USA pp.315; 10
- Baron, R., Anatomy and Biology of Bone Matrix and Cellular Elements, In: Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, Fifth Edition 2003, American Society for Bone and Mineral Research, Washington DC, pp .1-8;
- Jilka, R. L. et al., "Increased Osteoclast Development After Estrogen Loss: Mediation by Interleukin-6", Science 257: 88-91 (1992).
- Poli, V. et al., "Interleukin-6 deficient mice are protected from bone loss caused by estrogen depletion", EMBO J 13: 1189-1196 (1994).
- Srivastava, S. et al., "Estrogen Blocks M-CSF Gene Expression and Osteoclast Formation by Regulating Phosphorylation of Egr-1 and Its Interaction with Sp-1", J Clin Invest 102: 1850-1859 (1998). 20
- de Vernejoul, M. C., "Dynamics of Bone Remodelling: Biochemical and Pathophysiological Basis", Eur J Clin Chem Clin Biochem 34: 729-734 (1996).
- McMillan, S.J. and P.R. Crocker, "CD33-related sialic-acid-binding immunoglobulin-like lectins in health and disease", Carbohydr Res, 343(12): p. 2050-6 (2008).
- Crocker, P.R., J.C. Paulson, and A. Varki, Siglecs and their roles in the immune system. Nat Rev Immunol, 7(4): p. 255-66 (2007).
- Angata, T., et al., Siglec-15: an immune system Siglec conserved throughout vertebrate evolution. Glycobiology, 17(8): p. 838-46 (2007). 30
- Sooknanan, R. R., "Polynucleotides and polypeptide sequences involved in the process of bone remodelling", PCT/CA2007/000210 (2007).
- Takahata, M., et al., Sialylation of cell surface glycoconjugates is essential for osteoclastogenesis. Bone, 41(1): p. 77-86 (2007).
- Ellis, G. K. et al., "Randomized Trial of Denosumab in Patients Receiving Adjuvant Aromatase Inhibitors for Nonmetastatic Breast Cancer", J Clin Oncol 26: 4875-4882 (2008).
- Buechler J, Valkirs G, Gray J. "Polyvalent display libraries." U.S. 6,057,098 (2000). 40
- Durocher Y, Kamen A, Perret S, Pham PL. "Enhanced production of recombinant proteins by transient transfection of suspension-growing mammalian cells." Canadian patent application No. CA 2446185 (2002).
- Durocher Y. "Expression vectors for enhanced transient gene expression and mammalian cells expressing them." U.S. patent application No. 60/662,392 (2004).
- Shankavaram, U. T. et al., "Transcript and protein expression profiles of the NCI-60 cancer panel: an integromic microarray study", Mol Cancer Ther 6: 820-832 (2007).
- Blixt O. et al., "Sialoside specificity of the siglec family assessed us 50

ing novel multivalent probes”, J Biol Chem, 278, 31007-31019.

【 0 4 8 9 】

配列表

SEQ ID NO: (配列番号) 1

ATGGAAGTCCATCTGGCTGCTGGCCTGCTTGGCGTGGGTTCCTCCCGACAGGCTCATTTGTGAGAACTAAAATAGATAC
TACGGAGAACTTGTCTCAACACAGAGGTGCACAGCTCGCCAGCGCAGCGCTGGTCCATGCAGGTGCCACCCGAGGTGAGCG
CGGAGGCAGGCGACGCGGCAGTGCTGCCCTGCACCTTCACGCACCCGCACCGCCACTACGACGGGCGCGCTGACGGCCATC
TGGCGCGGGCGAGCCCTATGCGGGCCCCGAGGTGTTCCGCTGCGCTGCGGCGGGGGCAGCGAGCTCTGCCAGACGGC
GCTGAGCCTGCACGGCCGCTTCCGGCTGCTGGGCAACCCGCGCCGCAACGACCTCTCGCTGCGCGTCGAGCGCCTCGCCC
TGGCTGACGACCGCCGCTACTTCTGCCGCGTCGAGTTCGCCGGCGACGTCCATGACCGCTACGAGAGCCGCCACGGCGTC
CGGCTGCACGTGACAGCCGCGCCGCGGATCGTCAACATCTCGGTGCTGCCCAGTCCGGCTCACGCCTTCCGCGCGCTCTG
CACTGCCGAAGGGGAGCCGCCGCCGCCCTCGCCTGGTCCGGCCCCGGCCCTGGGCAACAGCTTGGCAGCCGTGCGGAGCC
CGCGTGAGGGTACAGGCCACCTAGTGACCGCCGAACTGCCCCGACTGACCCATGACGGCCGCTACACGTGTACGGCCGCC
AACAGCCTGGGCGCTCCGAGGCCAGCGTCTACCTGTTCCGCTTCCATGGCGCCAGCGGGGCCCTCGACGGTCGCCCTCCT
GCTCGGCGCTCTCGGTTCAAGGCGCTGCTGCTGCTCGGGTCTGCGCCGCCGCGCTGCCCGCCGCCGCCAGAGCATC
TGGACACCCCGGACACCCACCACGGTCCCAGGCCAGGAGTCCAATTATGAAAATTTGAGCCAGATGAACCCCGGAGC
CCACCAGCCACCATGTGCTCACCGTGA

SEQ ID NO:2

MEKSIWLLACLAWVLPTGSFVRTKIDTTENLLNTEVHSSPAQRWSMQVPPEVSAEAGDAAVLPTFTPHRHYDGPLTAI
WRAGEPYAGPQVFRCAAARGSELCTALSLHGRFRLLGNPRRNDLSLRVERLALADDRRYFCRVEFAGDVHDRYESRHGV
RLHVTAAPRIVNISVLPSPAHAFRALCTAEGEPPPALAWSGPALGNSLAAVRSPPREGHGLVTAELPALTHDGRYTCTAA
NSLGRSEASVYLFRFHGASGASTVALLLGALGFKALLLLGLVLAARAARRRPEHLDTPTPPRSQAQESNYENLSQMNPRS
PPATMCSP

SEQ ID NO:3

ATGGAGGGGTCCCTCCAACTCCTGGCCTGCTTGGCCTGTGTGCTCCAGATGGGATCCCTTGTGAAAAGTAGAAGAGACGC
TTCGGGGGATCTGCTCAACACAGAGGCGCAGAGTGCCCCGGCGCAGCGCTGGTCCATGCAGGTGCCCGCGGAGGTGAACG
CGGAGGCTGGCGACGCGCGGTGCTGCCCTGCACCTTCACGCACCCGCACCGCCACTACGACGGGCGCGCTGACGGCCATC
TGGCGCTCGGGCGAGCCGTACGCGGGCCCCGAGGTGTTCCGCTGCACCGCGCGCGGGGCGAGCGAGCTGTGCCAGACGGC
GCTGAGCCTGCACGGCCGCTTCCGCCTGCTGGGCAACCCGCGCCGCAACGACCTGTCCCTGCGCGTCGAGCGCCTCGCCC
TGGCGGACAGCGGCCGCTACTTCTGCCGCGTGAGTTACCCGGCGACGCCACGATCGCTATGAGAGTCGCCATGGGGTC
CGTCTGCGCGTGAAGTGCAGCTGCGCCGCGGATCGTCAACATCTCGGTGCTGCGGGCCCCCGCGCACGCCTTCCGCGCGCT
CTGCACCGCGAGGGGAGCCCCGCCGCCCTCGCCTGGTCCGGTCCCCGCCAGGCAACAGCTCCGCTGCCCTGCAGG
GCCAGGGTCACGGCTACCAGGTGACCGCCGAGTTGCCCGCGCTGACCCGCGACGGCCGCTACACGTGCACGGCGGCCAAT
AGCCTGGGCCGCGCCGAGGCCAGCGTCTACCTGTTCCGCTTCCACGGCGCCCCCGGAACCTCGACCTAGCGCTCCTGCT
GGGCGCGCTGGGCCTCAAGGCCTTGTGCTGCTTGGCATTCTGGGAGCGCGTGCCACCCGACGCCGACTAGATCACCTGG
TCCCCCAGGACACCCCTCCACGGTCTCAGGCTCAGGAGTCCAATTATGAAAATTTGAGCCAGATGAGTCCTCCAGGCCAC
CAGCTGCCACGTGTTTGTGCTGTGAGGAACTCCTCAGCCATCACCATCTAGTCATTCACCATGAGAAATAA

SEQ ID NO:4

MEGSLQLLACLACVLQMGSVLKTRRDASGDLNTEAHSAPAQRWSMQVPAEVNAEAGDAAVLPTFTPHRHYDGPLTAI
WRSGEPYAGPQVFRCTAAPGSELCTALSLHGRFRLLGNPRRNDLSLRVERLALADSGRYFCRVEFTGDAHDRYESRHGV
RLRVTAAPRIVNISVLPSPAHAFRALCTAEGEPPPALAWSGPAPGNSSAALQGQGHGYQVTAELPALTRDGRYTCTAAN
SLGRAEASVYLFRFHGAPGTSTLALLLGALGLKALLLLGILGARATRRRLDHLVPQDTPPRSQAQESNYENLSQMSPPGH
QLPRVCCHEELSHHHLVIIHHEK

SEQ ID NO:5

GAAAATGTGCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATATCCTGCAGTGCCAGCTC
AAGTGTAAGTTACATGTACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGATCCTCCCCAAACCTGGATTTATCGCACATCCAACCTGG

CTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAA
GATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAGTAACCCACTCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACG
GGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCC
TGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAG
AGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAA
ACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTACAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTT
AG

SEQ ID NO:6

ENVLTQSPA IMSASPGEKVTI SCSSSSSVSYMYWYQQKPGSSPKPWIYRTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAE
DAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKSDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

SEQ ID NO:7

GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGGACTGAGCTGGTGAGGCCTGGGTCCTCAGTGAAGATTTCTTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTCACCAGGTACTGGATGGACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCCTTGAGTGGATCGGAGAGATTGATCCTT
CTGATAGTTATACTAACTACAATCAAAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGATAAATTCTCCAGAACAGCCTAT
ATGGAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGATCGGGGGCTACTCTAGTGACTATAG
TTACGACGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA
GCCTCAACGAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTG
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCC
CAGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCAGCCAGACC
TACACCTGCAACGTAGATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAAATGTTGTGTCGAGTGCCC
ACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCGCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCGCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAAGACCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC
GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCT
TGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAA
CCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAAC
CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA
GAACAACTACAAGACCACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGA
GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC
TCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

20

30

SEQ ID NO:8

EVQLQQSGTELVPRGSSVKISCKASGYTFTRYWMDWVKQRPGQGLEWIGEIDPSDSYTNYNQFKGKATLTVDKFSRTAY
MELSSLTSEDSAVYYCARSGAYSSDYSYDGFAYWGQGLVTVSA
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQT
YTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPI EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSL
SLSPGK

40

SEQ ID NO:9

GATATTGTGATGACCCAGGCTGCATTCTCCAATCCAGTCACTCTTGGAACATCAGCTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAA
GAGTCTCCTACATAGTAATGGCATCACTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATTT
ATCAGATGTCCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCACTGGCAGTGGGTGAGGAACTGCTTTTCACTGAGAATC
AGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAATATCCGTACACGTTCCGAGGGGGGAC
CAAGCTGGAAAATAAAACGGGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCA
TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAG

50

CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID NO:10

DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRIS
SRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKLEIKVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:11

CAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGGCTGAAATTGTGAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGACTGATTAATCCTA
CCAACGGTCGTACTAACTACAATGAGAAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTAC
ATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGGGGGGGACGGGGACTACTTTGACTA
CTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGCCTCAACGAAGGGCCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCA
GGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC
TCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT
GACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
AGACAGTTGAGCGCAAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCGCTTC
CCCCCAAAACCAAGGACACCCGCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAAGA
CCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCA
ACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACAC
CCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACA
TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA
GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

10

20

SEQ ID NO:12

QVQVQQPGAIEIVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGGLEWIGLINPTNGRTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAY
MQLSSLTSEDSAVYYCARGGDGYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLF
PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKV
SNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

30

SEQ ID NO:13

GATATTGTGATGACCCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTACTAA
GAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTGGTTCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATAT
ATCGGATGTCCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCAAGTGGCAGTGGGTGAGGAACTGCTTTTCACTGAGAATC
AGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAATATCCTTTTACGTTTCGGAGGGGGGAC
CAAGCTGGAAATAAAACGGGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
CTGCCCTCTGTTGTGTGCCCTGTGTAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG

40

SEQ ID NO:14

DIVMTQAAPSVPTPGESVSI SCRSTKSLHSNGNTYLYWFLQRPQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRIS
SRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKLEIKVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

50

SEQ ID NO:15

GAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGAGTTGAGCTGGTGAGGCCTGGGGCTTCAGTGACGCTGTCCTGCAAGGCTTCGGGCTA
CACATTTACTGACTATGACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCTGTTTCATGGCCTGGAATGGATTGGAACTATTGATCCTG
AAACTGGTGGTACTGCCTACAATCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCGGACAGATCCTCCACCACAGCCTAC
ATGGAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTACAACTTTTCTACTATAGTCACTATAATTACGA
CGTGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAGCCTCAACGAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCC
TGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTG
ACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCTCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTC
CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCA
ACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCG
TCAGTCTTCCGCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCGCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGGA
TGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCAC
GGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCGTTGTGACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAG
TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT
TCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTG
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG
CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

10

20

SEQ ID NO:16

EIQLQQSGVELVRPGASVTLCKASGYTFTDYMHWVKQTPVHGLEWIGTIDPETGGTAYNQKFKGKATLTADRSSTTAY
MELSSLTSEDSAVYYCTTFYYSHYNYDVGFAYWQGTLTVSAASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKCCVECPPCPAPPVAGP
SVFLFPPKPKDITLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPML
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:17

GATATTGTGATGACCCAGGCTGCACCCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAA
GAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTGGTTCCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCCCCCTCAGCTCCTGATAT
ATCGGATGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTGAGGAACTGCTTTTCACTGAGAATC
AGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAATATCCTTTTACGTTTCGGAGGGGGGAC
CAAGCTGGAAAATAAACGGGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGTCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAAACAAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTACAAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG

30

SEQ ID NO:18

DIVMTQAAPSVPTPGESVSI SCRSSKSLLSHNGNTYLYWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLASGVDPDRFSGSGSGTAFTLR
SRVEAEDVGVIYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIKVAAPSVEIFPPSPDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

40

SEQ ID NO:19

GAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTGAGGCCTGGGGCTTCAGTGACGCTGTCCTGCAAGGCTTCGGGCTA
CACATTTACTGACTATGAAATGCACTGGGTGAAGCAGACACCTGTTTCATGGCCTGGAATGGATTGGAGCTATTGATCCTG
AAACTGGTGGTACTGCCTACAATCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTACAAAGTTTCTACTATACTTACTATAATTACGA
CGTGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAGCCTCAACTGGGGCGTCTTATTACTATGCTA

50

TGGACCACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCTCAACGAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCC
TGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGGTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG
GTGGAATCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA
GCGTGGTGACCGTGGCCCTCCAGCAACTTCGGGACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAG
GTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTT
CCGCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCGCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCC
ACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAG
CAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGTGTGACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG
CAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGG
TGTACACCTTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCC
AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGA
CGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA
TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

10

SEQ ID NO:20

EIQLQQSGAELVRPGASVTLCKASGYTFTDYEMHWKQTPVHGLEWIGAIDPETGGTAYNQKFKGKATLTADKSSSTAY
MELSSLTSEDSAVYYCTSFYYTYNYDVGFAYWGQTLVTVSAASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVRKKCEPPCPAPPVAGP
SVFLFPPKPKDITLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSFLTIVVHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPML
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

20

SEQ ID NO:21

GATATTGTGATGACCCAGGCTGCATTCTCCAATCCAGTCACTCTTGGAACATCAGCTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAA
GAGTCTCCTACATAGTAATGGCATCACTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATTT
ATCAGATGTCCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCAGTAGCAGTGGGTGAGGAACTGATTTCACTGAGAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTGCTCAAAATCTAGAACTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGGAC
CAAGCTGGAATAAAACGGGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
CTGCCTCTGTTGTGTGCTGTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG

30

SEQ ID NO:22

DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHNSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGPVDRFSSSGSGTDFTLR
SRVEAEDVGYYCAQNLLELPYTFGGGTKLEIKVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:23

CAGGTCCAAGTGACAGCAGCCTGGGGCTGAGCTTGTGAAGCCTGGGGCTTCGGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGACTGATTAATCCTA
GCAACGCTCGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAATACCAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTAC
ATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGGGGGGACGGGGACTACTTTGACTA
CTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGCCTCAACGAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCA
GGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAAC
TCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT
GACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGGACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
AGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCGCTTC
CCCCCAAAACCAAGGACACCCGCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAAGA
CCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCA

40

50

ACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTC
TCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACAC
CCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACA
TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA
GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID NO:24

QVQVQPGAEVLKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWKQRPQGLEWIGLINPSNARTNYNEKFNTKATLTVDKSSSTAY
MQLSSLTSEDSAVYYCARGGDGDYFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFQTQYTCNVDHKPSNTKVDKTVVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

SEQ ID NO:25

CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAACACTCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTC
AAGTGTAAGTTACATGTACTGGTACCAGCAGAAGCCAAGATCCTCCCCCAAACCTGGATTTATCGCACATCCAACCTGG
TTTCTGGAGTCCCTGTACGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAA
GATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAGTAACCCACCCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACG
GGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCC
TGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAG
AGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAA
ACACAAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTT
AG

20

SEQ ID NO:26

QIVLTQSPTLMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQQKPRSSPKPWIYRTSNLVSQVPRVFSGSGSGTSYSLTISSMEAE
DAATYYCQWSSNPPTFGAGTKLELKVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKSDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

30

SEQ ID NO:27

GAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGTGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGATCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCAGGATT
CGATTTTAGTAAAAGACTGGATGAGTTGGGTCCGGCAGGCTCCAGGGAAAGGGCTAGAATGGATTGGAGAAATTAATCCAG
ATAGCAGTACGATAAACTATGCACCATCTCTTAAGGATAAATTCATCATCTCCAGAGAGAACGCCAAAAATACGCTGTAC
CTGCAAAATGAGCAAAAGTGAGATCTGAGGACACAGCCCTTTATTACTGTTCAAGACTAGAGGACTACGAAGACTGGTACTT
CGATGTCTGGGGCGCAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCAACGAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCT
GCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG
TGGAAGTCAAGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG
CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG
TGGACAAGACAGTTGAGCGCAAAATGTTGTGTCTGAGTGCCACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTC
CGCTTCCCCCCTCAAAACCAAGGACACCCGATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACCGTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCA
CGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGC
AGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTTCAGCGTCTCACCCTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGC
AAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGT
GTACACCTTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCA
GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGAT
GCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

40

50

SEQ ID NO:28

EVKLEESGGGLVQPGGSLKLSAASGFDFSKDWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYAPSLKDKFIIISRENAKNTLY
LQMSKVRSEDALYYCSRLEDYEDWYFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVF
LFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC
KVSNNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSD
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:29

AGTATTGTGATGACCCAGACTCCCAAATTCCTGCTTGTATCAGCAGGAGACAGGGTTACCATAACCTGCAAGGCCAGTCA
GAGTGTGAGTAATGCTGTAGCTTGGTACCAACAGAAGCCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATATACTATACATCCAATC
GCTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATATGGGACGGATTTCACTTTCACCATCACCACTGTGCAGGCT
GAAGACCTGGCAGTTTATTTCTGTGTCAGCAGGATTATACCTCTCCGTGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAA
ACGGGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGCTGCCTCTGTTGTGT
GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCG
GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA
GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT
GTTAG

10

SEQ ID NO:30

SIVMTQTPKFLLSAGDRVITITCKASQSVSNAVAWYQQKPGQSPKLLIYYTSNRYTGVPDRFTGSGYGTDFTFITTVQA
EDLAVYFCQQDYTSPWTFGGGKLEIKVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
VTEODSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKSFNRGEC

20

SEQ ID NO:31

CAGGTCCAAACCTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTGGCGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGTTGTCTTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTCAACACCTATAATATGTACTGGTTGAAACAGAGGCCTGGGCAAGGCCTTGAGTGGATTGGGGGGATTGATCCTA
GCAATGGTGATACTAAAATCAATGAGAAGTTCAAGAACAAGGCCACACTGACTGTTGACAAATCCTCCAGTACAGCCTAT
ATGCAACTCAGCGGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGCCATACGTACTGGGGCCAAGGGACTCT
GGTCACTGTCTCTGCAGCCTCAACGAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCA
CAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGC
GGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAA
CTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAAT
GTTGTGTGTCGAGTGCCCAACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCGCTTCCCCCCCCAAAAACCAAGGAC
ACCCGCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAA
CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGG
TCAGCGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAAGCCTCCCA
GCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGA
GGAGATGACCAAGAACCAGGTACAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA
GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAG
CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTA
CACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

30

40

SEQ ID NO:32

QVQLQQPGAELAKPGASVKLSCKASGYTFNTYNMYWLKQRPQGLEWIGGIDPSNGDTKI NEKFKNKATLTVDKSSSTAY
MQLSGLTSEDSAVYYCTSHTYWGQGLTVTVSAASTKGPSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

50

SEQ ID NO:33

GATATTGTGATGACCCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTACTAA
GAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTGGTTTCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATAT
ATCGGATGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCACTGGCAGTGGGTGAGGAACTGCTTTCACACTGAGAATC
AGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAATATCCTTTTACGTTTCGGAGGGGGGAC
CAAGCTGGAATAAAACGGGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA
CTGCCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCGGGTAACCTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCT
TCAACAGGGGAGAGTGTTAG

10

SEQ ID NO:34

DIVMTQAAPSVPTPGESVSI SCRSTKSLHNSNGNTYLYWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLR I
SRVEAEDVGVIYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIKVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:35

GAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGAGTTGAGCTGGTGAGGCCCTGGGGCTTCAGTGACGCTGTCTTGCAAGGCTTCGGGGCTA
CACATTTACTGACTATGACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCTGTTTCATGGCCTGGAATGGATTGGAATATTGATCCTG
AAACTGGTGGTACTGCCTACAATCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCGGACAGATCCTCCACCACAGCCTAC
ATGGAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTACAAGTTTCTACTATACTTACTCTAATTACGA
CGTGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAAGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAGCCTCAACTGGGGCGTCTTATTACTATGCTA
TGGACCACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCTCAACGAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCC
TGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTG
GTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA
GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAG
GTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTT
CCGCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCGCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCC
ACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAG
CAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGTGTGACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG
CAAGGTCTCCAACAAAGGCTCCAGCCCCCATCGAGAAAAACCATCTCCAAAAACAAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGG
TGACACCCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCC
AGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGA
CGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA
TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

20

30

SEQ ID NO:36

EIQQQSGVELVRPGASVTL SCKASGYTFTDYDMHWVKQTPVHGLEWIGTIDPETGGTAYNQKFKGKATLTADRSSTTAY
MELSSLTSEDSAVYYCTSFYYTYSNYDVGFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPCPAPPVAGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPAPI EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPML
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

40

SEQ ID NO:37

GAAAATGTGCTACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATATCCTGCAGTGCCAGCTC
AAGTGTAAGTTACATGTACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGATCCTCCCCCAAACCTGGATTTATCGCACATCCAACCTGG
CTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAA
GATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAGTAACCCACTCACGTTCCGGTGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

50

SEQ ID NO:38

ENVLTQSPAIMASASPGEKVTISCSASSSVSYMYWYQQKPGSSPKWIIYRTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAE
DAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK

SEQ ID NO:39

GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGGACTGAGCTGGTGAGGCCTGGGTCCTCAGTGAAGATTTCTTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTCACCAGGTACTGGATGGACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATCGGAGAGATTGATCCTT
CTGATAGTTATACTAACTACAATCAAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGATAAATTCTCCAGAACAGCCTAT
ATGGAACCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGATCGGGGGCCTACTCTAGTGACTATAG
TTACGACGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

10

SEQ ID NO:40

EVQLQQSGTELVPRGSSVKISCKASGYTFTRYWMDWVKQRPQGLEWIGEIDPSDSYTNYNQKFKGKATLTVDKFSRTAY
MELSSLTSEDSAVYYCARSGAYSSDYSDGFAYWGQGLVTVSA

SEQ ID NO:41

GATATTGTGATGACCCAGGCTGCATTCTCCAATCCAGTCACTCTTGGAACATCAGCTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAA
GAGTCTCCTACATAGTAATGGCATCACTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATTT
ATCAGATGTCCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGAACTGCTTTTCACTGAGAATC
AGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAATATCCGTACACGTTCCGAGGGGGGAC
CAAGCTGGAAATAAAA

20

SEQ ID NO:42

DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHNSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVDPDRFSGSGSGTAFTLRI
SRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:43

CAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGGCTGAAATTGTGAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTCACCAGGTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGACTGATTAATCCTA
CCAACGGTCGTACTAACTACAATGAGAAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTAC
ATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGGGGGGGACGGGGACTACTTTGACTA
CTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

30

SEQ ID NO:44

QVQVQQPGAIEIVRGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPQGLEWIGLINPTNGRTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAY
MQLSSLTSEDSAVYYCARGGDGDYFDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO:45

GATATTGTGATGACCCAGGCTGCACCCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTACTAA
GAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTGGTTCTTGCAAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATAT
ATCGGATGTCCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGAACTGCTTTTCACTGAGAATC
AGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAATATCCTTTCACGTTCCGAGGGGGGAC
CAAGCTGGAAATAAAA

40

SEQ ID NO:46

DIVMTQAAPSPVTPGESVSI SCRSTKSLHNSNGNTYLYWFLQRPQGQSPQLLIYRMSNLASGVDPDRFSGSGSGTAFTLRI
SRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:47

50

GAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGAGTTGAGCTGGTGAGGCCCTGGGGCTTCAGTGACGCTGTCCTGCAAGGCTTCGGGCTA
CACATTTACTGACTATGACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCTGTTTCATGGCCTGGAATGGATTGGAACTATTGATCCTG
AAACTGGTGGTACTGCCTACAATCAGAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCGGACAGATCCTCCACCACAGCCTAC
ATGGAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTACAACCTTTCTACTATAGTCACTATAATTACGA
CGTGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

SEQ ID NO:48

EIQLQQSGVELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYMHWVKQTPVHGLEWIGTIDPETGGTAYNQKFKGKATLTADRSSTTAY
MELSSLTSEDSAVYYCTTFYYSHYNYDVGFAYWGQGLTVTVSA

10

SEQ ID NO:49

GATATTGTGATGACCCAGGCTGCACCCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAA
GAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTGGTTTCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCCCCTCAGCTCCTGATAT
ATCGGATGTCCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTTCAGGAAGTCTTTTCACTGAGAATC
AGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAATATCCTTTTACGTTTCGGAGGGGGGAC
CAAGCTGGAAATAAAA

SEQ ID NO:50

DIVMTQAAPSPVTPGESVSISCRSSKSLLSNNGNTYLYWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRI
SRVEAEDVGVIYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK

20

SEQ ID NO:51

GAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTGAGGCCCTGGGGCTTCAGTGACGCTGTCCTGCAAGGCTTCGGGCTA
CACATTTACTGACTATGAAATGCACTGGGTGAAGCAGACACCTGTTTCATGGCCTGGAATGGATTGGAGCTATTGATCCTG
AAACTGGTGGTACTGCCTACAATCAGAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTACAAGTTTCTACTATACTTACTATAATTACGA
CGTGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

SEQ ID NO:52

EIQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEMHWVKQTPVHGLEWIGAIDPETGGTAYNQKFKGKATLTADKSSSTAY
MELSSLTSEDSAVYYCTSFYYTYNYDVGFAYWGQGLTVTVSA

30

SEQ ID NO:53

GATATTGTGATGACCCAGGCTGCATTCTCCAATCCAGTCACTCTTGGAACATCAGCTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAA
GAGTCTCCTACATAGTAATGGCATCACTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATTT
ATCAGATGTCCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCAGTAGCAGTGGGTTCAGGAAGTATTTTCACTGAGAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTGCTCAAAATCTAGAAGTTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGAC
CAAGCTGGAAATAAAA

SEQ ID NO:54

DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLLSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLRI
SRVEAEDVGVIYCAQNLELPYTFGGGTKLEIK

40

SEQ ID NO:55

CAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTTGTGAAGCCTGGGGCTTCGGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTCACCAGTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCCTGGACAAGGCCCTTGAGTGGATTGGACTGATTAATCCTA
GCAACGCTCGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAATACCAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTAC
ATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTGCAAGAGGGGGGACGGGGACTACTTTGACTA
CTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

50

SEQ ID NO:56

QVQVQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGLINPSNARTNYNEKFNTKATLTVDKSSSTAY
MQLSSLTSEDSAVYYCARGGDGDYFDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO:57

CAAATTGTCTCACCCAGTCTCCAACACTCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTC
AAGTGTAAGTTACATGTACTGGTACCAGCAGAAGCCAAGATCCTCCCCCAAACCTGGATTATCGCACATCCAACCTGG
TTTCTGGAGTCCCTGTACGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCAGCATGGAGGCTGAA
GATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAGTAACCCACCCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

10

SEQ ID NO:58

QIVLTQSPTLMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQQKPRSSPKPWYRTSNLVSGVPVRFSGSGSGTSYSLTISSMEAE
DAATYYCQWSSNPPTFGAGTKLELK

SEQ ID NO:59

GAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGTGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGATCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCAGGATT
CGATTTTAGTAAAGACTGGATGAGTTGGGTCCGGCAGGCTCCAGGGAAAGGGCTAGAATGGATTGGAGAAATTAATCCAG
ATAGCAGTACGATAAACTATGCACCATCTCTTAAGGATAAATTCATCATCTCCAGAGAGAACGCCAAAAATACGCTGTAC
CTGCAAATGAGCAAAGTGAGATCTGAGGACACAGCCCTTTATTACTGTTCAAGACTAGAGGACTACGAAGACTGGTACTT
CGATGTCTGGGGCGCAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

20

SEQ ID NO:60

EVKLEESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSKDWSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYAPSLKDKFIIISRENAKNTLY
LQMSKVRSEDTALYYCSRLEDYEDWYFDVWGAGTTTVTVSS

SEQ ID NO:61

AGTATTGTGATGACCCAGACTCCCAAATTCCTGCTTGTATCAGCAGGAGACAGGGTTACCATAACCTGCAAGGCCAGTCA
GAGTGTGAGTAATGCTGTAGCTTGGTACCAACAGAAGCCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATATACTATACATCCAATC
GCTACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATATGGGACGGATTTCACTTTTACCATCACCCTGTGCAGGCT
GAAGACCTGGCAGTTTATTTCTGTCAGCAGGATTATACCTCTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAA
A

30

SEQ ID NO:62

SIVMTQTPKFLVLSAGDRVITICKASQSVSNAVAWYQQKPGQSPKLLIYYTSNRYTGVPDRFTGSGYGTDFTFITTVQA
EDLAVYFCQQDYTSPWTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:63

CAGGTCCAACCTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTGGCGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGTTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTCAACACCTATAATATGTACTGGTTGAAACAGAGGCCTGGGCAAGGCCTTGAGTGGATTGGGGGGATTGATCCTA
GCAATGGTGATACTAAAATCAATGAGAAGTTCAAGAACAAGGCCACACTGACTGTTGACAAATCCTCCAGTACAGCCTAT
ATGCAACTCAGCGGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGCCATACGTACTGGGGCCAAGGGACTCT
GGTCACTGTCTCTGCA

40

SEQ ID NO:64

QVQLQQPGAELAKPGASVKLSCKASGYTFNTYNMYWLKQRPGQGLEWIGGIDPSNGDTKINEKFKNKATLTVDKSSSTAY
MQLSGLTSEDSAVYYCTSHTYWGQGTTLTVSA

SEQ ID NO:65

GATATTGTGATGACCCAGGCTGCACCCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAGTATCCATCTCCTGCAGGTCTACTAA
GAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTACTTGTATTGGTTCCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATAT

50

ATCGGATGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGAACTGCTTTCACACTGAGAATC
AGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTATGCAACATCTAGAATATCCTTTCACGTTCCGAGGGGGGAC
CAAGCTGGAAATAAAA

SEQ ID NO:66

DIVMTQAAPSVPTPGESVSI SCRSTKSLLSNGNTYLYWFLQRPQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSTAFTLRI
SRVEAEDVGVIYCMQHLEYPFTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:67

GAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGGAGTTGAGCTGGTGAGGCCTGGGGCTTCAGTGACGCTGTCCTGCAAGGCTTCGGGGCTA
CACATTTACTGACTATGACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCTGTTTCATGGCCTGGAATGGATTGGAACCTATTGATCCTG
AACTGGTGGTACTGCCTACAATCAGAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCGGACAGATCCTCCACCACAGCCTAC
ATGGAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCCGTCTATTACTGTACAAGTTTCTACTATACTTACTCTAATTACGA
CGTGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

10

SEQ ID NO:68

EIQLQQSGVELVRPGASVTL SCKASGYTFTDYDMHWVKQTPVHGLEWIGTIDPETGGTAYNQKFKGKATLTADRSSTTAY
MELSSLTSEDSAVYYCTSFYYTYSNYDVGFAYWGQGLTVTVSA

SEQ ID NO:69

SASSSVSYMY

20

SEQ ID NO:70

RTSNLAS

SEQ ID NO:71

QQWSSNPLT

SEQ ID NO:72

GYTFTRYWMD

30

SEQ ID NO:73

EIDPSDSYTN

SEQ ID NO:74

ARSGAYSSDYSYDGFAY

SEQ ID NO:75

RSSKSLLSNGITYLY

40

SEQ ID NO:76

QMSNLAS

SEQ ID NO:77

MQHLEYPYT

SEQ ID NO:78

GYTFTSYWMH

SEQ ID NO:79

50

LINPTNGRTN

SEQ ID NO:80
ARGGDGDYFDY

SEQ ID NO:81
RSTKSLHSNGNTYLY

SEQ ID NO:82
RMSNLAS

10

SEQ ID NO:83
MQHLEYPFT

SEQ ID NO:84
GYTFTDYDMH

SEQ ID NO:85
TIDPETGGTA

20

SEQ ID NO:86
TTFYYSHYNYDVGFAI

SEQ ID NO:87
RSSKSLHSNGNTYLY

SEQ ID NO:88
RMSNLAS

SEQ ID NO:89
MQHLEYPFT

30

SEQ ID NO:90
GYTFTDYEMH

SEQ ID NO:91
AIDPETGGTA

SEQ ID NO:92
TSFYTYNYDVGFAI

40

SEQ ID NO:93
RSSKSLHSNGITYLY

SEQ ID NO:94
QMSNLAS

SEQ ID NO:95
AQNLELPYT

50

SEQ ID NO:96
GYTFTSYWMH

SEQ ID NO:97
LINPSNARTN

SEQ ID NO:98
ARGGDGDYFDY

SEQ ID NO:99
SASSSVSYMY

10

SEQ ID NO:100
RTSNLVS

SEQ ID NO:101
QQWSSNPPT

SEQ ID NO:102
GFDFSKDWMS

20

SEQ ID NO:103
EINPDSSTIN

SEQ ID NO:104
SRLEDYEDWYFDV

SEQ ID NO:105
KASQSVSNAVA

30

SEQ ID NO:106
YTSNRYT

SEQ ID NO:107
QQDYTSPWT

SEQ ID NO:108
GYTFNTYNMY

SEQ ID NO:109
GIDPSNGDTK

40

SEQ ID NO:110
TSHTY

SEQ ID NO:111
RSTKSLLHSNGNTYLY

SEQ ID NO:112
RMSNLAS

50

SEQ ID NO:113
MQHLEYPFT

SEQ ID NO:114
GYTFTDYDMH

SEQ ID NO:115
TIDPETGGTA

10

SEQ ID NO:116
TSFYTYTYSNYDVGFAY

SEQ ID NO:117
GTAAGCAAGCTTGCTCACGCCTTCCGCGCGCTC

SEQ ID NO:118
GTAAGCAGATCTCTGGCGCCATGGAAGCGGAACAG

SEQ ID NO:119
CACTGGGAGCTATGGAAGAAGAC

20

SEQ ID NO:120
CAAAAGTGCAAAGAAGGGAAGACA

SEQ ID NO:121
TGAAGGTCGGAGTCAACGGATTGTTGGT

SEQ ID NO:122
CATGTGGGCCATGAGGTCCACCAC

30

SEQ ID NO:123
VRTKIDTTENLLNTEVHSSPAQRWSMQVPPEVSAEAGDAAVLPCTFTTHPHRHYDGPLTAIWRAGEPYAGPQVFRCAAARG
SELCQTALSLHGRFRLGNPRRNDLSLRVERLALADRRYFCRVEFAGDVHDRYESRHGVRHLHVTAAPRIVNISVLPSPA
HAFRALCTAEGEPPPALAWSGPALGNSLAAVRSPREGHGLVTAELPALTHDGRYTCTAANSLGRSEASVYLFRFHGASG
AS

SEQ ID NO:124
GTAAGCGGATCCGTGAGAACTAAAAATAGATACTA

40

SEQ ID NO:125:
GTAAGCGCGGCCGCGCTGGCGCCATGGAAGCGGAACAGGTA

SEQ ID NO:126
GTACATTTATATTGGCTCATGTCCAATATGACCGCCATGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTA
CGGGGTCATTAGTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACCGCCC
AACGACCCCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGGACTTTCCATTGACGTCAATG
GGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCA
ATGACGGTAAATGGCCCGCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTACGGGACTTTTCCTACTTGGCAGTACATCTACGTA
TTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTGGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGACTCACGGGGATT

50

TCCAAGTCTCCACCCCATTTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAATA
ACCCCGCCCCGTTGACGCAAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGT
CAGATCCTCACTCTCTTCCGCATCGCTGTCTGCGAGGGCCAGCTGTTGGGCTCGCGGTTGAGGACAAACTCTTCGCGGTC
TTTCCAGTACTCTTGGATCGGAAACCCGTCGGCCTCCGAACGGTACTCCGCCACCGAGGGACCTGAGCCAGTCCGCATCG
ACCGGATCGGAAAACCTCTCGAGAAAAGGCGTCTAACCACTCACAGTCGCAAGGTAGGCTGAGCACCGTGGCGGGCGGCAG
CGGGTGGCGGTCGGGGTTGTCTTGGCGGAGGTGCTGCTGATGATGTAATTTAAAGTAGGCGGTCTTGAGCCGGCGGATGG
TCGAGGTGAGGTGTGGCAGGCTTGAGATCCAGCTGTTGGGGTGAGTACTCCCTCTCAAAAAGCGGGCATGACTTCTGCGCT
AAGATTGTCACTTTCCAAAAACGAGGAGGATTTGATATTCACCTGGCCCCGATCTGGCCATACACTTGAGTGACAATGACA
TCCACTTTGCTTTCTCTCCACAGGTGTCCACTCCAGGTCCAAGTTTGCCGCCACCATGGAGACAGACACACTCCTGCT
ATGGGTACTGTGCTCTGGGTTCCAGGTTCAGTGGCGCGGATCAACTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAC
TCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACA
TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGC
CAAGACAAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGC
TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA
GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTG
CCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACTACAAGACCA
CGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG
AACGTCTTCTCATGTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGAA
AGCTAGCGGAGCCGGAAGCACAACCGAAAACCTGTATTTTCAGGGCGGATCCGAATTCAGCTTGATATCTGATCCCCCG
ACCTCGACCTCTGGCTAATAAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTGGAAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAG
GACATATGGGAGGGCAAATCATTTGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGCCCCGCCCGGACGAACTAAACC
TGACTACGGCATCTCTGCCCTTCTTCGCGGGGCGAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACTTGCCAACTGAA
CCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGTAGTAGTATATACTATCCAGACTAACCTAATTCAATAGCATATGTTACCC
AACGGGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGGTCTAAGGAACAGCGATGTAGGTGGGCGGGCCAAGATAG
GGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAGGACAAATTACACACACTTGCAGCTGAGCGCAAGCACAGGGTTGTTGGTCTCATA
TTCACGAGGTGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGC
TATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGG
TAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATC
TATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAGAGATTAGGGTAGTATATGC
TATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGC
ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATA
TCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATC
CTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTCAGCATGATAAGCTGTCA
AACATGAGAATTAATTTCTTGAAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAAATGGT
TTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATA
TGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCT
CGTGTGCGCCCTTATTCCTTTTTTTCGGCATTTTGCTTCTCTGTTTTTGTCTCAGCCAGAAAACGCTGGTGAAAGTAAAAA
TGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAAGTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTTCGCC
CCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTGACGCCGGGCAA
GAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGA
TGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGA
TCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAG
CTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAAC
TGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGAGGACCACTTCTGC
GCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCA
CTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAG
ACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTTGGTAACTGTGAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTG
ATTTAAAACTTCATTTTTTAATTTAAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGT
GAGTTTTCTGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAAT
CTGCTGCTTGCAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTGCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGA

10

20

30

40

50

AGGTAAC TGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAAC
TCTGTAGCACC GCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTAC
CGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCT
TGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGTAGCATTGAGAAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAAG
GCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCCGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCT
TTATAGTCCTGTTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGA
AAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCTGCGTTATCC
CCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGA
GTCAGTGAGCGAGGAAGC

10

SEQ ID NO:127

GTAAGCGCTAGCGCCTCAACGAAGGGCCCATCTGTCTTTCCCCTGGCCCC

SEQ ID NO:128

GTAAGCGAATTCACAAGATTTGGGCTCAACTTTCTTG

SEQ ID NO:129

GCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT
GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAGTCCCAGGAGA
GTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAA
CACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTA
G

20

SEQ ID NO:130

AVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:131

CTTGAGCCGGCGGATGGTCGAGGTGAGGTGTGGCAGGCTTGAGATCCAGCTGTTGGGGTGAGTACTCCCTCTCAAAAGCG
GGCATTACTTCTGCGCTAAGATTGTCAGTTTCCAAAAACGAGGAGGATTTGATATTACCTGGCCCGATCTGGCCATACA
CTTGAGTGACAATGACATCCACTTTGCCTTTCTCTCCACAGGTGTCCACTCCCAGGTCCAAGTTTAAACGGATCTCTAGC
GAATTCATGAACTTTCTGTCTGCTTTGGGTGCATTGGAGCCTTGCCCTTGCTGCTCTACCTCCACCATGCCAAGTGGTCCCA
GGCTTGAGACGGAGCTTACAGCGCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTG
GAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTC
CAATCGGGTAAGTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCT
GAGCAAAGCAGACTACGAGAAAACAAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGA
GCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAGGGTACCGCGGCCGCTTCGAATGAGATCCCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGA
AATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGTCTCTCACTCGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATTTG
GTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGCCCCGCGCCGGACGAACTAAACCTGACTACGGCATCTCTGCCCTTCT
TCGCGGGGCAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACCTTGCCAACTGGGCCCTGTTCCACATGTGACACGGGGG
GGGACCAAACACAAAGGGGTTCTCTGACTGTAGTTGACATCCTTATAAATGGATGTGCACATTTGCCAACACTGAGTGGC
TTTCATCCTGGAGCAGACTTTGCAGTCTGTGGACTGCAACACAACATTGCCCTTTATGTGTAACCTTTGGCTGAAGCTCTT
ACACCAATGCTGGGGGACATGTACCTCCCAGGGGCCAGGAAGACTACGGGAGGCTACACCAACGTCAATCAGAGGGGCC
TGTGTAGCTACCGATAAGCGGACCTCAAGAGGGGCATTAGCAATAGTGTTTATAAGGCCCCCTTGTTAACCTAAACGGG
TAGCATATGCTTCCCGGGTAGTAGTATATACTATCCAGACTAACCTAATTCAATAGCATATGTTACCCAACGGGAAGCA
TATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAAGGTCCTAAGGAACAGCGATATCTCCACCCCATGAGCTGTCACGGTTTTATT
TACATGGGGTCAGGATTCCACGAGGGTAGTGAACCATTTTGTGACAAGGGCAGTGGCTGAAGATCAAGGAGCGGGCAGT
GAACTCTCCTGAATCTTCGCCTGCTTCTTCATTTCTCCTTCGTTTAGCTAATAAGAATAACTGCTGAGTTGTGAACAGTAAG
GTGTATGTGAGGTGCTCGAAAAACAAGTTTCAGGTGACGCCCCCAGAATAAAAAATTTGGACGGGGGGTTTCAGTGGTGGCAT
TGTGCTATGACACCAATATAACCCTCACAAACCCCTTGGGCAATAAAATACTAGTGTAGGAATGAAACATTCTGAATATCT

30

40

50

TTAACAATAGAAATCCATGGGGTGGGGACAAGCCGTAAAGACTGGATGTCCATCTCACACGAATTTATGGCTATGGGCAA
CACATAATCCTAGTGCAATATGATACTGGGGTTATTAAGATGTGTCCCAGGCAGGGACCAAGACAGGTGAACCATGTTGT
TACACTCTATTTGTAAACAAGGGGAAAAGAGAGTGGACGCCGACAGCAGCGGACTCCACTGGTTGTCTCTAACACCCCCGAA
AATTAACGGGGGCTCCACGCCAATGGGGCCCATAAACAAAGACAAGTGGCCACTCTTTTTTTTTGAAAATTGTGGAGTGGGG
GCACGCGTCAGCCCCCACACGCCGCCCTGCGGTTTTGGACTGTAAAAATAAGGGTGAATAAAGTTGGCTGATTGTAAACCCC
GCTAACCACTGCGGTCAAACCACTTGGCCACAAAAACCACTAATGGCACCCCGGGGAATACCTGCATAAGTAGGTGGGCGG
GCCAAGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAGGACAAATTACACACACTTGCGCCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTT
GGTCCCTCATATTCACGAGGTGCGTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGA
TAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATC
TATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGC
TATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAGAGATTAGGG
TAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATA
TCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATC
CTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGC
ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTCAGCATGA
TAAGCTGTCAAACATGAGAATTAATTTCTTGAAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGA
TAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTCTAAATA
CATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTAT
TCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTTCGGGCATTTTGCTTCTCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGA
AAGTAAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAG
AGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGA
CGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTACCCAGTCACAGAAAAGC
ATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTT
CTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTGCCTTGATCGTTG
GGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCA
AACTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAAGTTGCAGGA
CCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTAT
CATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATG
AACGAAATAGACAGATCGTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATA
CTTTAGATTGATTTAAAACTTCATTTTTTAATTTAAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTTGATAATCTCATGACCAAAAT
CCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTC
TGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACT
CTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCTTCTAGTGATAGCCGTAGTTAGGCCACCA
CTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGT
CGTGTCTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACA
CAGCCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAAGCGCCACGCTTCCCGA
AGGGAGAAAAGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACG
CCTGGTATCTTTATAGTCCTGTCGGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGG
AGCCTATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCTTGCCCTTTTTGCTGGCCTTTTTGCTCACATGTTCTTTCC
TGCGTTATCCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCGAACGACCG
AGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAAACCGCTCTCCCCGCGGTTGGCCGATTTCAT
TAATGCAGCTGGCACGACAGGTTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCA
TTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAG
GAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTCTAGCTAGAGGTCGACCAATTTCTCATGTTTGACAGCTTATCATCGCAGA
TCCGGGCAACGTTGTTGCATTGCTGCAGGCGCAGAACTGGTAGGTATGGCAGATCTATACATTGAATCAATATTGGCAAT
TAGCCATATTAGTCATTGGTTATATAGCATAAATCAATATTGGCTATTGGCCATTGCATACGTTGTATCTATATCATAAT
ATGTACATTTATATTGGCTCATGTCCAATATGACCGCATGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAGTAATCAAT
TACGGGGTCATTAGTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAAATGGCCCGCTGGCTGACCGC
CCAACGACCCCGGCCATTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATTGACGTCAA
TGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGCCAAGTCCGCCCCCTATTGACGT

10

20

30

40

50

CAATGACGGTAAATGGCCCCGCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTACGGGACTTTCTACTTGGCAGTACATCTACG
TATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTTGGCAGTACACCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTTGACTCACGGGGA
TTTCCAAGTCTCCACCCCATTGACGTCAATGGGAGTTTTGTTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAAATGTCGTAA
TAACCCCGCCCCGTTGACGCAAAATGGGCGGTAGGCGTGACGGTGGGAGGTCTATATAAGCAGAGCTCGTTTTAGTGAACC
GTCAGATCCTCACTCTCTTCCGCATCGCTGTCTGCGAGGGCCAGCTGTTGGGCTCGCGGTTGAGGACAAACTCTTCGCGG
TCTTTCCAGTACTCTTGGATCGGAAACCCGTCGGCCTCCGAACGGTACTCCGCCACCGAGGGACCTGAGCGAGTCCGCAT
CGACCGGATCGGAAAACCTCTCGAGAAAGGCGTCTAACCAGTCACAGTCGCAAGGTAGGCTGAGCACCGTGGCGGGCGGC
AGCGGGTGGCGGTGCGGGTTGTTTCTGGCGGAGGTGCTGCTGATGATGTAATTAAAGTAGGCGGT

SEQ ID NO:132

10

ATGCCAAGTGGTCCCAGGCTGAAAAATGTGCTCACCCAGTCTCC

SEQ ID NO:133

ATGCCAAGTGGTCCCAGGCTGATATTGTGATGACCCAGGCTGC

SEQ ID NO:134

ATGCCAAGTGGTCCCAGGCTCAAATTGTTCTCACCCAGTCTCC

SEQ ID NO:135

ATGCCAAGTGGTCCCAGGCTAGTATTGTGATGACCCAGACTCC

20

SEQ ID NO:136

GGGAAGATGAAGACAGATGGTGCAGCCACAGC

SEQ ID NO:137

GTAAGCGCTAGCGCCTCAACGAAGGGCCCATCTGTCTTTCCCCTGGCCCC

SEQ ID NO:138

GTAAGCGAATTCACAAGATTTGGGCTCAACTTTCTTG

30

SEQ ID NO:139

GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCAGCCCTGGGCTG
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCC
CGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGTTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGT

SEQ ID NO:140

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

40

SEQ ID NO:141

CTTGAGCCGGCGGATGGTCGAGGTGAGGTGTGGCAGGCTTGAGATCCAGCTGTTGGGGTGAGTACTCCCTCTCAAAAAGCG
GGCATTACTTCTGCGCTAAGATTGTCAGTTTCAAAAACGAGGAGGATTTGATATTACCTGGCCCGATCTGGCCATACA
CTTGAGTGACAATGACATCCACTTTTGCTTTTCTCTCCACAGGTGTCCACTCCCAGGTCCAAGTTTGGCGCCACCATGGAG
ACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCAGGTTCCTGCGGAGACGGAGCTTACGGGCCCATCGG
TCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC
GAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCAGCTGTCTACAGTCCCTCAGG
ACTTACTCCCTCAGCAGCGTGTTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACA
AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCACCACTGTG
GCAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCGT

50

GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTTGCATAATGCCAAGA
CAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCCTACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAAC
GGCAAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAAGGCTCCCAGCCCCATCGAGAAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCA
GCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGG
TCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACACCT
CCCATGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGT
CTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAAATGAT
CCCCGACCTCGACCTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTGGAAATTTTTTGTGTCTCTCACT
CGGAAGGACATATGGGAGGGCAAATCATTTTGGTCGAGATCCCTCGGAGATCTCTAGCTAGAGCCCCGCCCGGACGAAC
TAAACCTGACTACGGCATCTCTGCCCTTCTTCGCGGGGAGTGCATGTAATCCCTTCAGTTGGTTGGTACAACCTTGCCA
ACTGAACCCCTAAACGGGTAGCATATGCTTCCCGGGTAGTAGTATATACTATCCAGACTAACCCCTAATTCAATAGCATATG
TTACCCAACGGGAAGCATATGCTATCGAATTAGGGTTAGTAAAAGGTCCTAAGGAACAGCGATGTAGGTGGGCGGGCCA
AGATAGGGGCGCGATTGCTGCGATCTGGAGGACAAATTACACACACTTGCGCCTGAGCGCCAAGCACAGGGTTGTTGGTC
CTCATATTCACGAGGTCGCTGAGAGCACGGTGGGCTAATGTTGCCATGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGC
ATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAATCTATA
TCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATC
CTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTAATAGAGATTAGGGTAGT
ATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATATACTACCCAAATATCTGGATAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTG
GGTAGCATATGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATATGCTATCCTAA
TCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATTTATATCTGGGTAGCATAGGCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGCATAT
GCTATCCTAATCTATATCTGGGTAGTATATGCTATCCTAATCTGTATCCGGGTAGCATATGCTATCCTCACGATGATAAG
CTGTCAAACATGAGAATTAATTTCTTGAAGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAAT
AATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACCTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATT
CAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAA
CATTTCCGTGTCGCCCTTATTTCCCTTTTTTTGCGGCATTTTGCTTTCCTGTTTTTTGCTCACCCAGAAAACGCTGGTGAAAGT
AAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTT
TTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTGACGCC
GGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCCGCATACACTATTTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTACCCAGTCACAGAAAAGCATCT
TACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAAGTGCAGGCAACTTACTTCTGA
CAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAAGTGCCTTGATCGTTGGGAA
CCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACT
ATTAAGTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCAC
TTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATT
GCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACG
AAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTT
AGATTGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCT
TAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCG
CGTAATCTGCTGCTTGCAACAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGATCAAGAGCTACCAACTCTTT
TTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTC
AAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTG
TCTTACCGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTTCGTGCACACAGC
CCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGG
AGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGACGGTTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTG
GTATCTTTATAGTCTGTGCGGTTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCC
TATGGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCCTTTTTACGGTTCTCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCTGCG
TTATCCCTGATTTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGCCAAGACCGGAGCG
CAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGTACATTTATATTGGCTCATGTCCAATATGACCGCCATGTTGACATTGATTATTGA
CTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCATTAGTTTCATAGCCCATATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTA
AATGGCCCCGCTGGCTGACCGCCCAACGACCCCCGCCCATTTGACGTCAATAATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAAT
AGGGACTTTCCATTGACGTCAATGGGTGGAGTATTTACGGTAAACTGCCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATATGC

CAAGTCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGGTAAATGGCCCCGCTGGCATTATGCCCAGTACATGACCTTACGGGACTTT
 CCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTCATCGCTATTACCATGGTGATGCGGTTTTTGGCAGTACACCAATGGGCGTG
 ATAGCGGTTTGACTCACGGGGATTTCCAAGTCTCCACCCCATTTGACGTCAATGGGAGTTTGTTTTGGCACCAAAATCAAC
 GGGACTTTTCAAAATGTCGTAATAACCCCGCCCCGTTGACGCAAAATGGGCGGTAGGCGTGTACGGTGGGAGGTCTATATA
 AGCAGAGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATCCTCACTCTCTTCCGCATCGCTGTCTGCGAGGGCCAGCTGTTGGGCTCGCG
 GTTGAGGACAAACTCTTCGCGGTCTTTCCAGTACTCTTGGATCGGAAAACCCGTCGGCCTCCGAACGGTACTCCGCCACCG
 AGGGACCTGAGCGAGTCCGCATCGACCGGATCGGAAAACCTCTCGAGAAAGGCGTCTAACCAGTCACAGTCGCAAGGTAG
 GCTGAGCACCGTGGCGGGCGGCAGCGGGTGGCGGTTCGGGGTTGTTTCTGGCGGAGGTGCTGCTGATGATGTAATTAAAGT
 AGGCGGT

10

SEQ ID NO:142
 GGGTTCCAGGTTCCACTGGCGAGGTCCAGCTGCAACAATCTGG

SEQ ID NO:143
 GGGTTCCAGGTTCCACTGGCCAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGG

SEQ ID NO:144
 GGGTTCCAGGTTCCACTGGCGAGATCCAGCTGCAGCAGTCTGG

SEQ ID NO:145
 GGGTTCCAGGTTCCACTGGCGAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGG

20

SEQ ID NO:146
 GGGTTCCAGGTTCCACTGGCCAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGG

SEQ ID NO:147
 GGGGCCAGGGGAAAGACAGATGGGCCCTTCGTTGAGGC

SEQ ID NO.:148
 $RSX_{1a}X_{2a}SLLHSNGX_{3a}TYLY$
 X_{1a} は中性親水性アミノ酸；
 X_{3a} は疎水性アミノ酸またはアスパラギン；
 X_{2a} はリジンまたはグルタミン酸。

30

SEQ ID NO.:149
 $X_{1b}MSNLAS$
 X_{1b} は塩基性アミノ酸。

SEQ ID NO.:150
 $RX_{1c}SNLX \times S$
 X_{1c} はメチオニンまたはスレオニン；
 X_{2c} は疎水性アミノ酸。

40

SEQ ID NO.:151
 $X_{1d}QX_{2d}LEX_{3d}PX_{4d}T$
 X_{1d} は疎水性アミノ酸；
 X_{2d} は塩基性アミノ酸；
 X_{3d} はチロシンまたはロイシン；および
 X_{4d} は芳香族アミノ酸。

50

SEQ ID NO.:152

QQWSSNPX_{1e}T

X_{1e}はプロリンまたはロイシン。

SEQ ID NO.:153

GYTFX_{1f}X_{2f}YX_{3f}MX

X_{1f}はスレオニンまたはアスパラギン；

X_{2f}はスレオニン、アルギニン、セリンまたはアスパラギン酸；

X_{3f}はトリプトファン、アスパラギン、アスパラギン酸またはグルタミン酸；および

X_{4f}はチロシン、ヒスチジン、アスパラギン酸。

10

SEQ ID NO.:154

GYTFTDYX_{5f}MH

X_{5f}は酸性アミノ酸。

SEQ ID NO.:155

LINPX_{1g}NX_{2g}RX_{3g}N

X_{1g}中性疎水性アミノ酸；

X_{2g}アラニンまたはグリシン；および

X_{3g}プロリンまたはスレオニン。

20

SEQ ID NO.:156

X_{1h}IDPETGGTA

X_{1h}はアラニンまたはスレオニン。

SEQ ID NO.:157

EIX_{1i}PX_{2i}X_{3i}SX_{4i}X_{5i}N

X_{1i}はアスパラギン酸またはアスパラギン；

X_{2i}はアスパラギン酸またはセリン；

X_{3i}はアスパラギン酸またはセリン；

X_{4i}はチロシンまたはスレオニン；および

X_{5i}はスレオニンまたはイソロイシン。

30

SEQ ID NO.:158

TX_{1j}FYYX_{2j}X_{3j}X_{4j}NYDVGFA Y

X_{1j}は中性親水性アミノ酸；

X_{2j}は中性親水性アミノ酸；

X_{3j}はチロシンまたはヒスチジン；

X_{4j}はチロシンまたはセリン。

40

SEQ ID NO.:159

GTAAGCGAATTCATGGTGAAAAC TAGAAGAGACGC

SEQ ID NO.:160

GTAAGCAAGCTTTTAGCCGTGGAAGCGGAACAGG

SEQ ID NO.:161 (25B02 可変軽鎖DNA)

AACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGCATCTGTGGGAGAACTGTCACCATCACATGTCGAGCAAGTGA
GAATATTTACAGTTATTTAGCATGGTATCAACAGAAGCAGGGAAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATAATGCAAAAAACCT
TACCAGAAGGTGTGTCAGTAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAGTTTTCTCTGAAGATCAACAACCTGCAGCCT

50

GAAGATTTTGGGAGTTATCACTGTCAACATCATTATGGTGTTCCTCTTACGTTTCGGTTCTGGGACCAAGCTGGAGTTGAA
A

SEQ ID NO.:162 (25B02 可変軽鎖アミノ酸)

NIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQKSPQLLVYNAKTLPEGVSVRFSGSGSGTQFSLKINNLP
EDFGSYHCQHHYGVPLTFGSGTKLELK

SEQ ID NO.:163 (25B02 可変重鎖DNA)

CAGGTGAAGCTTCAGCAGTCCGGGGCTGAGCTGGCAAGACCTGGGGCTTCAGTGAAGTTTTCTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTCACTAGGAACTGGATACAGTGGGTAAAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGGGCTATTTATCCTG
GAAATGGTGATAGTAGGTATACTCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGCAGATAAATCCTCGAACACAGCCTAC
ATGCAACTCAGCGGTTTGGCATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGATTGGCTGGTAACTACGCTTACTACTT
TGACTACTGGGGCCAAGGCACCGCTCTCACAGTCTCCTCA

10

SEQ ID NO.:164 (25B02 可変重鎖アミノ酸)

QVKLQQSGAELARPGASVKFSCASGYTFTRNWIQWVKQRPQGLEWIGAIYPGNDSRYTQKFKGKATLTADKSSNTAY
MQLSGLASEDSAVYYCARLAGNYAIFYDYWGQGTALTSS

SEQ ID NO.:165 (25D11 可変軽鎖DNA)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGCATCTGTGGGAGAACTGTCACCATCACATGTCGAGCAAGTGG
GAATATTCACAATTATTTAGCATGGTATCAACAGAAGCAGGGAAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATAATGCAAAAACCT
TACCAGAAGGTGTGTCACTAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAGTTTTCTCTGAAGATCAACAACCTGCAGCCT
GAAGATTTTGGGAGTTATCACTGTCAACATCATTATGGTGTTCCTCTTACGTTTCGGTTCTGGGACCAAGCTGGAGTTGAA
A

20

SEQ ID NO.:166 (25D11 可変軽鎖アミノ酸)

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQKSPQLLVYNAKTLPEGVSVRFSGSGSGTQFSLKINNLP
EDFGSYHCQHHYGVPLTFGSGTKLELK

SEQ ID NO.:167 (25D11 可変重鎖DNA)

CAGGTGAAGCTTCAGCAGTCCGGGGCTGAGCTGGCAAGACCTGGGGCTTCAGTGAAGTTTTCTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTCACTAGGAACTGGATACAGTGGGTAAAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGGGCTATTTATCCTG
GAAATGGTGATAGTAGGTATACTCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGCAGATAAATCCTCGAACACAGCCTAC
ATGCAACTCAGCGGTTTGGCATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGATTGGCTGGTAACTACGCTTACTACTT
TGACTACTGGGGCCAAGGCACCGCTCTCACAGTCTCCTCA

30

SEQ ID NO.:168 (25D11 可変重鎖アミノ酸)

QVKLQQSGAELARPGASVKFSCASGYTFTRNWIQWVKQRPQGLEWIGAIYPGNDSRYTQKFKGKATLTADKSSNTAY
MQLSGLASEDSAVYYCARLAGNYAIFYDYWGQGTALTSS

40

SEQ ID NO.:169 (25E10 可変軽鎖DNA)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGCATCTGTGGGAGAACTGTCACCATCACATGTCGAGCAAGTGG
GAATATTCACAATTATTTAGCATGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATAATGCAAAAACCC
TAGCAGATGGTGTGCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGAACACAATATTCTCTCAAGATCAACAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGGGAGTTATTACTGTCAACATCATTACGGTGCTCCTCTTACGTTTCGGTGCTGGGACCAAGGTGGAGCTGAA
A

SEQ ID NO.:170 (25E10 可変軽鎖アミノ酸)

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQKSPQLLVYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQP
EDFGSYHCQHHYGAPLTFGAGTKVELK

50

SEQ ID NO.:171 (2 5 E 1 0 可変重鎖 D N A)

GATGTGCAGCTGCAACAATCTGGGGCTGAGCTGGCAAGACCTGGGGCTTCAGTGAAGTTTTCTGCAAGGCTTCTGGCTA
CACCTTTACTAGGAACTGGATACAGTGGGTAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGGGCTGTTTATCCTG
GAAATGGTGATAGTAGGTATACTCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGCAGATAAATCCTCCAGCACAGCCTAC
ATGCAACTCAACAGTTTGTTCATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGCGCAAGATTGGCTGGTAACTACGCTTACTACTT
TGACTACTGGGGCCAAGGCACCGCTCTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO.:172 (2 5 E 1 0 可変重鎖 アミノ酸)

DVQLQQSGAELARPGASVKFSCKASGYTFTRNWIQWVKQRPQGLEWIGAVYPGNGDSRYTQKFKGKATLTADKSSSTAY
MQLNSLSSEDSAVYYCARLAGNYAIFYFDYWGQGTALTIVSS

10

SEQ ID NO.:173

RASENIYSYLA

SEQ ID NO.:174

NAKTLPE

SEQ ID NO.:175

QHHYGVPLT

20

SEQ ID NO.:176

GYTFTRNWIQ

SEQ ID NO.:177

AIYPGNGDSR

SEQ ID NO.:178

ARLAGNYAIFYFDY

30

SEQ ID NO.:179

RASGNIHNYLA

SEQ ID NO.:180

NAKTLPE

SEQ ID NO.:181

QHHYGVPLT

SEQ ID NO.:182

GYTFTRNWIQ

40

SEQ ID NO.:183

AIYPGNGDSR

SEQ ID NO.:184

ARLAGNYAIFYFDY

SEQ ID NO.:185

RASGNIHNYLA

50

SEQ ID NO.:186
NAKTLAD

SEQ ID NO.:187
QHHYGAPLT

SEQ ID NO.:188
GYTFTRNWIQ

SEQ ID NO.:189
AVYPGNGDSR

SEQ ID NO.:190
ARLAGNYAYYFDY
【 0 4 9 0 】

【表 8】

表5A:抗S i g l e c-15重鎖可變配列									
ID	FR1	CDR-H1	FR2	CDR-H2	FR3	CDR-H3	FR4		
25G7	QVQVQQPGAELVRPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKQRPQGQLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC	ARGGDGYF-----DY	WGQGTTLTVSS		
25G8	QVQVQQPGAELVRPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKQRPQGQLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC	ARGGDGYF-----DY	WGQGTTLTVSS		
25H1	QVQVQQPGTELVKPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKQRPQGQLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC	ARGGDGYF-----DY	WGQGTTLTVSS		
25H2	QVQVQQPGAELVRPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKQRPQGQLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC	ARGGDGYF-----DY	WGQGTTLTVSS		
25H5	QVQLQQSGAEELVKPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKQRPQGQLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC	ARGGDGYF-----DY	WGQGTTLTVSS		
25H6	QVQLQQSGAEELVKPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKQRPQGQLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC	ARGGDGYF-----DY	WGQGTTLTVSS		
25H7	QVQVQQPGAELVRPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKQRPQGQLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC	ARGGDGYF-----DY	WGQGTTLTVSS		
25H8	QVQVQQPGAELVRPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKQRPQGQLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC	ARGGDGYF-----DY	WGQGTTLTVSS		
25B2	QVKLQQSGAEELARPGASVKFSCKAS	GYTFTRNWIQ	WVKQRPQGQLEWIG	AIYPGNGDSR	YTQKFKGKATLTADKSSNTAYMQLSGLASEDSAVYYC	ARLAGNYAYF-----DY	WGQGTALTVSS		
25D11	QVKLQQSGAEELARPGASVKFSCKAS	GYTFTRNWIQ	WVKQRPQGQLEWIG	AIYPGNGDSR	YTQKFKGKATLTADKSSNTAYMQLSGLASEDSAVYYC	ARLAGNYAYF-----DY	WGQGTALTVSS		
25E10	DVQLQQSGAEELARPGASVKFSCKAS	GYTFTRNWIQ	WVKQRPQGQLEWIG	AVYPGNGDSR	YTQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLSSEDSAVYYC	ARLAGNYAYF-----DY	WGQGTALTVSS		
25E5	EVKLEESGGGLVQPGGSLKLSCAAS	GFDFSKDWS	WVKQAPGKQLEWIG	EINPDSSTIN	YAPSLKDKFLISRENAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYC	SRLEDYEDWYF-----DV	WGAGTTTVTVSS		
25B6	QAYLQQSGVELVRPGASVTLSCAS	GYTFTDYDMH	WVKQTPVHGLEWIG	TIDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADRSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYC	TSFYTYTSYNYDVGF-AY	WGQGTTLTVSA		
25B11	EIQLQQSGVELVRPGASVTLSCAS	GYTFTDYDMH	WVKQTPVHGLEWIG	TIDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADRSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYC	TSFYTYTSYNYDVGF-AY	WGQGTTLTVSA		
25E9	EIQLQQSGVELVRPGASVTLSCAS	GYTFTDYDMH	WVKQTPVHGLEWIG	TIDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADRSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYC	TSFYTYTSYNYDVGF-AY	WGQGTTLTVSA		
25C1	EIQLQQSGAEELVRPGASVTLSCAS	GYTFTDYEMH	WVKQTPVHGLEWIG	AIDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYC	TSFYTYTYNYDVGF-AY	WGQGTTLTVSA		
25B8	EIQLQQSGVELVRPGASVTLSCAS	GYTFTDYDMH	WVKQTPVHGLEWIG	TIDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADRSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYC	TSFYTYSHYNYDVGF-AY	WGQGTTLTVSA		
25A1	EVQLQQSGTELVKPGSSVKISCKAS	GYTFTRYWMD	WVKQRPQGQLEWIG	EIDPSDSYTN	YNQKFKGKATLTVDKFSRTAYMELSSLTSEDSAVYYC	ARSGAYSSDYSYDGFAY	WGQGTTLTVSA		

【表 9】

表5B:抗Siglec-15重鎖可變配列									
ID	FR1	CDR-L1	FR2	CDR-L2	FR3	CDR-L3	FR4		
25E6	SIVMTQTPKFLILVSAGDRVITC	KASQSVS-----NAVA	WYQOKPGQSPKLLIY	YTSNRYT	GVPDRFTGSGYGTDFTTITTVQAEADLAVYFC	QDYTSPWT	FGGGTKLEIK		
25H10	SIVMTQTPKFLILVSAGDRVITC	KASQSVS-----NAVA	WYQOKPGQSPKLLIY	YTSNRYT	GVPDRFTGSGYGTDFTTITTVQAEADLAVYFC	QDYTSPWT	FGGGTKLEIK		
25H11	SIVMTQTPKFLILVSAGDRVITC	KASQSVS-----NAVA	WYQOKPGQSPKLLIY	YTSNRYT	GVPDRFTGSGYGTDFTTITTVQAEADLAVYFC	QDYTSPWT	FGGGTKLEIK		
25A3	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK		
25A5	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK		
25A11	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK		
25B4	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25B12	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25C9	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK		
25C10	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK		
25D3	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK		
25D4	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25D5	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25D6	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25D8	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK		
25D10	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25E7	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25E8	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25E12	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK		
25F2	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25F3	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25F5	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK		
25F6	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25F7	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25F9	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25F10	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25F11	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25F12	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25G3	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		
25G4	DIVMTQAAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHSHNGITYLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGYYC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK		

【表 10】

表5B:抗S i g l e c-1 5重鎖可変配列									
ID	FR1	CDR-L1			FR2	CDR-L2	FR3		
									CDR-L3
									FR4
25G7	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY			WYLQKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		MQHLEYPT
25G8	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY			WYLQKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		MQHLEYPT
25H1	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY			WYLQKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		AQNLELPT
25H2	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY			WYLQKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		MQHLEYPT
25H5	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY			WYLQKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		AQNLELPT
25H6	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY			WYLQKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		AQNLELPT
25H7	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY			WYLQKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		AQNLELPT
25H8	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY			WYLQKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		MQHLEYPT
25B2	NIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASENIY-----SYLA			WYQOKQGRSPQLLVY	NAKTLPE	GVSVRFSGSGGTQFSLKINNLPQPEDEFSYHC		QHHYGVPLT
25D11	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASGNIH-----NYLA			WYQOKQGRSPQLLVY	NAKTLPE	GVSVRFSGSGGTQFSLKINNLPQPEDEFSYHC		QHHYGVPLT
25E10	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASGNIH-----NYLA			WYQOKQGRSPQLLVY	NAKTLAD	GVPSRFSGSGGTQFSLKINNLPQPEDEFSYHC		QHHYGAFLT
25E5	QIVLTQSPATLMSASPGKVTMTC	SASSSV-----SYMY			WYQOKPRSSPKPWY	RTSNLVS	GVPSRFSGSGGTQFSLKINNLPQPEDEFSYHC		QWSSNPPT
25B6	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY			WFLQRPQSPQLLIY	RMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		MQHLEYPT
25B11	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSTKSLHNSNGITYLY			WFLQRPQSPQLLIY	RMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		MQHLEYPT
25E9	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSTKSLHNSNGITYLY			WFLQRPQSPQLLIY	RMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		MQHLEYPT
25C1	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY			WFLQRPQSPQLLIY	RMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		MQHLEYPT
25B8	DIVMTQAAFSNPVTILGTSASISC	RSTKSLHNSNGITYLY			WFLQRPQSPQLLIY	RMSNLAS	GVPDRFSGSGGTFTLRISRVEAEDVGVYYC		MQHLEYPT
25A1	ENVLTQSPAIMASPGKVTISC	SASSSV-----SYMY			WYQOKPRSSPKPWY	RTSNLAS	GVPSRFSGSGGTQFSLKINNLPQPEDEFSYHC		QWSSNPPT

10

20

30

40

【図 12】

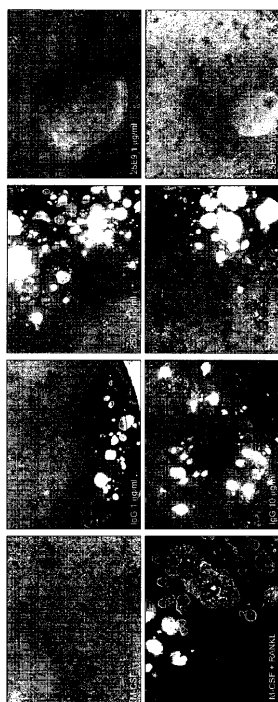
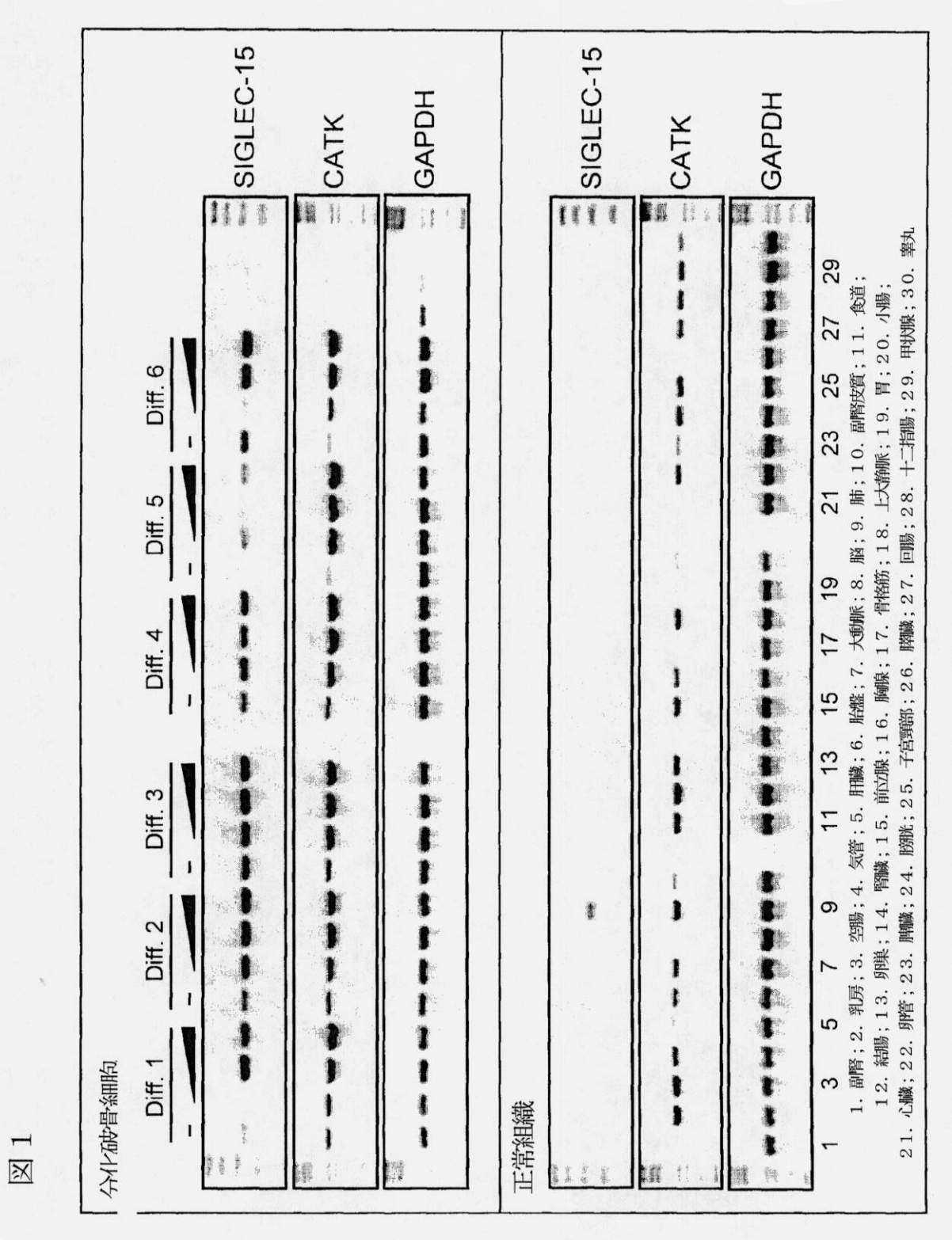


FIGURE 12

【 図 1 】



【図 2】

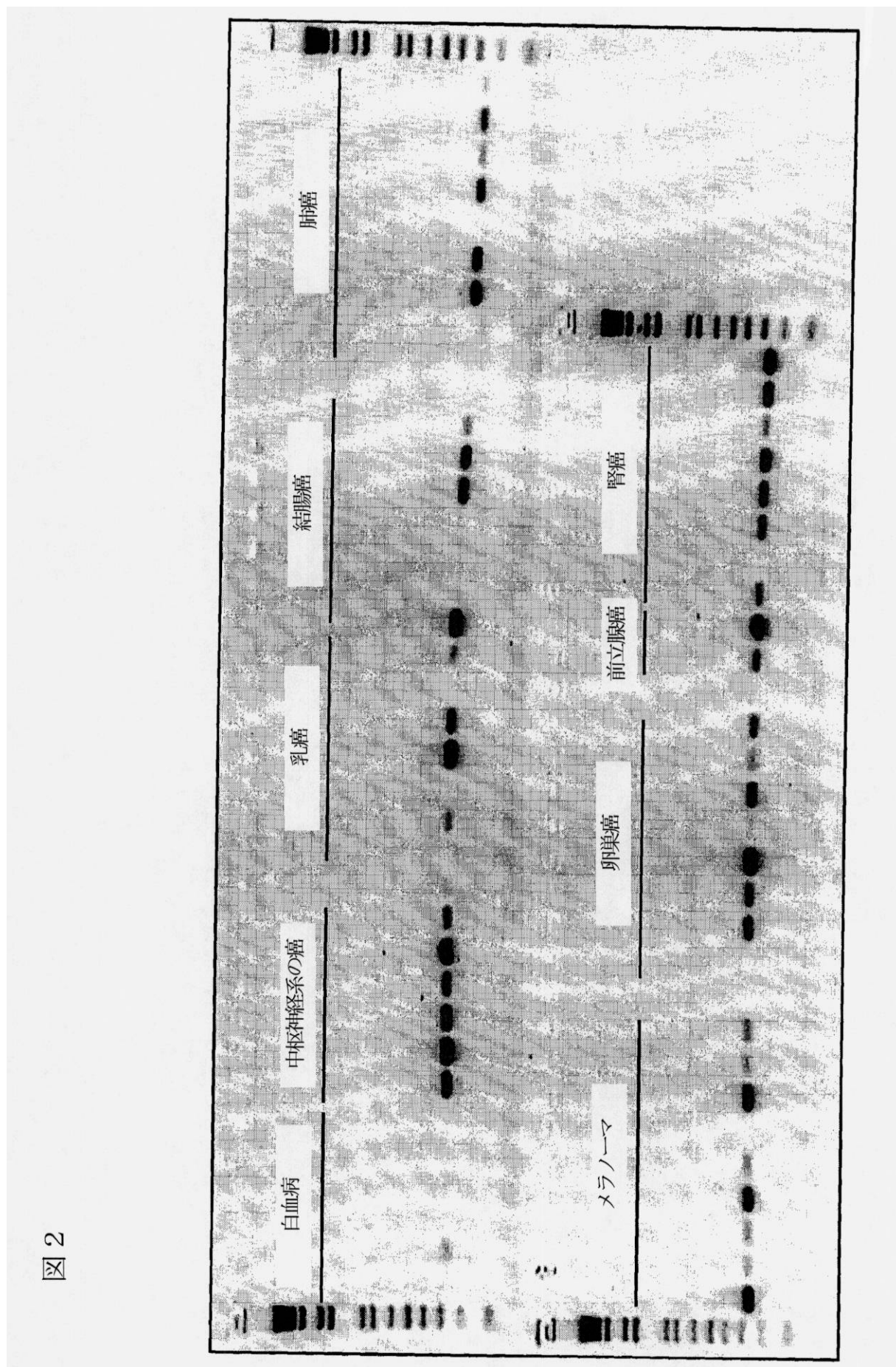


図 2

【図 3】

FIGURE 3

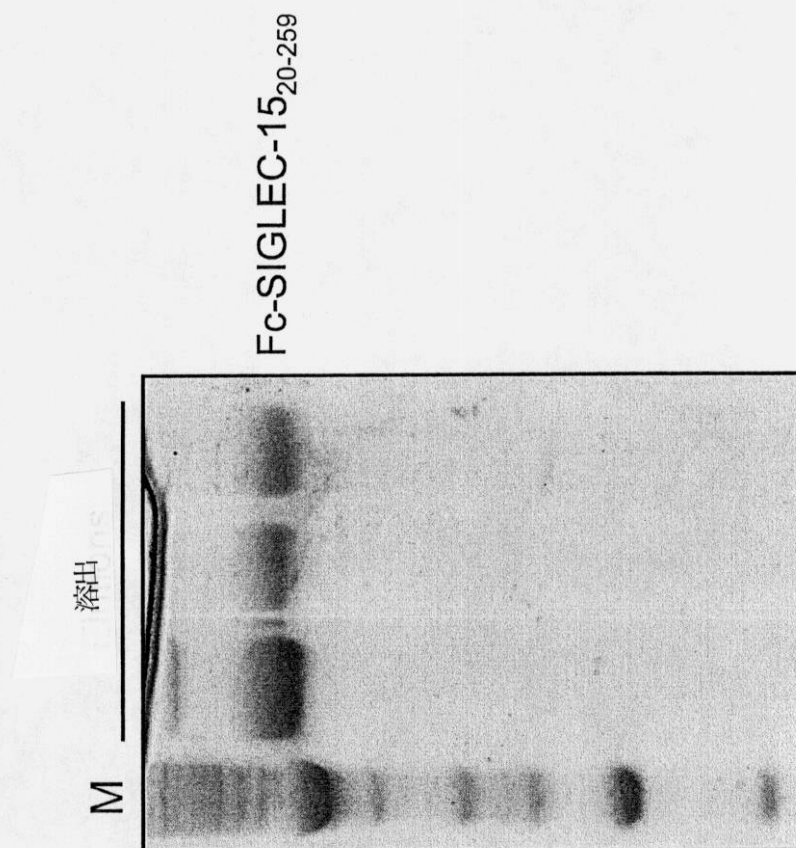


FIGURE 4

A

バイオチン標識Fc-Siglec-15₂₀₋₂₅₉を用いたELISA

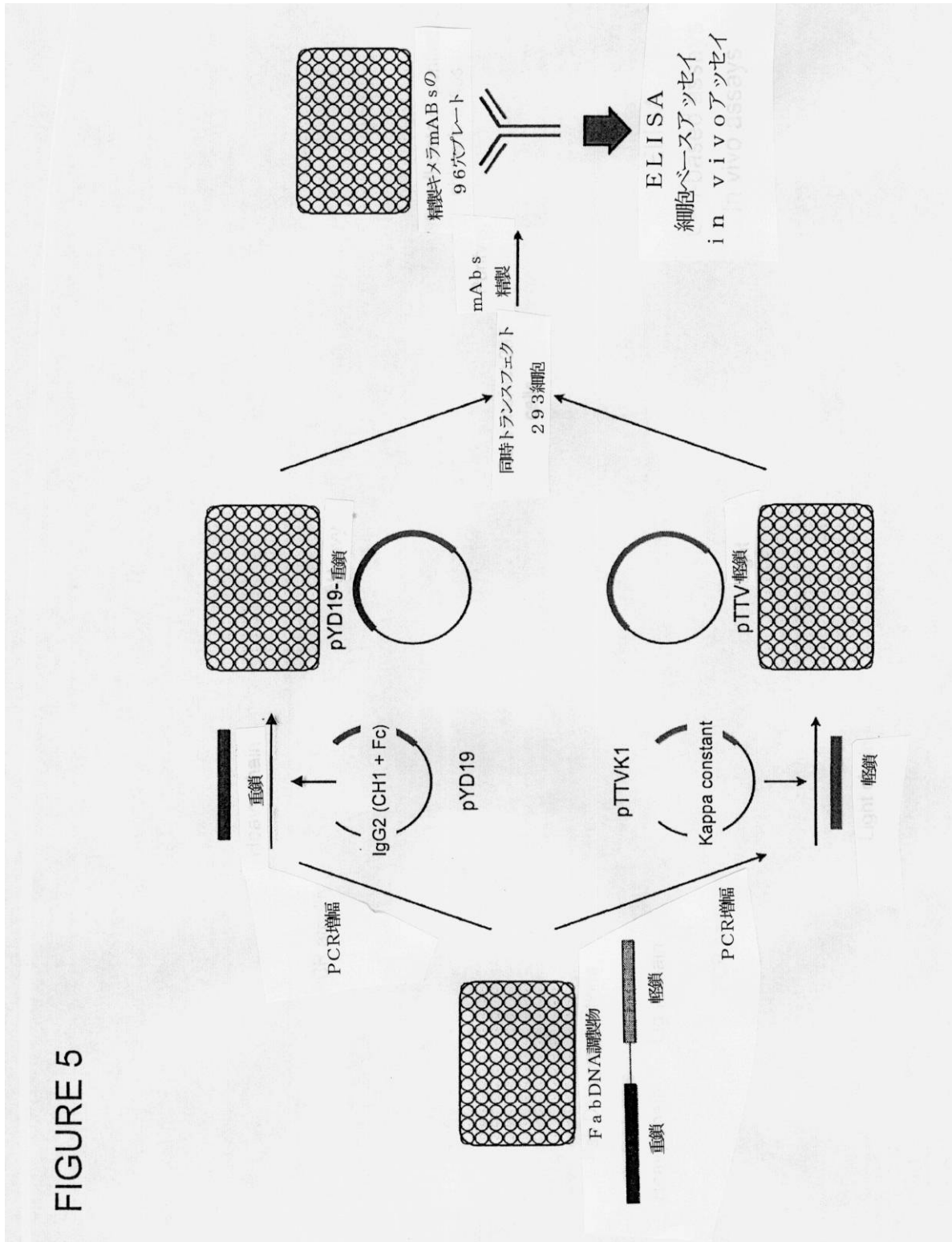
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.793	0.828	1.079	0.151	0.98	0.125	0.133	0.133	0.136	0.15	0.782	0.384
B	0.603	0.158	0.147	1.001	0.143	0.313	0.141	0.613	0.716	0.156	0.457	1.052
C	0.473	0.155	0.443	0.134	0.118	1.005	0.163	0.517	0.966	0.93	1.059	0.151
D	0.152	0.17	1.319	1.118	1.07	1.094	0.161	0.909	0.155	0.979	0.158	0.148
E	0.354	0.167	0.952	0.169	0.312	0.436	0.518	0.968	0.491	0.13	0.169	1.018
F	0.142	1.131	1.111	1.027	0.573	0.751	0.818	0.15	0.845	0.512	0.888	0.997
G	0.153	0.162	1.108	0.854	0.509	0.246	0.732	0.869	0.39	0.847	0.356	0.221
H	0.916	1.254	0.18	0.31	1.192	1.219	0.905	0.868	0.24	0.518	0.479	1.115

B

バイオチン標識Fcを用いたELISA

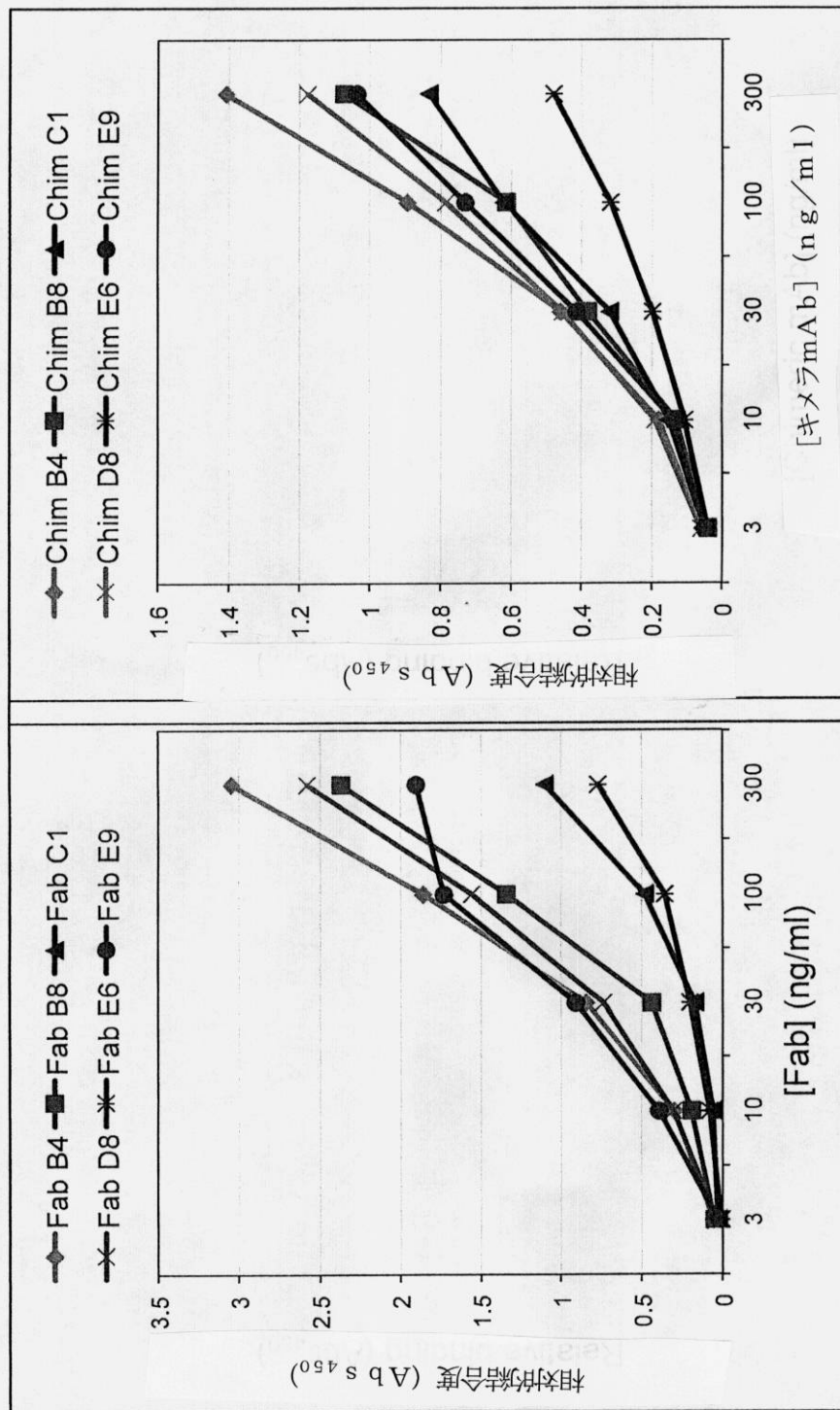
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.118	1.879	0.112	0.119	0.119	0.113	0.102	1.002	0.123	0.101	0.133	1.603
B	1.811	0.129	0.123	0.12	0.124	0.134	0.231	0.151	1.872	0.185	0.124	0.152
C	0.168	0.185	1.585	0.13	0.161	0.122	0.138	1.771	0.167	0.16	1.946	0.261
D	0.117	0.173	0.134	0.12	0.133	0.128	0.133	0.137	0.152	0.209	0.219	0.255
E	1.284	0.126	1.883	0.138	0.132	0.135	0.135	0.12	0.143	0.151	0.139	0.148
F	0.116	0.146	0.14	1.805	0.197	0.145	0.144	0.132	0.158	0.152	0.13	0.14
G	0.128	0.13	0.138	0.128	0.137	0.134	0.126	0.125	0.135	0.134	0.132	0.146
H	0.128	0.139	0.13	0.124	0.141	0.147	0.136	0.138	0.131	0.127	0.134	1.982

【図 5】



【図 6】

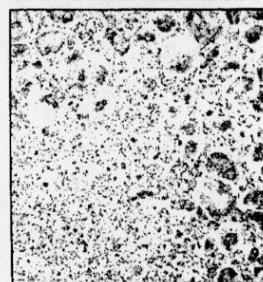
FIGURE 6



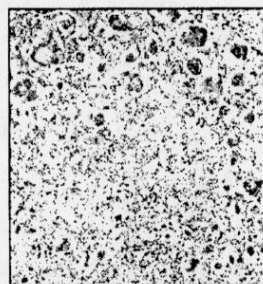
【図 7】

図 7

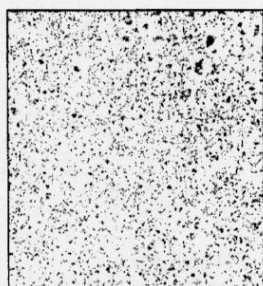
25B8



0.3 µg/ml

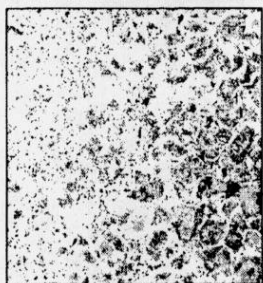


3.0 µg/ml

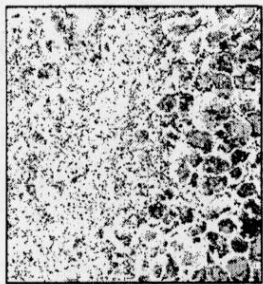


10 µg/ml

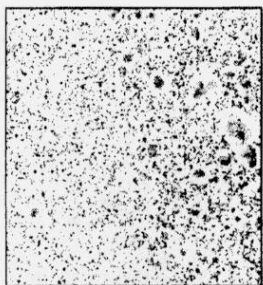
25E6



0.3 µg/ml

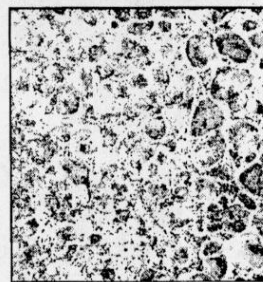


3.0 µg/ml

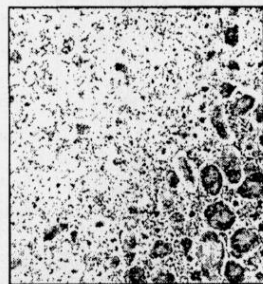


10 µg/ml

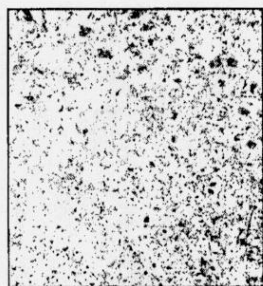
25E9



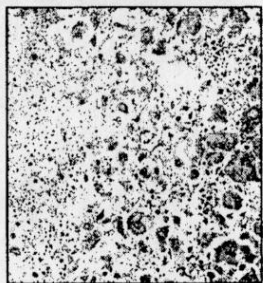
0.3 µg/ml



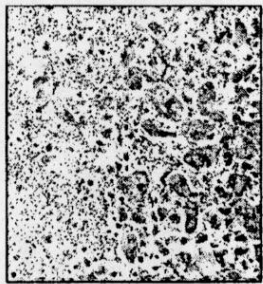
3.0 µg/ml



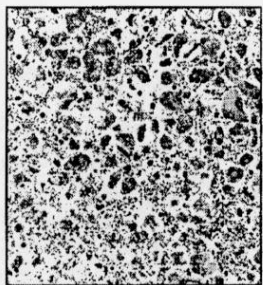
10 µg/ml

対照 IgG₂

0.3 µg/ml

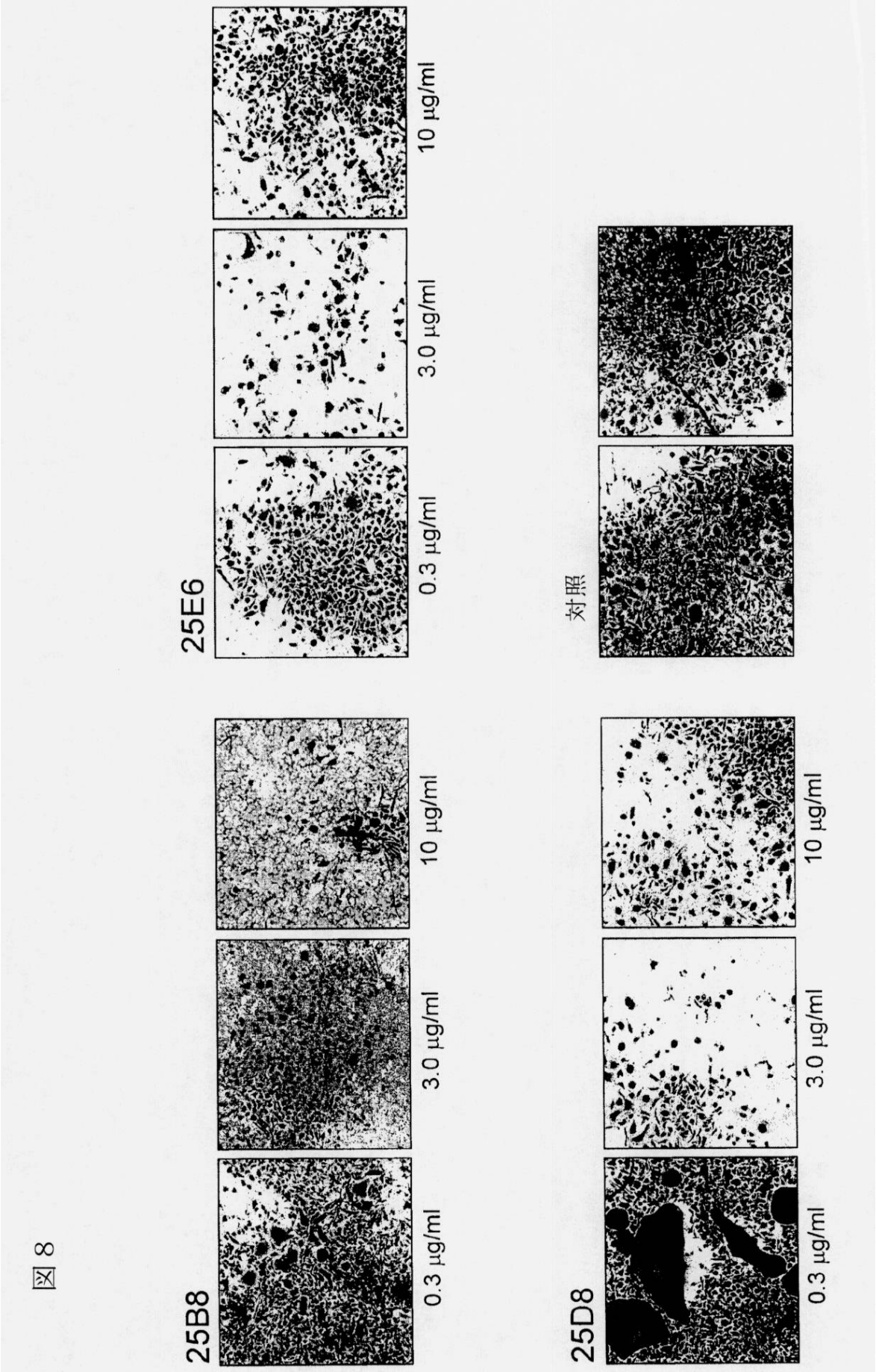


3.0 µg/ml



100 µg/ml

【 図 8 】



【図 9】

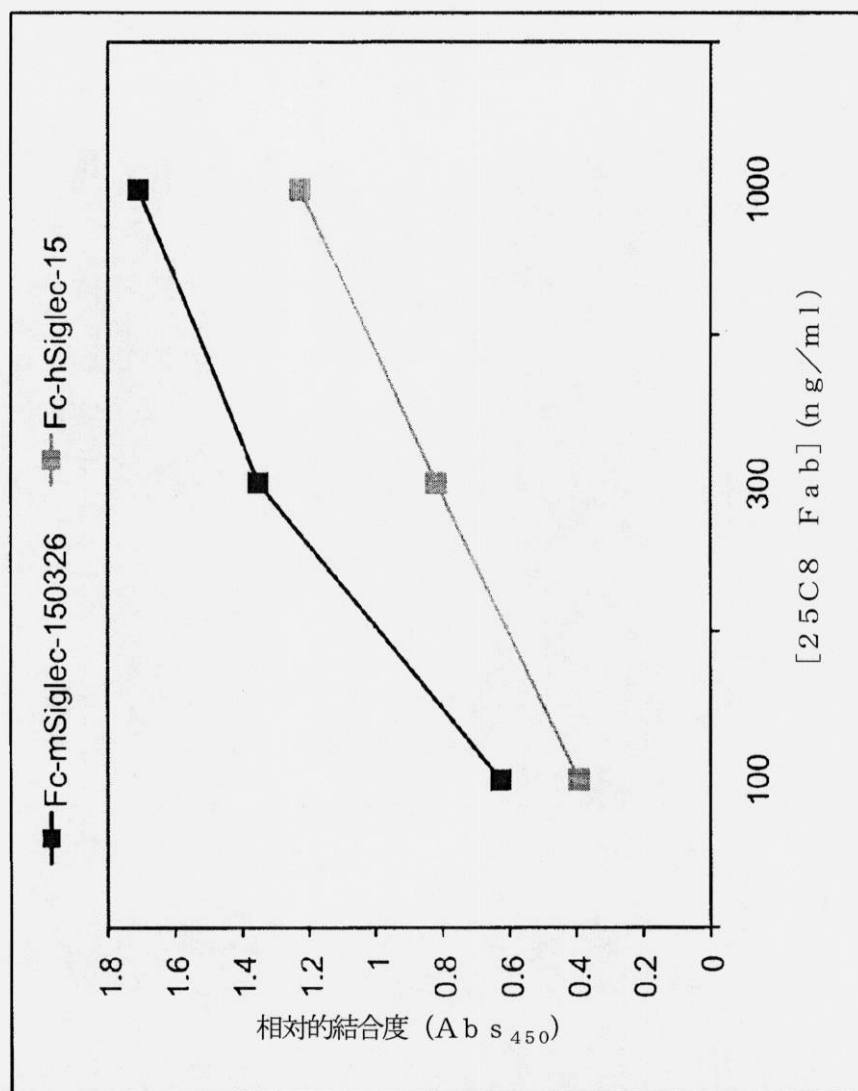


図 10 A

[illegible]

图 10 B

[illegible]

图 10 C

[illegible]

図 1 1 A

CDRH1- アライメント1	CDRH1- アライメント2	CDRH1- アライメント3	CDRH1- アライメント4
GYTFTDYDMH 10 GYTFTDYDMH 10 GYTFTDYDMH 10 GYTFTDYDMH 10 GYTFTDYEMH 10 GYTFTSYWMH 10 GYTFTRNWIQ 10 GYTFTRNWIQ 10 *****	GYTFTDYDMH GYTFTDYDMH GYTFTDYDMH GYTFTDYDMH GYTFTDYEMH *****:*	GFDFSKDWMS 10	

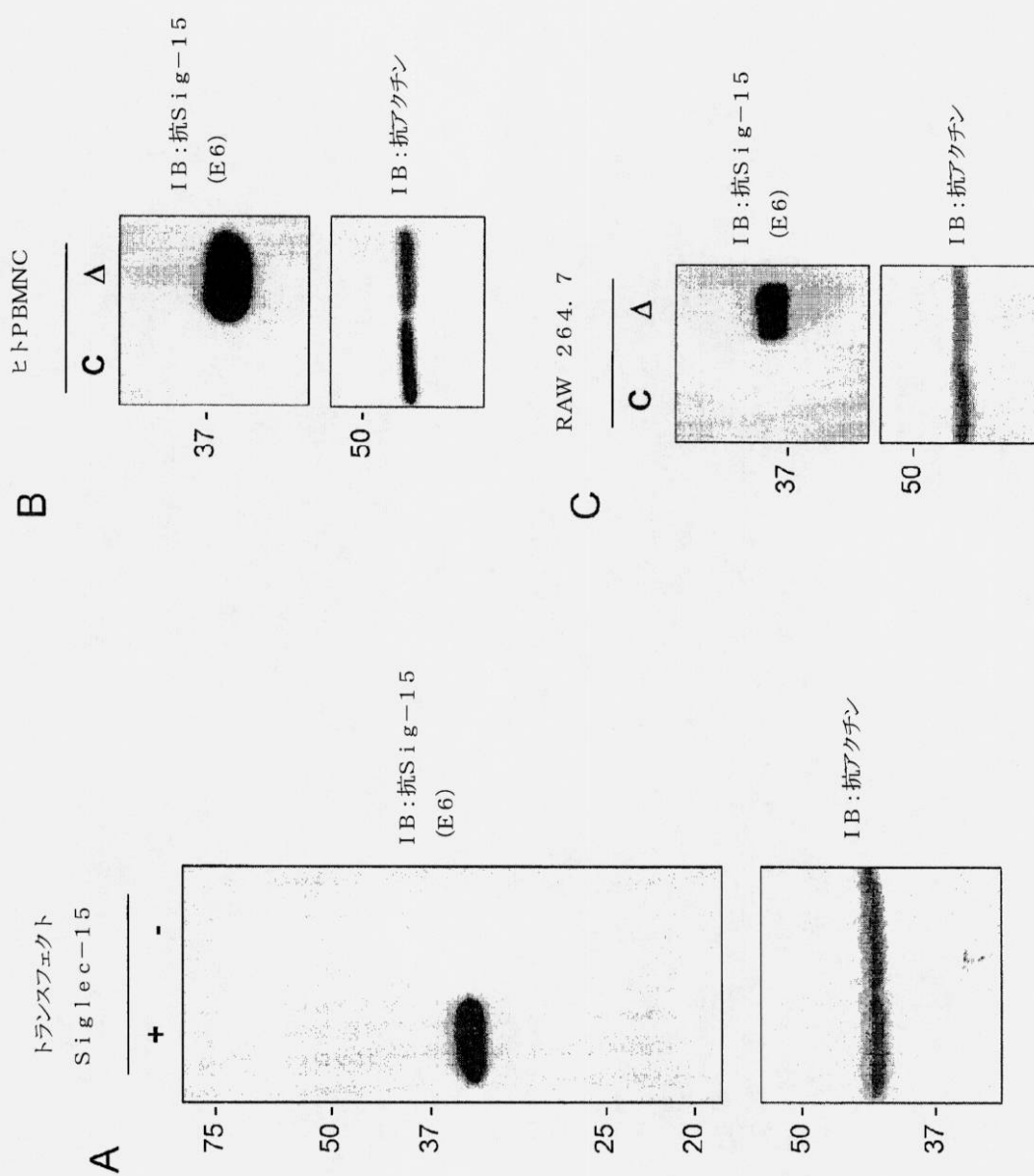
Figure 11B

[illegible]

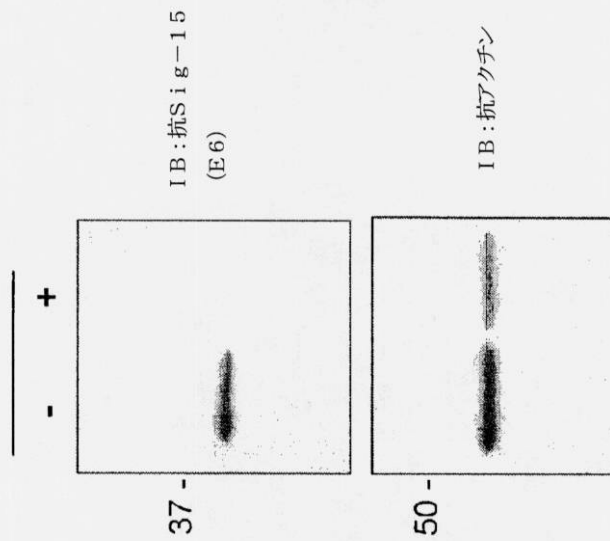
11C

[illegible]

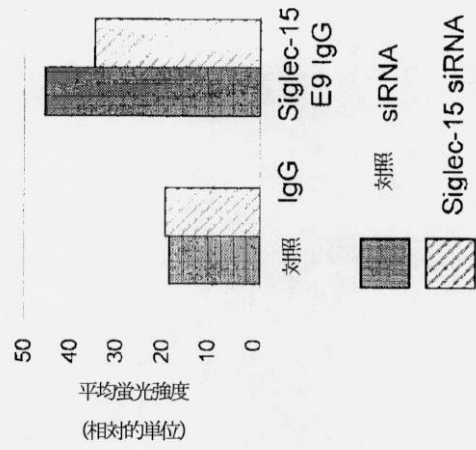
【図 13 A - C】



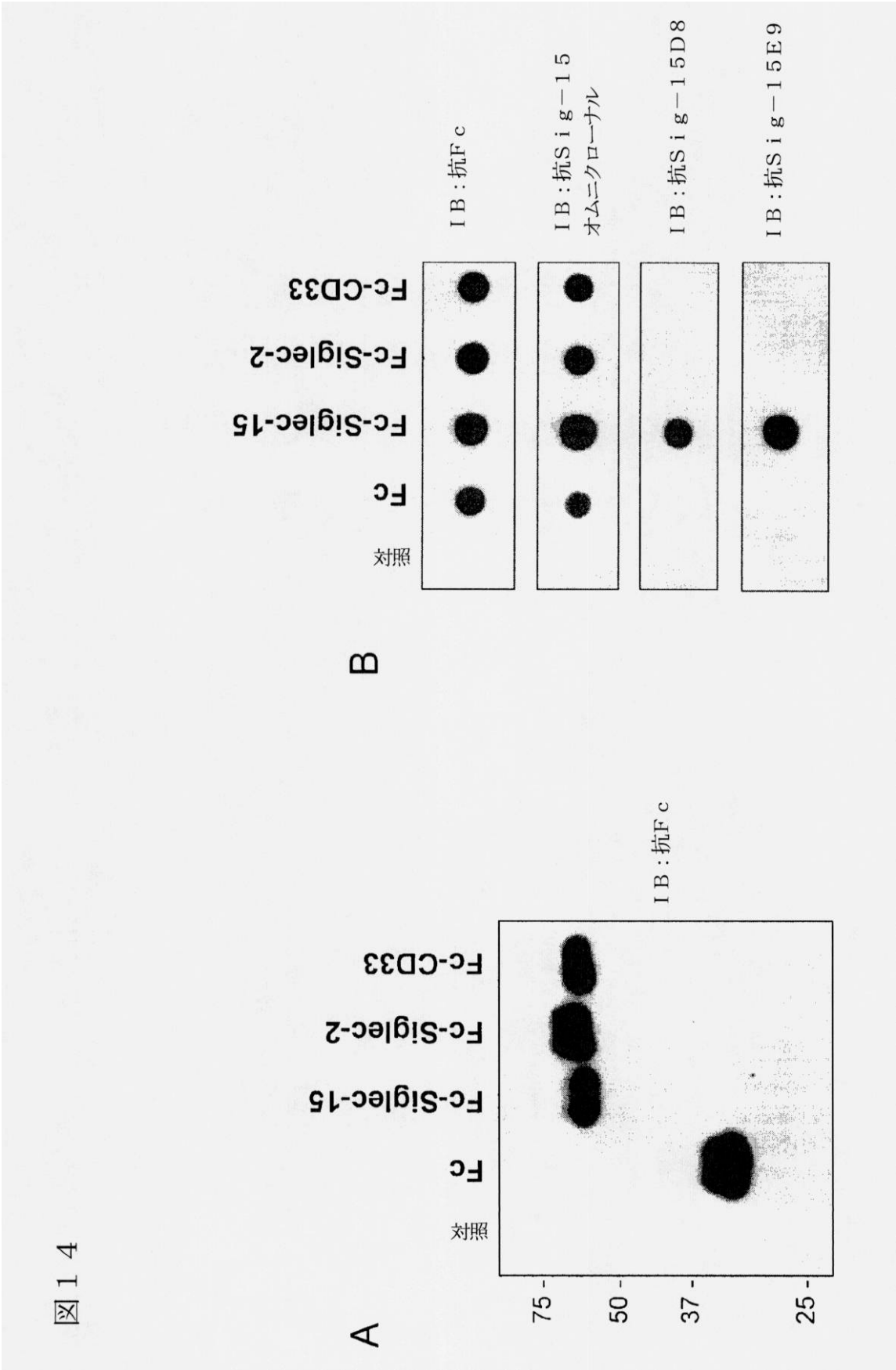
D
U87細胞移植
Siglec-15 siRNA



E



【 図 1 4 】



【図 1 5】

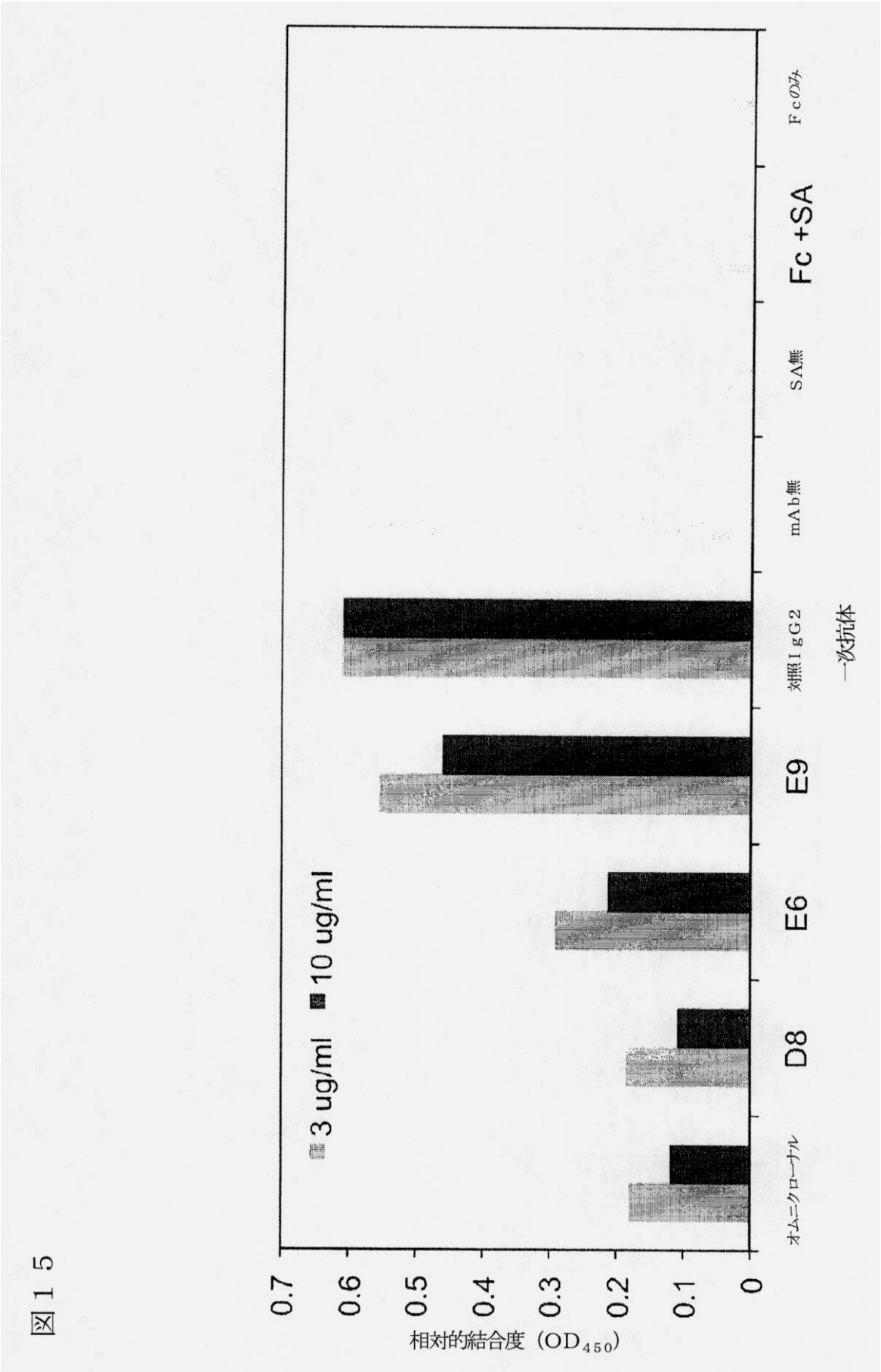


図 1 5

【配列表】

【手続補正書】

【提出日】平成23年8月4日(2011.8.4)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

破骨細胞の分化を促進できるポリペプチドに結合する能力を有し、シアル酸結合免疫グロブリン様レクチン15 (S i g l e c - 1 5 ; 配列番号2) の20番目から259番目までのアミノ酸の領域と少なくとも80%の配列同一性を有する、単離された抗体または抗原結合断片であって、

前記抗体または抗原結合断片は、破骨細胞の分化を阻害する能力、骨再吸収を阻害する能力、またはS i g l e c - 1 5 がシアル酸に結合するのをブロックする能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 2】

前記抗体または抗原結合断片は、破骨細胞前駆細胞が分化した破骨細胞に分化するのを阻害する能力を有する、請求項1に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 3】

前記単離された抗体または抗原結合断片は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片である、請求項2に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4】

単離された哺乳類細胞から産生されることを特徴とする、請求項3に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 5】

前記単離された哺乳類細胞がヒトの細胞である、請求項4に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 6】

前記単離された抗体は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片である、請求項5に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 7】

ヒト抗体の定常領域またはその断片のアミノ酸を含むヒト抗体またはキメラ抗体であることを特徴とする、請求項6に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 8】

前記定常領域またはその断片は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4に由来する、請求項7に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 9】

前記定常領域が、I g G 2に由来する、請求項8に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 10】

ヒト抗体の定常領域またはその断片のアミノ酸を含むヒト抗体またはキメラ抗体であることを特徴とする、請求項3に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 11】

前記定常領域またはその断片は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、またはI g G 4に由来する、請求項10に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 12】

前記定常領域が、I g G 2に由来する、請求項11に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 13】

前記抗原結合断片が、F V、s c F v、F a b、F a b'、または F (a b')₂である、請求項 2 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 14】

前記破骨細胞前駆細胞は、ヒト破骨細胞前駆細胞である、請求項 2 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 15】

前記ヒト破骨細胞前駆細胞は、初代ヒト破骨細胞前駆細胞である、請求項 8 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 16】

前記単離された抗体または抗原結合断片は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片であって、I g G 2 に由来する定常領域を有し、かつ、単離されたヒトの細胞から産生されることを特徴とする、請求項 9 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 17】

前記単離された抗体または抗原結合断片は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体、またはそれらの断片である、請求項 16 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 18】

ヒト抗体の定常領域またはその断片のアミノ酸を含むヒト抗体またはキメラ抗体であることを特徴とする、請求項 17 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 19】

前記定常領域またはその断片は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 に由来する、請求項 18 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 20】

前記定常領域が、I g G 2 に由来する、請求項 19 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 21】

非変性 S i g l e c - 1 5 に結合することを特徴とする請求項 1 乃至 20 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 22】

S i g l e c - 1 5 に特異的に結合し、S i g l e c - 2 または C D 3 3 には結合しないことを特徴とする請求項 21 に記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 23】

1 n g の抗体が、5 0 0 n g 未満の配列番号 2 に結合する能力を有することを特徴とする請求項 1 乃至 22 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片。

【請求項 24】

配列番号 2、または配列番号 2 の 20 番目から 259 番目までのアミノ酸の領域と少なくとも 80% の配列同一性を有するその変異体に特異的に結合する能力を有し、かつ卵巣癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞中の前記配列番号 2 またはその変異体を検出する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 25】

配列番号 2、または配列番号 2 の 20 番目から 259 番目までのアミノ酸の領域と少なくとも 80% の配列同一性を有するその変異体に特異的に結合する能力を有し、かつ卵巣癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞の増殖を阻害する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 26】

前記抗体が、配列番号 38 と少なくとも 70% の配列同一性を有する配列、配列番号 4

2と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号46と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号50と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号54と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号58と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号62と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号66と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号162と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号166と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、および配列番号170と少なくとも70%の配列同一性を有する配列からなる群から選択された配列を含む軽鎖可変ドメインを含む、請求項1乃至25のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項27】

前記抗体が、配列番号40と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号44と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号48と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号52と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号56と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号60と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号64と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号68と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号164と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、配列番号168と少なくとも70%の配列同一性を有する配列、および配列番号172と少なくとも70%の配列同一性を有する配列からなる群から選択された配列を含む重鎖可変ドメインを含む、請求項1または26のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項28】

S i g l e c - 1 5 またはその変異体に特異的に結合する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片であって、

前記抗体は、

a) 配列番号38で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号40で定義された重鎖可変ドメインの3CDRs、

b) 配列番号42で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号44で定義された重鎖可変ドメインの3CDRs、

c) 配列番号46で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号48で定義された重鎖可変ドメインの3CDRs、

d) 配列番号50で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号52で定義された重鎖可変ドメインの3CDRs、

e) 配列番号54で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号56で定義された重鎖可変ドメインの3CDRs、

f) 配列番号58で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号60で定義された重鎖可変ドメインの3CDRs、

g) 配列番号62で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号64で定義された重鎖可変ドメインの3CDRs、

h) 配列番号66で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号68で定義された重鎖可変ドメインの3CDRs、

i) 配列番号162で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号164で定義された重鎖可変ドメインの3CDRs、

j) 配列番号166で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号168で定義された重鎖可変ドメインの3CDRs、または

k) 配列番号170で定義された軽鎖可変ドメインの3CDRs、および配列番号172で定義された重鎖可変ドメインの3CDRsを含む、単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項29】

S i g l e c - 1 5 またはその変異体に特異的に結合する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片であって、

前記抗体は、

- a) 配列番号 194 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 191 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- b) 配列番号 195 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 192 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- c) 配列番号 196 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 193 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- d) 配列番号 38 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 40 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- e) 配列番号 42 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 44 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- f) 配列番号 46 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 48 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- g) 配列番号 50 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 52 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- h) 配列番号 54 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 56 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- i) 配列番号 58 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 60 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- j) 配列番号 62 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 64 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- k) 配列番号 66 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 68 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- l) 配列番号 162 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 164 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、
- m) 配列番号 166 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 168 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、または
- n) 配列番号 170 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 172 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメインを含む、単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 30】

- a) 配列番号 194 と少なくとも 70 % の配列同一性を有し、かつ配列番号 148 または配列番号 201 で定義された C D R L 1 と、配列番号 149 で定義された C D R L 2 と、配列番号 151 または配列番号 203 で定義された C D R L 3 とを有する軽鎖可変ドメイン、および
- b) 配列番号 191 と少なくとも 70 % の配列同一性を有し、かつ配列番号 153 または配列番号 205 で定義された C D R H 1 と、配列番号 155 または配列番号 207 で定義された C D R H 2 と、配列 A R G G D G D Y F D Y を有する C D R H 3 とを有する重鎖可変ドメイン、を含むことを特徴とする請求項 29 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 31】

前記 C D R L 1 が、R S S K S L L H S N G I T Y L Y、R S S K S L L H S N G V T Y L Y、または R S S E S L L H S N G I T Y L Y からなる群から選択される、請求項 30 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 32】

前記 C D R L 2 が、Q M S N L A S である、請求項 29 または 30 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 33】

前記 C D R L 3 が、A Q N L E L P Y T、M Q H L E Y P Y T、または A Q N L E Y P Y T からなる群から選択される、請求項 29 乃至 32 のいずれかに記載の単離された抗体

または抗原結合断片。

【請求項 3 4】

前記 C D R H 1 が、G Y T F T S Y W M H および G Y T F T T Y W M H からなる群から選択される、請求項 2 9 乃至 3 3 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 3 5】

前記 C D R H 2 が、L I N P T N G R T N、L I N P S N A R T N、および L I N P S N G R P N からなる群から選択される、請求項 2 9 乃至 3 4 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 3 6】

a) 配列番号 1 9 5 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有し、かつ配列番号 1 9 7 で定義された C D R L 1 と、配列番号 1 9 8 で定義された C D R L 2 と、配列番号 2 0 4 で定義された C D R L 3 とを有する軽鎖可変ドメイン、および

b) 配列番号 1 9 2 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有し、かつ配列 G Y T F T R N W I Q を有する C D R H 1 と、配列番号 2 0 0 で定義された C D R H 2 と、配列 A R L A G N Y A Y Y F D Y を有する C D R H 3 とを有する重鎖可変ドメイン、を含むことを特徴とする請求項 2 9 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 3 7】

前記 C D R L 1 が、R A S G N I H N Y L A および R A S E N I Y S Y L A からなる群から選択される、請求項 3 6 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 3 8】

前記 C D R L 2 が、N A K T L P E および N A K T L A D からなる群から選択される、請求項 3 6 または 3 7 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 3 9】

前記 C D R L 3 が、Q H H Y G V P L T および Q H H Y G A P L T からなる群から選択される、請求項 3 6 乃至 3 8 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4 0】

前記 C D R H 2 が、A I Y P G N G D S R および A V Y P G N G D S R からなる群から選択される、請求項 3 6 乃至 3 9 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4 1】

a) 配列番号 1 9 6 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有し、かつ配列番号 2 0 2 で定義された C D R L 1 と、配列番号 1 5 0 で定義された C D R L 2 と、配列番号 1 5 1 または配列番号 2 0 3 で定義された C D R L 3 とを有する軽鎖可変ドメイン、および

b) 配列番号 1 9 3 と少なくとも 7 0 % の配列同一性を有し、かつ、配列番号 1 5 4 または配列番号 2 0 8 で定義された C D R H 1 と、配列番号 1 5 6 または配列番号 2 0 9 で定義された C D R H 2 と、配列番号 1 5 8 または配列番号 2 1 0 で定義された C D R H 3 とを有する重鎖可変ドメイン、を含むことを特徴とする請求項 2 9 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4 2】

前記 C D R L 1 が、R S S K S L L H S N G N T Y L Y および R S T K S L L H S N G N T Y L Y からなる群から選択される、請求項 4 1 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4 3】

前記 C D R L 2 が、R M S N L A S である、請求項 4 1 または 4 2 に記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4 4】

前記 C D R L 3 が、M Q H L E Y P F T である、請求項 4 1 乃至 4 3 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4 5】

前記 C D R H 1 が、G Y T F T D Y D M H および G Y T F T D Y E M H からなる群から選択される、請求項 4 1 乃至 4 4 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4 6】

前記 C D R H 2 が、T I D P E T G G T A および A I D P E T G G T A からなる群から選択される、請求項 4 1 乃至 4 5 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4 7】

前記 C D R H 3 が、T S F Y Y T Y S N Y D V G F A Y、T S F Y Y T Y Y N Y D V G F A Y、および T T F Y Y S H Y N Y D V G F A Y からなる群から選択される、請求項 4 1 乃至 4 6 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4 8】

請求項 1 乃至 4 7 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片と競合する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 4 9】

前記抗体は、定常領域またはその断片を含む、請求項 1 乃至 4 8 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 5 0】

s c F v、F a b、F a b'、または (F a b')₂ である、請求項 1 乃至 4 8 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 5 1】

前記抗体は、モノクローナル抗体である、請求項 1 乃至 4 9 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 5 2】

前記抗体は、ポリクローナル抗体である、請求項 1 乃至 4 9 のいずれかに記載の単離された抗体または抗原結合断片。

【請求項 5 3】

前記抗体が、検出可能部分または細胞毒性部分とコンジュゲートしている、請求項 1 乃至 5 2 のいずれかに記載の単離された抗体。

【請求項 5 4】

請求項 2 6 乃至 4 7 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の軽鎖可変ドメインおよび／または重鎖可変ドメインをコードする核酸。

【請求項 5 5】

請求項 5 4 の核酸を含むベクター。

【請求項 5 6】

前記ベクターが発現ベクターである、請求項 5 5 に記載のベクター。

【請求項 5 7】

請求項 5 4 の核酸を含む、単離された細胞。

【請求項 5 8】

前記細胞は、軽鎖可変ドメインをコードする核酸と、重鎖可変ドメインをコードする核酸とを含む、請求項 5 7 に記載の単離された細胞。

【請求項 5 9】

前記細胞は、抗体またはその抗原結合断片を発現、構築、および／または分泌する能力を有する、請求項 5 8 に記載の単離された細胞。

【請求項 6 0】

請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片を含む、または発現する、単離された細胞。

【請求項 6 1】

前記細胞は、軽鎖可変ドメインをコードする核酸と、重鎖可変ドメインをコードする核酸とを含む、請求項 6 0 に記載の単離された細胞。

【請求項 6 2】

前記細胞は、抗体またはその抗原結合断片を発現、構築、および／または分泌する能力を有する、請求項 6 1 に記載の単離された細胞。

【請求項 6 3】

請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つと、薬学的に許容される担体、とを含む医薬組成物。

【請求項 6 4】

請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つと、担体、とを含む医薬組成物。

【請求項 6 5】

骨量減少の治療における、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つの使用。

【請求項 6 6】

卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の治療における、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つの使用。

【請求項 6 7】

骨量減少または骨疾患の診断における、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つの使用。

【請求項 6 8】

卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の診断における、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つの使用。

【請求項 6 9】

骨量減少の治療方法であって、

治療を必要とする哺乳類に対し、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つを投与する工程を含む、方法。

【請求項 7 0】

卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の治療方法であって、

治療を必要とする哺乳類に対し、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つを投与する工程を含む、方法。

【請求項 7 1】

骨量減少または骨疾患を検出する方法であって、

検出を必要とする哺乳類に対し、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つを投与する工程を含む、方法。

【請求項 7 2】

卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の検出方法であって、

検出を必要とする哺乳類に対し、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つを投与する工程を含む、方法。

【請求項 7 3】

配列番号 2、または配列番号 2 の 20 番目から 259 番目までのアミノ酸の領域と少なくとも 80 % の配列同一性を有する配列番号 2 の変異体を検出する方法であって、

配列番号 2 または配列番号 2 の変異体を発現する細胞、あるいは配列番号 2 または配列番号 2 の変異体を含む、または含む疑いがあるサンプルを、請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片の少なくとも 1 つと接触させる工程と、

結合を測定する工程とを含む、方法。

【請求項 7 4】

前記サンプルが、哺乳類に由来するものである、請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 7 5】

前記哺乳類が、骨量減少を罹患している、または罹患している疑いがある哺乳類である、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 7 6】

前記哺乳類が、卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌に罹患している、または罹患している疑いがある哺乳類である、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 7 7】

前記サンプルは、前記哺乳類から採取された血清サンプル、血漿サンプル、または血液サンプルである、請求項 7 3 乃至 7 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 8】

前記サンプルは、前記哺乳類から採取された組織サンプルである、請求項 7 3 乃至 7 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 7 9】

前記サンプルは、細胞培養物上清である、請求項 7 3 に記載の方法。

【請求項 8 0】

配列番号 2 または配列番号 2 の変異体に結合した抗体の量を定量する工程を含む、請求項 7 8 乃至 7 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 8 1】

請求項 1 乃至 5 3 のいずれかに記載の抗体を含む、キット。

【請求項 8 2】

骨量減少、卵巣癌、腎癌、中枢神経系の癌、前立腺癌、メラノーマ、乳癌、肺癌、または結腸癌の診断用または治療用の抗体を製造するための、配列番号 2 または少なくとも 1 0 個のアミノ酸からなるその断片の使用。

【請求項 8 3】

前記断片は、配列番号 2 の 2 0 番目から 2 5 9 番目までのアミノ酸の領域内の部分から構成される、請求項 8 2 に記載の使用。

【請求項 8 4】

破骨細胞前駆細胞が分化するのを阻害する、または破骨細胞の骨再吸収活性を阻害する能力を有する抗体または抗原結合断片を生成する方法であって、

哺乳類に対し、配列番号 2、配列番号 2 と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有するその変異体、または少なくとも 1 0 個のアミノ酸からなるその断片を投与する工程を含む、方法。

【請求項 8 5】

前記抗体または抗原結合断片を単離または精製する工程をさらに含む、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 6】

前記断片は、配列番号 2 の 2 0 番目から 2 5 9 番目までのアミノ酸の領域内の部分から構成される、請求項 8 5 に記載の使用。

【請求項 8 7】

卵巣癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞の増殖を阻害する能力を有する化合物を同定する方法であって、

配列番号 2 の 2 0 番目から 2 5 9 番目までのアミノ酸の領域と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する領域を含むポリペプチド、または前記ポリペプチドを発現する細胞に対し、候補の化合物を提供する工程と、

前記ポリペプチドの活性または発現を測定する工程であって、前記ポリペプチドの活性または発現の低下により適切な阻害剤化合物が積極的に同定される、方法。

【請求項 8 8】

前記候補化合物が、前記ポリペプチドに特異的に結合する、請求項 8 7 に記載の方法。

【請求項 89】

前記候補化合物は、抗体または抗原結合断片である、請求項 88 に記載の方法。

【請求項 90】

前記候補化合物は、s i R N A またはアンチセンスである、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 91】

卵巣癌細胞、腎癌細胞、中枢神経系の癌細胞、前立腺癌細胞、メラノーマ細胞、乳癌細胞、肺癌細胞または結腸癌細胞から選択された癌細胞の増殖を阻害する方法であって、

前記癌細胞に対し、配列番号 2 と少なくとも 80 % の配列同一性を有するポリペプチドの発現を減じる能力を有する核酸を提供する工程を含み、

前記癌細胞は、配列番号 2 と少なくとも 80 % の配列同一性を有するポリペプチドを発現する、方法。

【請求項 92】

前記核酸は、s i R N A またはアンチセンスである、請求項 90 に記載の方法。

【請求項 93】

骨量減少の治療方法であって、

S i g l e c - 1 5 またはその変異体に特異的に結合する能力を有する、単離された抗体または抗原結合断片を投与する工程を含み、以下を含む方法：

a) 配列番号 46 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 48 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

b) 配列番号 54 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 56 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

c) 配列番号 62 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 64 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

d) 配列番号 66 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 68 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

e) 配列番号 46 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 48 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

f) 配列番号 54 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 56 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

g) 配列番号 62 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 64 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、または

h) 配列番号 66 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および配列番号 68 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン。

【請求項 94】

前記抗体または抗原結合断片が配列番号 66 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 68 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s を含む、請求項 93 に記載の方法。

【請求項 95】

骨量減少の治療における、少なくとも 1 つの抗体または抗原結合断片の使用であって、前記抗体または抗原結合断片が S i g l e c - 1 5 またはその変異体に特異的に結合し、以下を含む使用：

a) 配列番号 46 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 48 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

b) 配列番号 54 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 56 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

c) 配列番号 62 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 64 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

d) 配列番号 66 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R s、および配列番号 68 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s、

e) 配列番号 46 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および

配列番号 48 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

f) 配列番号 54 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および
配列番号 56 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、

g) 配列番号 62 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および
配列番号 64 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン、または

h) 配列番号 66 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン、および
配列番号 68 と少なくとも 70 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン。

【請求項 96】

前記抗体または抗原結合断片が配列番号 66 で定義された軽鎖可変ドメインの 3 C D R
s、および配列番号 68 で定義された重鎖可変ドメインの 3 C D R s を含む、請求項 95
に記載の使用。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0490

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0490】

【表 7】

表5A:抗S i g l e c - 1 5重鎮可変配列

ID	SEQ ID NO	FR1	CDR-H1	FR2	CDR-H2	FR3	CDR-H3	FR4
25B6	64	QVQLQQPGAEIAKPGASVKLSCKAS	GYTFNTNNY	WLKRPQGQGLEWIG	GIDPSNGDTK	INEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	TSH-----TY	WQGGTLTVSSA
25H10	64	QVQLQQPGAEIAKPGASVKLSCKAS	GYTFNTNNY	WLKRPQGQGLEWIG	GIDPSNGDTK	INEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	TSH-----TY	WQGGTLTVSSA
25H11	64	QVQLQQPGAEIAKPGASVKLSCKAS	GYTFNTNNY	WLKRPQGQGLEWIG	GIDPSNGDTK	INEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	TSH-----TY	WQGGTLTVSSA
25A3	211	QVQLQQSRAELVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25A5	56	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPSNARTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25A11	44	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25B4	44	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25B12	211	QVQLQQSRAELVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25C9	56	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPSNARTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25C10	56	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPSNARTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25D3	211	QVQLQQSRAELVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25D4	44	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25D5	44	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25D6	44	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25D8	56	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPSNARTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25D10	44	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25E7	212	QVQVQQPGTELVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25E8	211	QVQLQQSRAELVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25E12	213	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25F2	44	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25F3	56	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPSNARTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25F5	212	QVQVQQPGTELVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25F6	56	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPSNARTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25F7	214	EIQLQQSGTELVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25F9	44	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25F10	212	QVQVQQPGTELVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25F11	44	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25F12	215	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS
25G3	44	QVQVQQPGAEIVRFPGASVKLSCKAS	GYTFTSYMMH	WVKRPQGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFNKATLTVDKSSSTAYHQLSGLTSEDSAVYYC	ARGGDDYF-----DY	WQGGTTLTVSS

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0491

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0491】

【表 8】

表5A:抗S i g l e c-1 5重鎖可変部列										s .	
ID	SEQ ID NO	FR1	CDR-H1	FR2	CDR-H2	FR3	CDR-H3	FR4			
2564	44	QVQVQPGAEIVRPGASVKLSCKAS	GYFTSYNMH	WVKRPGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	ARGDGDYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
2567	44	QVQVQPGAEIVRPGASVKLSCKAS	GYFTSYNMH	WVKRPGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	ARGDGDYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
2568	44	QVQVQPGAEIVRPGASVKLSCKAS	GYFTSYNMH	WVKRPGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	ARGDGDYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
25H1	212	QVQVQPGGTELVKPGASVKLSCKAS	GYFTTYYNMH	WVKRPGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	ARGDGDYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
25H2	44	QVQVQPGAEIVRPGASVKLSCKAS	GYFTSYNMH	WVKRPGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	ARGDGDYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
25H5	211	QVQLQQSRAELVKPGASVKLSCKAS	GYFTSYNMH	WVKRPGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	ARGDGDYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
25H6	216	QVQLQQSGAEIVKPGASVKLSCKAS	GYFTSYNMH	WVKRPGQGLEWIG	LINPSNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	ARGDGDYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
25H7	56	QVQVQPGAEIVKPGASVKLSCKAS	GYFTSYNMH	WVKRPGQGLEWIG	LINPSNARTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	ARGDGDYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
25H8	44	QVQVQPGAEIVRPGASVKLSCKAS	GYFTSYNMH	WVKRPGQGLEWIG	LINPTNGRTN	YNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	ARGDGDYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
25B2	168	QVQLQQSGAEIARPGASVKFSCKAS	GYFTTRNMIQ	WVKRPGQGLEWIG	AIYPGNGDSR	YEQKFKGKATLTADKSSNTAYMQLSGLASEDSAVYIC	ARLAGNAYYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
25D11	164	QVQLQQSGAEIARPGASVKFSCKAS	GYFTTRNMIQ	WVKRPGQGLEWIG	AIYPGNGDSR	YEQKFKGKATLTADKSSNTAYMQLSGLASEDSAVYIC	ARLAGNAYYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
25E10	172	DVQLQQSGAEIARPGASVKFSCKAS	GYFTTRNMIQ	WVKRPGQGLEWIG	AVYPGNGDSR	YEQKFKGKATLTADKSSNTAYMQLSGLASEDSAVYIC	ARLAGNAYYF-----DY	WQGGTTLTVSS			
25E5	60	EVKLESGGGLVQPGSLKLSCKAS	GFDFSKDWS	WVRQAFKQGLEWIG	EINPDSSTIN	YAPSLKDKFLIISRENAKNTLYLQMSKVRGSEDTALYIC	SRLSDYEDWYF-----DV	WGAGTTTVTSS			
25B6	217	QAVLQQSGVELVRPGASVTLSCKAS	GYFTTDYDMH	WVKQTPVHGLEWIG	TIDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADRSSTTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	TSFYTYTSNYDVGF--AY	WQGGTLTVSA			
25B11	68	EIQLQQSGVELVRPGASVTLSCKAS	GYFTTDYDMH	WVKQTPVHGLEWIG	TIDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADRSSTTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	TSFYTYTSNYDVGF--AY	WQGGTLTVSA			
25E9	68	EIQLQQSGVELVRPGASVTLSCKAS	GYFTTDYDMH	WVKQTPVHGLEWIG	TIDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADRSSTTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	TSFYTYTSNYDVGF--AY	WQGGTLTVSA			
25C1	52	EIQLQQSGAEIVRPGASVTLSCKAS	GYFTTDYEMH	WVKQTPVHGLEWIG	AIDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	TSFYTYTYNYDVGF--AY	WQGGTLTVSA			
25B8	48	EIQLQQSGVELVRPGASVTLSCKAS	GYFTTDYDMH	WVKQTPVHGLEWIG	TIDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADRSSTTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	TSFYTYSHYNDVGF--AY	WQGGTLTVSA			
25A1	40	EVQLQQSGTELVKPGSSVKISCKAS	GYFTTRYNMD	WVKRPGQGLEWIG	EIDPDSSTYN	YNQKFKGKATLTVDKPSRTAYMQLSSLTSEDSAVYIC	ARSGAYSSDYSYDGFAY	WQGGTLTVSA			

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 4 9 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0492】

【表9】

表5B:抗S iglec-15重鎖可変配列

ID	SEQ ID NO	FR1	CDR-L1	FR2	CDR-L2	FR3	CDR-L3	FR4
25E6	62	SI VMTQTPKFLVLSAGDRVTITC	KASQSVS-----NAVA	WYQKPGQSPKLLIY	YTSNRYT	GVPDFRTGSGYGTDFTTTITVQAEDLAVYFC	QQDYTSPWT	FGGGTKLEIK
25H10	62	SI VMTQTPKFLVLSAGDRVTITC	KASQSVS-----NAVA	WYQKPGQSPKLLIY	YTSNRYT	GVPDFRTGSGYGTDFTTTITVQAEDLAVYFC	QQDYTSPWT	FGGGTKLEIK
25H11	62	SI VMTQTPKFLVLSAGDRVTITC	KASQSVS-----NAVA	WYQKPGQSPKLLIY	YTSNRYT	GVPDFRTGSGYGTDFTTTITVQAEDLAVYFC	QQDYTSPWT	FGGGTKLEIK
25A3	54	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK
25A5	54	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK
25A11	42	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25B4	42	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25B12	54	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK
25C9	54	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK
25C10	54	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK
25D3	54	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK
25D4	42	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25D5	42	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25D6	42	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25D8	54	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK
25D10	42	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25E7	218	DI VMTQAAFSNPVTLTGTPASISC	RSSKSLHNSNGVTIY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25E8	54	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK
25E12	219	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25F2	42	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25F3	220	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	AQNLELPYT	FGGGTKLEIK
25F5	218	DI VMTQAAFSNPVTLTGTPASISC	RSSKSLHNSNGVTIY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25F6	42	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25F7	221	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25F9	42	DI VMTQAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITVLY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25F10	218	DI VMTQAAFSNPVTLTGTPASISC	RSSKSLHNSNGVTIY	WYLOKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDFRSSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYIC	MOHLEYPYT	FGGGTKLEIK

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0493

【補正方法】変更

【補正の内容】
【0493】
【表10】

表5B:抗S ig l e c-15重鎖可変部列

ID	SEQ ID NO	FR1	CDR-L1	FR2	CDR-L2	FR3	CDR-L3	FR4
25F11	42	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25F12	42	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25G3	42	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25G4	42	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25G7	42	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25G8	42	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25H1	54	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLEPYT	FGGGTKLEIK
25H2	42	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25H5	54	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLEPYT	FGGGTKLEIK
25H6	222	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLEPYT	FGGGTKLEIK
25H7	54	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSSSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	AQNLEPYT	FGGGTKLEIK
25H8	42	DIVMTQAAAFSNPVTLTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WYLOKFGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPYT	FGGGTKLEIK
25B2	162	NIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASENIY-----SYLA	WYQKQKQSPQLLIY	NAKTLPE	GVSVRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	QHHYGVPLT	FGSGTKLEIK
25D11	165	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASGNIH-----NYLA	WYQKQKQSPQLLIY	NAKTLPE	GVSVRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	QHHYGVPLT	FGSGTKLEIK
25E10	170	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASGNIH-----NYLA	WYQKQKQSPQLLIY	NAKTLAD	GVPSRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	QHHYGAPLT	FGAGTKVELK
25E5	58	QIVLTQSPITMSASPGKVTWTC	SASSSV-----SYMY	WYQKPRSSPKPMIY	RTSNLVS	GVVRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	QQWSSNPPT	FGAGTKLEIK
25B6	223	DIVMTQAAAFSNPVTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WFLQRFQSPQLLIY	RMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPFT	FGGGTKLEIK
25B11	66	DIVMTQAAAFSNPVTGTSASISC	RSTKSLHNSNGITYLY	WFLQRFQSPQLLIY	RMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPFT	FGGGTKLEIK
25E9	66	DIVMTQAAAFSNPVTGTSASISC	RSTKSLHNSNGITYLY	WFLQRFQSPQLLIY	RMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPFT	FGGGTKLEIK
25C1	50	DIVMTQAAAFSNPVTGTSASISC	RSSKSLHNSNGITYLY	WFLQRFQSPQLLIY	RMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPFT	FGGGTKLEIK
25B8	66	DIVMTQAAAFSNPVTGTSASISC	RSTKSLHNSNGITYLY	WFLQRFQSPQLLIY	RMSNLAS	GVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	MQHLEYPFT	FGGGTKLEIK
25A1	38	ENVLTQSPAIMSASPGKVTITC	SASSSV-----SYMY	WYQKFGSSPKPMIY	RTSNLAS	GVPAFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGYYC	QQWSSNPPT	FGAGTKLEIK

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CA2010/001586
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: <i>C07K 16/28</i> (2006.01), <i>A61K 31/7088</i> (2006.01), <i>A61K 31/713</i> (2006.01), <i>A61K 39/395</i> (2006.01), <i>A61K 49/00</i> (2006.01), <i>A61P 19/08</i> (2006.01), <i>A61P 35/00</i> (2006.01), <i>G01N 33/53</i> (2006.01), <i>G01N 33/574</i> (2006.01), <i>C12N 5/077</i> (2010.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC: <i>C07K 16/28</i> (2006.01), <i>A61K 31/7088</i> (2006.01), <i>A61K 31/713</i> (2006.01), <i>A61K 39/395</i> (2006.01), <i>A61K 49/00</i> (2006.01), <i>A61P 19/08</i> (2006.01), <i>A61P 35/00</i> (2006.01), <i>G01N 33/53</i> (2006.01), <i>G01N 33/574</i> (2006.01), <i>C12N 5/077</i> (2010.01)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) Databases: Canadian Patent Database, EspaceNet, CAlus, Genome Quest, Scopus and Pubmed. Keywords: Siglec 15, CD33, like, sialic, immunoglobulin, lectin, antibody, bone, resorption, osteoclast, differentiation, cancer, Alethia, Tremblay, Filion and Stuibie.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CA 2698326 A1 [WO 2009/048072 A1] (HIRUMA, Y & TSUDA, E) 16 April 2009 (16-04-2009) - Whole document -	1 - 24, 48 - 53, 60 - 65, 67, 71, 73 - 75 and 77 - 86
X	WO 2007/093042 A1 (SOOKNANAN, R. R. et al.) 23 August 2007 (23-08-2007) - page 33, line 33 - page 42, line 13; SEQ ID NO: 48, page 96; SEQ ID NO: 82, page 134; and pages 82 - 85 -	1 - 22, 24, 49 - 53, 60 - 65, 67, 71, 73 - 75, 81, 82, 84 and 85
E	WO 2010/117011 A1 (HIRUMA, Y et al.) 14 October 2010	
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent 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 10 December 2010 (10-12-2010)		Date of mailing of the international search report 18 January 2011 (18-01-2011)
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 001-819-953-2476		Authorized officer Jacinth Abraham (819) 934-7598

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2010/001586

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons :

1. ☒ Claim Nos. : 69, 70, 91 and 92
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely :

Claims 69, 70, 91 and 92 are directed to a method for treatment of the human or animal body by surgery or therapy which the International Search Authority is not required to search. However, this Authority has carried out a search based on the alleged effects or purposes/uses of the product defined in claims 69, 70, 91 and 92.
2. ☐ Claim Nos. :
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically :
3. ☐ Claim Nos. :
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows :

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claim Nos. :
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim Nos. :

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CA2010/001586

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
CA 2698326 A1	16 April 2009 (16-04-2009)	AU2008311698A1 EP2206727A1 KR20100065153A MX2010003884A US2010209428A1 WO2009/048072A1	16 April 2009 (16-04-2009) 14 July 2010 (14-07-2010) 15 June 2010 (15-06-2010) 30 April 2010 (30-04-2010) 19 August 2010 (19-08-2010) 16 April 2009 (16-04-2009)
WO 2007/093042 A1	23 August 2007 (23-08-2007)	AU2007215334A1 CA2638823A1 EP1994155A1 EP1994155A4 JP2009525730T US2009298763A1 US2010104575A1	23 August 2007 (23-08-2007) 23 August 2007 (23-08-2007) 26 November 2008 (26-11-2008) 12 August 2009 (12-08-2009) 16 July 2009 (16-07-2009) 03 December 2009 (03-12-2009) 29 April 2010 (29-04-2010)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N 5/00 1 0 1
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K 39/395 D
A 6 1 P	19/08	(2006.01)	A 6 1 K 39/395 N
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P 19/08
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	A 6 1 P 35/00
G 0 1 N	33/574	(2006.01)	G 0 1 N 33/53 D
G 0 1 N	33/15	(2006.01)	G 0 1 N 33/574 A
G 0 1 N	33/50	(2006.01)	G 0 1 N 33/15 Z
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	G 0 1 N 33/50 Z
			C 1 2 P 21/08

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, T M), EP(AL, 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, R S, SE, SI, SK, SM, 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, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, I D, 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, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ジル・ベルナール・トレンブレイ

カナダ・ケベック・J 5 R・6 N 8・ラ・プレーリー・デニスールメストル・1 0 0

(72)発明者 マリオ・フィリヨン

カナダ・ケベック・J 4 J・4 M 8・ロングイユ・メープル・ストリート・7 3 9

(72)発明者 マシュー・スチューブル

カナダ・ケベック・H 3 S・1 T 8・モントリオール・ブライトン・アヴェニュー・1-2 9 5 0

Fターム(参考) 2G045 AA25 AA26 CB01 CB02 FB03

4B024 AA01 AA11 BA53 CA04 DA02 EA04 FA02 GA11 HA03

4B064 AG27 CA19 CC24 DA01 DA13

4B065 AA01X AA57X AA90X AA90Y AB01 BA02 CA25 CA44 CA46

4C085 AA13 AA14 DD61 EE01 GG01 GG04 GG06

4H045 AA11 AA20 AA30 BA40 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2013506428A5	公开(公告)日	2013-11-21
申请号	JP2012532427	申请日	2010-10-06
[标]申请(专利权)人(译)	第一三共株式会社		
申请(专利权)人(译)	阿莱西亚生物治疗公司		
[标]发明人	ジルベルナール・トレンブレイ マリオフィリヨン マシュー・スチューブル		
发明人	ジル・ベルナール・トレンブレイ マリオ・フィリヨン マシュー・スチューブル		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K39/395 A61P19/08 A61P35/00 G01N33/53 G01N33/574 G01N33/15 G01N33/50 C12P21/08		
CPC分类号	A61K39/00 C07K16/2803 C07K16/30 C07K2317/24 C07K2317/33 C07K2317/55 C07K2317/73 C07K2317/76 G01N33/6893 G01N2800/108 A61K31/7088 A61K31/713 A61P19/02 A61P19/08 A61P19/10 A61P35/00 A61K47/6849 G01N33/57407 A61K38/17 A61K38/18 A61K39/395 A61K47/42 A61K48/00 A61K49/16 C07K14/435 C07K14/475 C07K16/18 C07K16/22 C07K16/28 A61K39/39533 A61K45/06 C07K2317/21 C07K2317/54 C07K2317/565 C07K2317/622		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 A61K39/395.D A61K39/395.N A61P19/08 A61P35/00 G01N33/53.D G01N33/574.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z C12P21/08		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA26 2G045/CB01 2G045/CB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA53 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/GA11 4B024/HA03 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/DD61 4C085/EE01 4C085/GG01 4C085/GG04 4C085/GG06 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA40 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	村山彦 渡边 隆		
优先权	61/248960 2009-10-06 US 12/580943 2009-10-16 US		
其他公开文献	JP2013506428A JP5855569B2		

摘要(译)

本文描述了特异性结合Siglec-15的新型抗体和抗原结合片段。在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段可以阻断Siglec-15的生物活性，并且可用于治疗骨丢失的组合物，更具体地，具有增加的Siglec-15细胞表面表达的骨病，例如破骨细胞的骨降解活性增加的病症本发明还涉及表达抗体或抗原结合片段如单克隆，人源化或嵌合抗体的细胞。还公开了使用抗体和片段检测和治疗骨丢失，骨相关疾病或癌症的方法。

