(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第5703447号
(P5703447)

(45)発行日　平成27年4月22日(2015.4.22)　(24)登録日　平成27年3月6日(2015.3.6)

(51)Int.Cl.		F I		
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA
C07K 16/18	(2006.01)	C07K	16/18	
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46	
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/00	102
C07K 14/47	(2006.01)	C07K	14/47	

請求項の数 29　外国語出願　(全 177 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2012-196294 (P2012-196294)
(22)出願日　平成24年9月6日 (2012.9.6)
(62)分割の表示　特願2003-537481 (P2003-537481)の分割
原出願日　平成14年10月23日 (2002.10.23)
(65)公開番号　特開2012-245010 (P2012-245010A)
(43)公開日　平成24年12月13日 (2012.12.13)
審査請求日　平成24年9月6日 (2012.9.6)
(31)優先権主張番号　60/335,215
(32)優先日　平成13年10月23日 (2001.10.23)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/362,747
(32)優先日　平成14年3月7日 (2002.3.7)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　504159866
ピーエスエムエー　デベロプメント　カンパニー,　エル．エル．シー．
アメリカ合衆国　ニューヨーク　１０５９１,　タリータウン,　オールド　ソーミル　リバー　ロード　７７７,　プロジェニックス　ファーマシューティカルズ
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＰＳＭＡ抗体およびタンパク質マルチマー

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
モノクローナル抗体、または、その抗原結合性フラグメントを含む組成物であって、
ここで、該モノクローナル抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列の重鎖可変領域の３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む重鎖可変領域、および、配列番号１７のアミノ酸配列の軽鎖可変領域の３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む軽鎖可変領域を含み、
ここで、該モノクローナル抗体、または、その抗原結合性フラグメントは、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）ダイマーと特異的に結合する、組成物。
【請求項２】
請求項１に記載の組成物であって、前記抗原結合性フラグメントが、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメント、または、Ｆｖフラグメントである、組成物。
【請求項３】
請求項１に記載の組成物であって、前記抗体が、単一鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）である、組成物。
【請求項４】
請求項１に記載の組成物であって、前記抗体が、ｍＡｂ　ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６であり、ここで、前記重鎖および軽鎖が、それぞれ、ＡＴＣＣアクセッション番号ＰＴＡ－４４０３およびＰＴＡ－４４０４を有するプラスミドによってコードされる、組成物。
【請求項５】
細胞傷害性薬剤、免疫刺激剤、または、免疫調節剤をさらに含む、請求項１～４のいずれ

か１項に記載の組成物。
【請求項６】
前記抗体または前記抗原結合性フラグメントが細胞傷害性薬剤と結合される、請求項１～５のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項７】
前記細胞傷害性薬剤が、放射性核種、化学毒素、または、タンパク質毒素である、請求項５または６に記載の組成物。
【請求項８】
請求項７に記載の組成物であって、前記細胞傷害性薬剤が、^{225}Ａｃ、^{211}Ａｔ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{212}Ｐｂ、^{224}Ｒａ、^{223}Ｒａ、^{186}Ｒｈ、^{188}Ｒｈ、^{177}Ｌｕ、^{90}Ｙ、^{131}Ｉ、^{67}Ｃｕ、^{64}Ｃｕ、^{153}Ｓｍ、^{166}Ｈｏ、^{125}Ｉ、^{123}Ｉ、および、^{77}Ｂｒからなる群から選択される放射性核種である、組成物。
【請求項９】
請求項５または６に記載の組成物であって、前記細胞傷害性薬剤が、エンジイン、ドラスタチン、または、植物毒素である、組成物。
【請求項１０】
請求項５または６に記載の組成物であって、前記細胞傷害性薬剤が、カリケアマイシン、エスペラマイシン、メトトレキサート、ドキソルビシン、メルファラン、クロラムブシル、ＡＲＡ－Ｃ、ビンデシン、マイトマイシン　Ｃ、シスプラチン、エトポシド、ブレオマイシン、５－フルオロウラシル、エストラムスチン、ビンクリスチン、エトポシド、ドキソルビシン、パクリタキセル、ドセタキセル、ドラスタチン１０、アウリスタチンＥ、アウリスタチンＰＨＥ、リシン、アブリン、モデクシン、ボツリヌス毒素、ジフテリア毒素、コンブレスタチンＡ４、エンドスタチン、インターフェロン誘導タンパク質１０、２ＭＥ２、アンギオスタチン、抗ＶＥＧＦ　ＲｈｕＭＡｂ、Ａｐｒａ（ＣＴ－２５８４）、ベネフィン、ＢＭＳ２７５２９１、カルボキシアミドトリアゾール、ＣＣ４０４７、ＣＣ５０１３、ＣＣ７０８５、ＣＤＣ８０１、ＣＧＰ－４１２５１（ＰＫＣ　４１２）、ＣＭ１０１、コンブレスタチンＡ－４プロドラッグ、ＥＭＤ１２１９７４、エンドスタチン、フラボピリドール、ゲニステイン（ＧＣＰ）、緑茶抽出物、ＩＭ－８６２、ＩｍｍＴｈｅｒ、インターフェロンα、インターロイキン１２、ＺＤ１８３９、マリマスタット、Ｃｏｌ－３、オクトレオチド、パクリタキセル、ペニシラミン、ＰＩ－８８、プリノマスタット（ＡＧ－３３４０）、ＰＴＫ７８７（ＺＫ２２５８４）、ＲＯ３１７４５３、ソリマスタット、スクアラミン、ＳＵ　１０１、ＳＵ　５４１６、ＳＵ－６６６８、スラジスタ（ＦＣＥ　２６６４４）、スラミン（メタレート）、テトラチオモリブデート、サリドマイド、または、ＴＮＰ－４７０である、組成物。
【請求項１１】
前記抗体または前記抗原結合性フラグメントが検出可能な標識と結合される、請求項１～４のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１２】
請求項１１に記載の組成物であって、前記検出可能な標識が、蛍光標識、酵素標識、放射性標識、核磁気共鳴活性標識、発光標識、または、発色団標識である、組成物。
【請求項１３】
前記検出可能な標識がビオチンである、請求項１１に記載の組成物。
【請求項１４】
さらに薬学的受容可能キャリア、賦形剤、または安定化剤を含む、請求項１～１３のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１５】
凍結乾燥形態でパッケージされた、請求項１～１３のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項１６】
水性媒体中にパッケージされた、請求項１～１３のいずれか１項に記載の組成物。

【請求項１７】
診断、予後またはモニタリングのために前立腺癌を検出するためのキットであり、請求項１～１６のいずれか１項に記載の組成物を含む、キット。
【請求項１８】
さらに検出可能な標識を含む、請求項１７に記載のキット。
【請求項１９】
請求項１８に記載のキットであって、前記検出可能な標識が、蛍光標識、酵素標識、放射性標識、核磁気共鳴活性標識、発光標識、または、発色団標識である、キット。
【請求項２０】
さらに前記標識を検出するための１つ以上の化合物を含む、請求項１８に記載のキット。
【請求項２１】
ｍＡｂ　ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６を発現する単離された組換え細胞であって、ここで、重鎖および軽鎖が、それぞれ、ＡＴＣＣアクセッション番号ＰＴＡ－４４０３およびＰＴＡ－４４０４を有するプラスミドによってコードされる、単離された組換え細胞。
【請求項２２】
モノクローナル抗体、または、その抗原結合性フラグメントを含む組成物であって、
ここで、該モノクローナル抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列の重鎖可変領域の３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む重鎖可変領域、および、配列番号１７のアミノ酸配列の軽鎖可変領域の３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む軽鎖可変領域を含み、
ここで、該モノクローナル抗体、または、その抗原結合性フラグメントは、細胞傷害性薬剤に結合されており、
ここで、該モノクローナル抗体、または、その抗原結合性フラグメントは、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）ダイマーと特異的に結合する、組成物。
【請求項２３】
前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）を発現する細胞の増殖を阻害するための組成物であって、該ＰＳＭＡを発現する細胞の増殖を抑制するために有効な量の請求項６～１０または２２のいずれか一項に記載の組成物を含有する、組成物。
【請求項２４】
被験体においてＰＳＭＡを発現する癌を処置するための組成物であって、該ＰＳＭＡを発現する癌を処置するために有効な量の請求項６～１０または２２のいずれか一項に記載の組成物を含有する、組成物。
【請求項２５】
少なくとも１つの細胞傷害性薬剤をＰＳＭＡ発現細胞へ特異的に送達するための組成物であって、該少なくとも１つの細胞傷害性薬剤をＰＳＭＡ発現細胞へ送達するために有効な量の請求項６～１０または２２のいずれか一項に記載の組成物を含有する、組成物。
【請求項２６】
サンプル中のＰＳＭＡの存在、またはＰＳＭＡを発現する細胞を検出するための方法であり、以下：
抗体またはその抗原結合性フラグメントとＰＳＭＡとの間の複合体の形成を可能にするのに十分な時間、該サンプルと、請求項１～４または１１～１４のいずれか一項に記載の抗体、または、その抗原結合性フラグメントとを接触させる工程、および
該ＰＳＭＡ－抗体複合体または該ＰＳＭＡ－抗原結合性フラグメント複合体を検出する工程、
を包含し、ここで、該サンプル中の複合体の存在が、ＰＳＭＡまたはＰＳＭＡを発現する細胞の該サンプル中の存在を示す、方法。
【請求項２７】
前記細胞が前立腺癌細胞である、請求項２３または２５のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項２８】
前記細胞が前立腺癌細胞である、請求項２６に記載の方法。
【請求項２９】

前記癌が前立腺癌である、請求項２４に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

（関連出願）

本出願は、米国特許法１１９条下において、米国仮特許出願第６０／３３５，２１５号（２００１年１０月２３日出願）、米国仮特許出願第６０／３６２，７４７号（２００２年３月７日出願）、および米国仮特許出願第６０／＿＿＿＿＿＿号（２００２年９月２０日出願）の利益を主張し、これらの各々は本明細書中に参考として援用される。

【０００２】

（発明の分野）

本発明は、一般に、癌に関連するポリペプチドおよびポリペプチド上のネイティブなエピトープを認識する抗体の分野に関する。特に、本発明は、ＰＳＭＡの細胞外ドメイン上の構造的エピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメント、マルチマー型のＰＳＭＡタンパク質、マルチマーに選択的に結合する抗体、およびこのような抗体またはマルチマーを含む組成物に一部関する。

【背景技術】

【０００３】

（発明の背景）

前立腺癌は、最も有病率の高い癌の型で、そして米国人男性における癌による死の二番目に主要な原因である（１９９９年における１７９，０００件の症例と３７，０００件の死亡（非特許文献１）と見積もられる）。前立腺癌と診断された男性の数は、老人人口の増加そしてより高い疾速の認識が早期診断を導いた結果として、着実に増加している（非特許文献２）。男性にとって前立腺癌を発症する生涯罹患率（ｌｉｆｅ　ｔｉｍｅ　ｒｉｓｋ）は、白人で約５人に１人、アフリカ系米国人で６人に１人である。危険性の高い群は、前立腺癌に陽性の家族歴を持つ集団、またはアフリカ系米国人に代表される。

【０００４】

生涯にわたり、前立腺癌と診断された２／３を超える男性が、この疾患で死ぬ（非特許文献３）。その上、前立腺癌で死亡しない多くの患者は、疼痛、出血、尿路閉塞のような症状を改善するための継続的な処置を要求する。従って、前立腺癌はまた、苦痛の主な原因であり、そして健康管理出費の増加を示す。

【０００５】

前立腺癌が局在化し、そして患者の平均余命が１０年以上である場合、根治的な前立腺切除は、疾患の根絶のための最高の機会を与える。歴史的には、この手順の欠点は、殆どの癌が、発見された時までに手術の限界を超えて広がってしまったことである。巨大な重度の腫瘍を有する患者が、根治的な前立腺切除によって成功裏に処置されることは、殆どない。

【０００６】

放射線治療はまた、根治的な前立腺切除の代替として、広く使用されてきた。一般に放射線治療によって処置された患者は、より年配でかつより健康状態が悪く、そしてより重度で、より臨床的に進行した腫瘍を有する患者である。特に好ましい手順は、照射領域が処置する組織の容量に従って設計される、３次元の共焦点照射治療を含む外部ビーム療法；超音波の案内を使用し放射性化合物のシードを移植する間隙放射線治療；ならびに外部ビーム療法と間隙放射線治療との組み合わせである。

【０００７】

局部的に進行した疾患を有する患者の治療のために、ホルモン療法が、根治的な前立腺切除または放射線治療の前または後に、利用されてきた。ホルモン療法は、広がった前立腺癌を有する男性を治療する、主な形態である。精巣摘除は、血清テストステロン濃度を減少させる。一方、エストロゲン処置は、同様に有益である。エストロゲン由来のジエチルスチルベストロールは、別の有用なホルモン療法であり、心臓血管の毒性を引き起こす

不都合を有する。ゴナトトロピン放出ホルモンアゴニストが投与される場合、テストステロン濃度は、最終的に減少される。抗アンドロゲン剤（フルタミドおよび他の非ステロイド）は、テストステロンの、その細胞間レセプターへの結合をブロックする。その結果、テストステロンの効果をブロックし、血清テストステロン濃度を増加させ、そして患者を性的能力のある状態に保つ（根治的な前立腺切除および放射線治療の後の重要な問題である）。

【０００８】

細胞傷害性化学療法は、前立腺癌の治療において殆ど無効である。このような治療は、その傷害性により、高齢の患者にとって不適当になる。加えて、前立腺癌は、比較的、細胞傷害性薬剤に抵抗性である。

【０００９】

再発した疾患またはより進行した疾患も、抗アンドロゲン治療を用いて処置される。不運にも、ほぼ全ての腫瘍は、ホルモン抵抗性になり、そして任意の効果的治療の不在下で急速に進行する。

【００１０】

従って、患者の正常組織に圧倒的に傷害性というわけではなく、そして前立腺癌細胞を選択的に排除するのに有効な、前立腺癌のための有効な治療法の、必要性が存在する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【００１１】

【非特許文献１】Ｌａｎｄｉｓ，Ｓ．Ｈ．ら　ＣＡ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｊ．Ｃｌｉｎ．４８：６－２９（１９９８）

【非特許文献２】Ｐａｒｋｅｒら（１９９７）ＣＡ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｊ．Ｃｌｉｎ．４７：５－２８０

【非特許文献３】Ｗｉｎｇｏら（１９９６）ＣＡ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｊ．Ｃｌｉｎ．４６：１１３－２５

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【００１２】

（発明の要旨）

本発明は、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）の細胞外ドメインを特異的に結合する抗体およびその抗原結合性フラグメント、このような抗体またはその抗原結合性フラグメントの１つまたは組み合わせを含む組成物、この抗体を産生するハイブリドーマ細胞株、およびこの抗体またはその抗原結合性フラグメントを癌の診断および処置に使用する方法に関する。

【００１３】

本発明の１つの局面に従って、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントが、提供される。抗体またはそのフラグメントは、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）の細胞外ドメインに特異的に結合し、そしてＰＳＭＡ上のその標的エピトープへの第二抗体の特異的結合を競合阻害する。本発明の第二の局面において、第二抗体によって定義される、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）上のエピトープに特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントが、提供される。本発明の上述の局面それぞれにおいて、第二抗体は、以下からなる群より選択される：ＰＳＭＡ　３．７、ＰＳＭＡ　３．８、ＰＳＭＡ　３．９、ＰＳＭＡ　３．１１、ＰＳＭＡ　５．４、ＰＳＭＡ　７．１、ＰＳＭＡ　７．３、ＰＳＭＡ　１０．３、ＰＳＭＡ　１．８．３、ＰＳＭＡ　Ａ３．１．３、ＰＳＭＡ　Ａ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３６０．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１７７．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１６．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４０．２、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４９．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２０９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４

．２１９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２９２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１、ならびに（ａ）配列番号２～７に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子にコードされる重鎖、および（ｂ）配列番号８～１３に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子にコードされる軽鎖を含む抗体。

【００１４】

特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、以下からなる群より選択される：ＰＳＭＡ ３．７、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９、ＰＳＭＡ ３．１１、ＰＳＭＡ ５．４、ＰＳＭＡ ７．３、ＰＳＭＡ １０．３、ＰＳＭＡ １．８．３、ＰＳＭＡ Ａ３．１．３、ＰＳＭＡ Ａ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３６０．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１７７．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１６．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４０．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４９．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２０９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２１９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２９２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１、およびＡｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１。他の実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、（ａ）配列番号２～７に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子にコードされる重鎖、および（ｂ）配列番号８～１３に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子にコードされる軽鎖を含む抗体、ならびにこれらの抗原結合性フラグメントからなる群より選択される。

【００１５】

さらなる実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、上述の抗体をコードするヌクレオチド配列と少なくとも約９０％同一である（好ましくは少なくとも約９５％同一である、より好ましくは少なくとも約９７％同一である、なおより好ましくは少なくとも約９８％、そして最も好ましくは少なくとも約９９％同一である）ヌクレオチド配列を含む核酸分子により、コードされる。

【００１６】

上述の局面の幾つかの実施形態において、単離された抗体の抗原結合性フラグメントが、提供される。この抗原結合性フラグメントは、（ａ）配列番号１４、１８、２２、２６および３０に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子にコードされる重鎖可変領域、ならびに（ｂ）配列番号１６、２０、２４、２８および３２に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子にコードされる軽鎖可変領域を含む。他の実施形態において、抗原結合性フラグメントは、（ａ）配列番号１５、１９、２３、２７および３１に示すアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、ならびに（ｂ）配列番号１７、２１、２５、２９および３３に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。

【００１７】

本発明のさらなる実施形態において、上述の抗原結合性フラグメントのＣＤＲを含む、単離された抗体の抗原結合性フラグメントが、提供される。好ましくは、このＣＤＲは、ＣＤＲ３である。

【００１８】

本発明の別の局面に従い、前述の単離された抗体または抗原結合性フラグメントをコー

ドする単離された核酸分子を含む発現ベクターが、提供される。これらの発現ベクターにより形質転換またはトランスフェクトした宿主細胞もまた、提供される。

【００１９】

特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、（腫瘍細胞または前立腺細胞、好ましくはＬＮＣａＰ細胞のような）生細胞に結合する能力により選択される。他の実施形態においては、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ＰＳＭＡを発現している細胞の細胞溶解を媒介する。好ましくは、ＰＳＭＡを発現している細胞の細胞溶解は、エフェクター細胞により媒介されるか、またはエフェクター細胞の存在下で補体媒介される。

【００２０】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ＰＳＭＡを発現している細胞の増殖を阻害する。好ましくは、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ＰＳＭＡの細胞外ドメインへ結合するために、細胞溶解を必要としない。

【００２１】

さらなる実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、以下：ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＡｓｅｃ、ＩｇＤ、ＩｇＥからなる群から選択されるか、あるいは、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＡｓｅｃ、ＩｇＤまたはＩｇＥの免疫グロブリン定常ドメインおよび／もしくは可変ドメインを有する。他の実施形態において、抗体は、２重特異的（ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ）または多重特異的（ｍｕｌｔｉｓｐｅｃｉｆｉｃ）抗体である。

【００２２】

さらに他の実施形態において、抗体、は組換え抗体、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト化抗体もしくはキメラ抗体、またはこれらの混合である。特に好ましい実施形態において、抗体は、ヒト抗体（例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、またはモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体の混合）である。さらに他の実施形態において、抗体は、２重特異的または多重特異的抗体である。

【００２３】

好ましい抗原結合性フラグメントとして、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメント、およびＦｖフラグメントＣＤＲ３が挙げられる。

【００２４】

さらなる実施形態において、単離された抗体または抗原結合性フラグメントは、以下からなる群から選択されるハイブリドーマ細胞株に産生されるモノクローナル抗体である：ＰＳＭＡ ３．７（ＰＴＡ－３２５７）、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９（ＰＴＡ－３２５８）、ＰＳＭＡ ３．１１（ＰＴＡ－３２６９）、ＰＳＭＡ ５．４（ＰＴＡ－３２６８）、ＰＳＭＡ ７．１（ＰＴＡ－３２９２）、ＰＳＭＡ ７．３（ＰＴＡ－３２９３）、ＰＳＭＡ １０．３（ＰＴＡ－３２４７）、ＰＳＭＡ １．８．３（ＰＴＡ－３９０６）、ＰＳＭＡ Ａ３．１．３（ＰＴＡ－３９０４）、ＰＳＭＡ Ａ３．３．１（ＰＴＡ－３９０５）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２４８．２（ＰＴＡ－４４２７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３６０．３（ＰＴＡ－４４２８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７．１（ＰＴＡ－４４２９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４．１（ＰＴＡ－４５５６）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１７７．３（ＰＴＡ－４５５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１６．１（ＰＴＡ－４３５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２２．３（ＰＴＡ－４３５８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８．３（ＰＴＡ－４３５９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４０．２（ＰＴＡ－４３６０）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４８．３（ＰＴＡ－４３６１）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４９．１（ＰＴＡ－４３６２）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２０９．３（ＰＴＡ－４３６５）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２１９．３（ＰＴＡ－４３６６）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１（ＰＴＡ－４３６７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１（ＰＴＡ－４３６８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１（ＰＴＡ－４３６３）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１（ＰＴＡ－４３８８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３（ＰＴＡ－４３８９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２９２．

３（ＰＴＡ－４３９０）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１（ＰＴＡ－４３９１）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１（ＰＴＡ－４６５２）、およびＡｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１（ＰＴＡ－４６５３）。

【００２５】

特定の他の実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、コンフォメーショナルエピトープに結合し、そして／または前立腺特異的膜抗原と共に、細胞内に内在化される。他の実施形態において、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントは、標識（好ましくは以下からなる群から選択される１つ：蛍光標識、酵素標識、放射性標識、核磁気共鳴活性標識、発光標識および発色団標識）に結合される。

【００２６】

さらに他の実施形態において、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントは、以下のような、少なくとも１つの治療的部分に結合される：薬物、好ましくは細胞傷害性薬物、複製選択的ウイルス（ｒｅｐｌｉｃａｔｉｏｎ－ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ ｖｉｒｕｓ）、毒素もしくはこれらのフラグメント、または酵素もしくはそのフラグメント。好ましい細胞傷害性薬物としては、以下が挙げられる：カリケアミシン（ｃａｌｉｃｈｅａｍｉｃｉｎ）、エスペラミシン（ｅｓｐｅｒａｍｉｃｉｎ）、メトトレキサート、ドキソルビシン、メルファラン、クロラムブシル、ＡＲＡ－Ｃ、ビンデシン、マイトマイシンＣ、シスプラチン（ｃｉｓ－ｐｌａｔｉｎｕｍ）、エトポシド、ブレオマイシン、５－フルオロウラシル、エストラムスチン、ビンクリスチン、エトポシド、ドキソルビシン、パクリタキセル、ドセタキセル（ｄｏｃｅｔａｘｅｌ）、ドラスタチン１０（ｄｏｌａｓｔａｔｉｎ １０）、オーリスタチンＥ（ａｕｒｉｓｔａｔｉｎ Ｅ）およびオーリスタチンＰＨＥ（ａｕｒｉｓｔａｔｉｎ ＰＨＥ）。他の実施形態において、治療的部分は、免疫刺激剤または免疫調節剤（好ましくは以下からなる群から選択される１つ：サイトカイン、ケモカイン、およびアジュバント）である。

【００２７】

幾つかの実施形態において、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、細胞表面ＰＳＭＡおよび／またはｒｓＰＳＭＡに、約1×10^{-9}Ｍ以下の結合親和性で、特異的に結合する。好ましくは、結合親和性は、約1×10^{-10}Ｍ以下、より好ましくは結合親和性は、約1×10^{-11}Ｍ以下である。他の実施形態において、結合親和性は、約5×10^{-10}Ｍ未満である。

【００２８】

追加の実施形態において、本発明の抗体または抗原結合性フラグメントは、約1×10^{-10}Ｍ未満のIC_{50}で、ＰＳＭＡ発現細胞の特異的な細胞殺傷を媒介する。好ましくはIC_{50}は、約1×10^{-11}Ｍ未満である。より好ましくは、IC_{50}は、約1×10^{-12}Ｍ未満である。他の実施形態において、IC_{50}は、約1.5×10^{-11}Ｍ未満である。

【００２９】

さらに他の実施形態において、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントは、放射性同位体に結合される。放射性同位体は、α放射線、β放射線、またはγ放射線を発し得る。好ましくは、放射線同位体は、以下からなる群から選択される：^{225}Ac、^{211}At、^{212}Bi、^{213}Bi、^{186}Rh、^{188}Rh、^{177}Lu、^{90}Y、^{131}I、^{67}Cu、^{125}I、^{123}I、^{77}Br、^{153}Sm、^{166}Ho、^{64}Cu、^{212}Pb、^{224}Raおよび^{223}Ra。

【００３０】

本発明の別の局面に従い、以下からなる群から選択される抗体を産生するハイブリドーマ細胞株が、提供される：ＰＳＭＡ ３．７、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９、ＰＳＭＡ ３．１１、ＰＳＭＡ ５．４、ＰＳＭＡ ７．１、ＰＳＭＡ ７．３、ＰＳＭＡ １０．３、ＰＳＭＡ １．８．３、ＰＳＭＡ Ａ３．１．３、ＰＳＭＡ Ａ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３６０．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１７７．３、Ａｂｇ

ｅｎｉｘ ４．１６．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４０．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４９．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２０９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２１９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２９２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１およびＡｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１。幾つかの実施形態において、ハイブリドーマ細胞株は、以下からなる群から選択される：ＰＳＭＡ ３．７（ＰＴＡ－３２５７）、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９（ＰＴＡ－３２５８）、ＰＳＭＡ ３．１１（ＰＴＡ－３２６９）、ＰＳＭＡ ５．４（ＰＴＡ－３２６８）、ＰＳＭＡ ７．１（ＰＴＡ－３２９２）、ＰＳＭＡ ７．３（ＰＴＡ－３２９３）、ＰＳＭＡ １０．３（ＰＴＡ－３２４７）、ＰＳＭＡ １．８．３（ＰＴＡ－３９０６）、ＰＳＭＡ Ａ３．１．３（ＰＴＡ－３９０４）、ＰＳＭＡ Ａ３．３．１（ＰＴＡ－３９０５）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２４８．２（ＰＴＡ－４４２７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３６０．３（ＰＴＡ－４４２８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７．１（ＰＴＡ－４４２９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４．１（ＰＴＡ－４５５６）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１７７．３（ＰＴＡ－４５５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１６．１（ＰＴＡ－４３５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２２．３（ＰＴＡ－４３５８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８．３（ＰＴＡ－４３５９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４０．２（ＰＴＡ－４３６０）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４８．３（ＰＴＡ－４３６１）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４９．１（ＰＴＡ－４３６２）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２０９．３（ＰＴＡ－４３６５）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２１９．３（ＰＴＡ－４３６６）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１（ＰＴＡ－４３６７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１（ＰＴＡ－４３６８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１（ＰＴＡ－４３６３）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１（ＰＴＡ－４３８８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３（ＰＴＡ－４３８９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２９２．３（ＰＴＡ－４３９０）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１（ＰＴＡ－４３９１）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１（ＰＴＡ－４６５２）、およびＡｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１（ＰＴＡ－４６５３）。

【００３１】

本発明のさらなる局面に従い、上述の抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび薬学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定化剤を含む組成物が、提供される。他の組成物は、１つ以上の上述の抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび薬学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定化剤の組み合わせを含む。幾つかの実施形態において、この組成物は、以下もまた含む：抗腫瘍剤、免疫刺激剤、免疫調節剤、またはこれらの組み合わせ。好ましい抗腫瘍剤としては、細胞傷害性薬剤、腫瘍新生血管（ｎｅｏｖａｓｃｕｌａｔｕｒｅ）に対して作用する薬剤、またはこれらの組み合わせが挙げられる。好ましい免疫調節剤としては、α－インターフェロン、γ－インターフェロン、腫瘍壊死因子－αまたはこれらの組み合わせが挙げられる。好ましい免疫刺激剤としては、インターロイキン－２、免疫刺激オリゴヌクレオチド、またはこれらの組み合わせが挙げられる。

【００３２】

本発明の別の局面に従い、診断、予後またはモニタリングのための前立腺癌検出キットが、提供される。このキットは、上述の単離された標識抗体またはその抗原結合性フラグメント、および標識を検出するための１つ以上の化合物を含む。好ましくはこの標識は、以下からなる群から選択される：蛍光標識、酵素標識、放射性標識、核磁気共鳴活性標識、発光標識、および発色団標識。

【００３３】

本発明は、別の局面において、凍結乾燥形態でパッケージされるか、または水性媒体にパッケージされた、１つ以上の上述の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントを提供する。

【００３４】

本発明の別の局面において、サンプル中の、ＰＳＭＡ、またはＰＳＭＡを発現している細胞の存在を検出する方法が、提供される。この方法は、サンプルを、ＰＳＭＡの細胞外ドメインと特異的に結合する任意の上述の抗体またはその抗原結合性フラグメントと、抗体またはその抗原結合性フラグメントとＰＳＭＡとの間に複合体を形成させるのに十分な時間、接触させる工程、およびＰＳＭＡ－抗体複合体またはＰＳＭＡ－抗原結合性フラグメント複合体を検出する工程を包含する。サンプルにおいて複合体が存在することは、ＰＳＭＡまたはＰＳＭＡ発現細胞がサンプル中に存在することを表す。

【００３５】

別の局面において、本発明は、被験体におけるＰＳＭＡ媒介性疾患の診断のための他の方法を提供する。この方法は、前立腺特異的膜抗原の細胞外ドメインに特異的に結合する、一定量の任意の上述の抗体またはその抗原結合性フラグメントを、ＰＳＭＡ媒介性疾患を有すると疑われる被験体または過去にＰＳＭＡ媒介性疾患と診断された被験体に、投与する工程を包含する。この方法はまた、抗体またはその抗原結合性フラグメントとＰＳＭＡとの間に複合体を形成させる工程、および標的エピトープに対するＰＳＭＡ－抗体複合体またはＰＳＭＡ－抗原結合性フラグメント複合体の形成を検出する工程を包含する。前立腺癌を有すると疑われる被験体または過去に前立腺癌と診断された被験体における複合体の存在は、ＰＳＭＡ媒介性疾患の存在を表す。

【００３６】

この方法の特定の実施形態において、ＰＳＭＡ媒介性疾患は、前立腺癌である。他の実施形態において、ＰＳＭＡ媒介性疾患は、以下からなる群から選択されるような非前立腺癌である：移行上皮癌を含む膀胱癌；膵管癌腫を含む膵臓癌；非小細胞肺癌腫を含む肺癌；通常腎細胞癌腫を含む腎臓癌；軟部組織肉腫を含む肉腫；胸癌腫を含む胸癌；多形膠芽腫を含む脳癌；神経内分泌癌腫；結腸癌腫を含む結腸癌；睾丸胚癌腫を含む睾丸癌；および悪性黒色腫を含む黒色腫。

【００３７】

上述の方法の好ましい実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、標識される。上述の方法の他の実施形態において、第二抗体が、第一抗体またはその抗原結合性フラグメントを検出するために投与される。

【００３８】

本発明のさらなる局面において、ＰＳＭＡ媒介性疾患を有する被験体の予後を評価するための方法が、提供される。この方法は、ＰＳＭＡ媒介性疾患を有すると疑われる被験体または過去にＰＳＭＡ媒介性疾患と診断された被験体に、有効量の上述の抗体またはその抗原結合性フラグメントを、特許請求の範囲Ａ１またはＢ１に従って投与する工程、抗体またはその抗原結合性フラグメントとＰＳＭＡとの間に複合体を形成させる工程、および標的エピトープに対する複合体の形成を検出する工程を包含する。ＰＳＭＡ媒介性疾患を有すると疑われる被験体または過去にＰＳＭＡ媒介性疾患と診断された被験体における複合体の量は、予後を表す。

【００３９】

本発明の別の局面において、ＰＳＭＡ媒介性疾患を有する被験体の処置の有効性を評価するための方法が提供される。この方法は、ＰＳＭＡ媒介性疾患について処置されたと疑われる被験体に、有効量の上述の抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与する工程、この抗体またはその抗原結合性フラグメントとＰＳＭＡとの間に複合体を形成させる工程、および標的エピトープに対する複合体の形成を検出する工程を包含する。ＰＳＭＡ媒介性疾患を有すると疑われる被験体または過去にＰＳＭＡ媒介性疾患と診断された被験体における複合体の量は、処置の有効性を示す。

【００４０】

本発明のこれらの２つの局面の特定の実施形態において、ＰＳＭＡ媒介性疾患は、前立腺癌である。他の実施形態において、ＰＳＭＡ媒介性疾患は、非前立腺癌である。これらの実施形態において、非前立腺癌は、好ましくは以下からなる群より選択される：移行上皮癌を含む膀胱癌；膵管癌腫を含む膵臓癌；非小細胞肺癌腫を含む肺癌；通常腎細胞癌腫

を含む腎臓癌；軟部組織肉腫を含む肉腫；胸癌腫を含む胸癌；多形膠芽腫を含む脳癌；神経内分泌癌腫；結腸癌腫を含む結腸癌；睾丸胚癌腫を含む睾丸癌；および悪性黒色腫を含む黒色腫。さらに他の実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、標識される。さらなる実施形態において、第二抗体が、第一抗体またはその抗原結合性フラグメントを検出するために投与される。

【００４１】

本発明のまた別の局面に従い、ＰＳＭＡを発現している細胞の増殖を阻害する方法が、提供される。この方法は、ＰＳＭＡを発現している細胞を、一定量の、ＰＳＭＡ細胞外ドメインに特異的に結合する、ＰＳＭＡを発現している細胞の増殖を阻害するのに有効な、少なくとも１つの上述の抗体またはその抗原結合性フラグメントと、接触させる工程を包含する。

【００４２】

本発明の他の局面に従い、ＰＳＭＡを発現している細胞の細胞溶解を誘導する方法が、提供される。この方法は、ＰＳＭＡを発現している細胞を、一定量の、ＰＳＭＡの細胞外ドメインに特異的に結合する、ＰＳＭＡを発現している細胞の細胞溶解を誘導するのに有効な、少なくとも１つの抗体またはその抗原結合性フラグメントと、接触させる工程を包含する。特定の実施形態において、細胞溶解は、エフェクター細胞の存在下で起こる。他の実施形態において、細胞溶解は補体媒介される。

【００４３】

本発明のさらに別の局面に従い、ＰＳＭＡ媒介性疾患を処置または予防する方法が、提供される。この方法は、ＰＳＭＡ媒介性疾患を有する被験体へ、有効量の少なくとも１つの上述の抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与し、ＰＳＭＡ媒介性疾患を処置または予防する工程を包含する。幾つかの実施形態において、ＰＳＭＡ媒介性疾患は、前立腺癌または非前立腺癌（本明細書中の他の場所で記載した非前立腺癌を含む）のような癌である。

【００４４】

本発明のまたさらなる局面において、ＰＳＭＡ媒介性疾患を処置または予防する方法が、提供される。本方法は、ＰＳＭＡ媒介性疾患を有する被験体またはＰＳＭＡ媒介性疾患を有する危険のある被験体へ、ＰＳＭＡ媒介性疾患を処置または予防するのに有効な量の、少なくとも１つの上述の抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与する工程を包含する。

【００４５】

幾つかの実施形態において、ＰＳＭＡ媒介性疾患は、前立腺癌または非前立腺癌（本明細書中の他の場所で記載した非前立腺癌を含む）のような癌である。

【００４６】

他の実施形態において、この方法は、抗体またはその抗原結合性フラグメントの投与前、投与中、または投与後の任意の時に、別の治療剤を投与してＰＳＭＡ媒介性疾患を処置または予防する工程も包含する。これらの幾つかの実施形態において、治療薬剤は、ワクチンであり、そして好ましくは被験体をＰＳＭＡに対し免疫するワクチンである。

【００４７】

なお他の実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、少なくとも１つの治療的部分（好ましくは細胞傷害性薬物、腫瘍新生血管に対して作用する薬物およびこれらの組み合わせ）と結合される。好ましい細胞傷害性薬物は、以下からなる群から選択される：カリケアミシン、エスペラミシン、メトトレキサート、ドキソルビシン、メルファラン、クロラムブシル、ＡＲＡ－Ｃ、ビンデシン、マイトマイシンＣ、シスプラチン、エトポシド、ブレオマイシン、５－フルオロウラシル、エストラムスチン、ビンクリスチン、エトポシド、ドキソルビシン、パクリタキセル、ドセタキセル、ドラスタチン１０、オーリスタチンＥおよびオーリスタチンＰＨＥ。

【００４８】

他の実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、放射性同位体に結

合され、この放射性同位体から発する放射線は、α放射線、β放射線およびγ放射線からなる群から選択される。好ましくは、放射性同位体は、以下からなる群から選択される：^{225}Ａｃ、^{211}Ａｔ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{186}Ｒｈ、^{188}Ｒｈ、^{177}Ｌｕ、^{90}Ｙ、^{131}Ｉ、^{67}Ｃｕ、^{125}Ｉ、^{123}Ｉ、^{77}Ｂｒ、^{153}Ｓｍ、^{166}Ｈｏ、^{64}Ｃｕ、^{212}Ｐｂ、^{224}Ｒａおよび^{223}Ｒａ。

【００４９】

本発明は、ＰＳＭＡの少なくとも１つの酵素活性を調節する方法を提供する。この方法の好ましい実施形態において使用される場合、ＰＳＭＡの酵素活性を「調節する」とは、酵素活性を増大または阻害することを意味する。従って本発明の特定の局面において、ＰＳＭＡの酵素活性を阻害する方法が、提供され、本発明の他の局面では、ＰＳＭＡの酵素活性を増大する方法が、提供される。この文脈における用語「増大する（ｅｎｈａｎｃｉｎｇ）」および用語「阻害する」は、ＰＳＭＡに特異的に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントの存在下で、このような抗体またはその抗原結合性フラグメントの非存在下の活性レベルと比較して、ＰＳＭＡの酵素活性が、増大または阻害されることを示す。ＰＳＭＡの酵素活性としては、フォレートヒドロラーゼ活性、Ｎ－アセチル化α結合酸性ジペプチダーゼ（ＮＡＡＬＡＤａｓｅ）活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性およびγグルタミナルヒドロラーゼ活性が挙げられる。

【００５０】

従って別の実施形態において、本発明は、フォレートヒドロラーゼ活性を調節する方法を提供する。これらの方法の特定の実施形態において、活性は阻害され、他の実施形態において、活性は増大される。この方法は、フォレートヒドロラーゼポリペプチドを、一定量の上述の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントと、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントがフォレートヒドロラーゼ活性を調節する条件下で、接触させる工程を包含する。細胞、細胞ホモジネート、組織、もしくは組織ホモジネートのようなサンプルに含まれるか、または生物に含まれるフォレートヒドロラーゼポリペプチドが、単離され得る。この生物は、好ましくは動物であり、特に好ましくは哺乳動物である。

【００５１】

本発明の別の局面において、Ｎ－アセチル化α結合酸性ジペプチダーゼ（ＮＡＡＬＡＤａｓｅ）活性を調節する方法が提供される。これらの方法の特定の実施形態において、活性は阻害され、他の実施形態において、活性は増大される。この方法は、ＮＡＡＬＡＤａｓｅポリペプチドを、一定量の上述の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントと、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントがＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性を調節する条件下で、接触させる工程を包含する。細胞、細胞ホモジネート、組織、もしくは組織ホモジネートのようなサンプルに含まれるか、または生物に含まれるＮＡＡＬＡＤａｓｅポリペプチドが、単離され得る。この生物は、好ましくは動物であり、特に好ましくは哺乳動物である。

【００５２】

本発明のまた別の局面において、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性を調節する方法が、提供される。これらの方法の特定の実施形態において、活性は阻害され、他の実施形態において、活性は増大される。この方法は、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶポリペプチドを、一定量の上述の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントと、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントがジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性を調節する条件下で、接触させる工程を包含する。細胞、細胞ホモジネート、組織、もしくは組織ホモジネートのようなサンプルに含まれるか、または生物に含まれるジペプチジルジペプチダーゼＩＶポリペプチドが、単離され得る。この生物は、好ましくは動物であり、特に好ましくは哺乳動物である。

【００５３】

本発明のまた別の局面において、γグルタミナルヒドロラーゼ活性を調節する方法が、提供される。これらの方法の特定の実施形態において、活性は阻害され、他の実施形態において、活性は増大される。この方法は、γグルタミナルヒドロラーゼポリペプチドを、

一定量の上述の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントと、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントがγグルタミナルヒドロラーゼ活性を調節する条件下で、接触させる工程を包含する。細胞、細胞ホモジネート、組織、もしくは組織ホモジネートのようなサンプルに含まれるか、または生物に含まれるγグルタミナルヒドロラーゼポリペプチドが、単離され得る。この生物は、好ましくは動物であり、特に好ましくは哺乳動物である。

【００５４】

ＰＳＭＡ発現細胞に少なくとも１つの治療剤を特異的に送達する方法が、本発明の別の局面に従って、提供される。この方法は、少なくとも１つの治療薬剤と結合体化した、有効量の少なくとも１つの上述の抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与する工程を、包含する。幾つかの実施形態において、治療剤は、核酸分子、抗腫瘍薬物、毒素もしくはそのフラグメント、酵素もしくはそのフラグメント、複製選択的ウイルス、または免疫刺激剤もしくは免疫調節剤である。好ましい抗腫瘍薬物としては、細胞傷害性薬物、腫瘍新生血管に対して作用する薬物およびこれらの組み合わせが挙げられる。好ましい細胞傷害性薬物としては、以下が挙げられる：カリケアミシン、エスペラミシン、メトトレキサート、ドキソルビシン、メルファラン、クロラムブシル、ＡＲＡ－Ｃ、ビンデシン、マイトマイシンＣ、シスプラチン、エトポシド、ブレオマイシン、５－フルオロウラシル、エストラムスチン、ビンクリスチン、エトポシド、ドキソルビシン、パクリタキセル、ドセタキセル、ドラスタチン１０、オーリスタチンＥおよびオーリスタチンＰＨＥ。好ましい免疫刺激剤または免疫調節剤としては、サイトカイン、ケモカイン、およびアジュバントが挙げられた。

【００５５】

本発明のまた別の局面において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーを選択的に結合する単離された抗体が、提供される。好ましい実施形態において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、ダイマーであり、そして好ましくはこのマルチマーを形成する少なくとも１つのＰＳＭＡタンパク質は、組換え可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ）ポリペプチドである。好ましくは、ｒｓＰＳＭＡポリペプチドは、本質的に配列番号１のアミノ酸４４～７５０からなる。

【００５６】

本発明のさらなる局面において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーを選択的に結合し、そしてＰＳＭＡタンパク質マルチマーの１つ以上の酵素活性を調節する、単離された抗体が、提供される。本発明のこの局面の好ましい実施形態において使用されるように、ＰＳＭＡマルチマーの酵素活性を「調節する」とは、酵素活性を増大または阻害することを意味する。従って本発明の特定の局面において、ＰＳＭＡマルチマーの酵素活性を阻害する抗体が、提供され、本発明の他の局面では、ＰＳＭＡマルチマーの酵素活性を増大する抗体が、提供される。この文脈における用語「増大する」および用語「阻害する」は、ＰＳＭＡマルチマーを特異的に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントの存在下で、このような抗体またはその抗原結合性フラグメントの非存在下の活性レベルと比較して、ＰＳＭＡマルチマーの酵素活性が、増大されることまたは阻害されることを示す。幾つかの実施形態において、この酵素活性は、フォレートヒドロラーゼ活性、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性およびγグルタミナルヒドロラーゼ活性からなる群から選択される。他の実施形態において、この酵素活性は、ＰＳＭＡ分子の細胞外ドメインにおいて存在する。さらに他の実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ＰＳＭＡの細胞外ドメインに特異的に結合する。

【００５７】

さらなる局面において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーを選択的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントが、提供される。この局面において、単離された抗体は、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む調製物で動物を免疫することにより、作製される。この抗体を作製するのに使用される好ましい調製物としては、少なくとも約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、７５％、９０％、または９５％のＰＳＭＡタン

パク質マルチマーを有する調製物が挙げられる。好ましくは、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、ダイマーである。

【００５８】

本発明のさらに別の局面において、１つ以上の上述の単離された抗体、および免疫刺激性分子（例えば、アジュバントおよび／またはサイトカイン）を含む組成物が、提供される。好ましくはまた、免疫刺激性分子は、ＩＬ－２または免疫刺激性オリゴヌクレオチドである。特定の実施形態において、上述の組成物はまた、薬学的受容可能キャリアを含む。

【００５９】

本発明はまた、有効量の上述の単離された抗体または組成物を、このような処置を必要とする被験体に投与する工程を包含する、免疫応答を誘導するための方法を含む。

【００６０】

本発明は、別の局面において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーを選択的に結合しそしてＰＳＭＡの少なくとも１つの酵素活性を調節する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントを、提供する。本発明のこの局面の好ましい実施形態において使用されるように、ＰＳＭＡの酵素活性を「調節する」とは、この酵素活性を増大することまたは阻害することを意味する。従って、本発明の特定の局面において、ＰＳＭＡの酵素活性を阻害する抗体が、提供され、本発明の他の局面において、ＰＳＭＡの酵素活性を阻害する抗体が、提供される。この文脈において、用語「増大する」および用語「阻害する」は、ＰＳＭＡを選択的に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントの存在下において、このような抗体または抗原結合性フラグメント非存在下での活性のレベルと比べて、ＰＳＭＡの酵素活性が増大されることまたは阻害されることを示す。この酵素は、特定の実施形態において、ヒドロラーゼおよびペプチダーゼからなる群から選択される。好ましいヒドロラーゼとしては、フォレートヒドロラーゼおよびγ－グルタミルヒドロラーゼが挙げられる。特定の好ましいＰＳＭＡ阻害の実施形態において、ヒドロラーゼは、フォレートヒドロラーゼであり、そして抗体は、ｍＡｂ５．４またはｍＡｂ３．９である。好ましいペプチダーゼとしては、ＮＡＡＬＡＤａｓｅおよびジペプチジルジペプチダーゼＩＶが挙げられる。幾つかの実施形態において、この酵素は、癌細胞において活性であり、そして癌細胞においてより正常細胞において低い活性を有し、好ましくは、正常細胞においては活性がない。好ましい実施形態において、この酵素が活性である癌細胞は、前立腺癌細胞である。上述の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント、および薬学的受容可能キャリアを含む組成物も、本発明により提供される。

【００６１】

本発明の別の局面において、単離されたＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む組成物が、提供される。好ましくは、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、ダイマーである。特定の実施形態において、この組成物は、少なくとも約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、７５％、９０％、または９５％のＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む。他の実施形態において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、非共有結合的に結合したＰＳＭＡタンパク質を含む。ＰＭＳＡタンパク質は、好ましくは、非変性条件下で非共有結合的に結合される。

【００６２】

上述の組成物の特定の実施形態において、マルチマーを形成する少なくとも１つのＰＳＭＡタンパク質は、組換え体（可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ）ポリペプチド）である。他の実施形態において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、特異的にＰＳＭＡを認識するコンフォメーション特異的抗体に、反応性である。好ましくは、ネイティブなコンフォメーションにおいてＰＳＭＡタンパク質を含むＰＳＭＡタンパク質マルチマーおよび／またはＰＳＭＡマルチマーは、酵素的に活性である。好ましい実施形態において、この酵素活性は、フォレートヒドロラーゼ活性、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性および／またはγ－グルタミルヒドロラーゼ活性である。

【００６３】

さらに他の実施形態において、上述の組成物はまた、アジュバントおよび／もしくはサイトカインまたは他の免疫刺激性分子を含む。好ましいサイトカインとしては、ＩＬ－２、ＩＬ－１２、ＩＬ－１８およびＧＭ－ＣＳＦが挙げられる。さらなる実施形態において、上述の組成物はまた、薬学的受容可能キャリアを含む。

【００６４】

本発明のさらに別の局面に従い、免疫応答を誘導するための方法が、提供される。この方法は、このような処置を必要とする被験体に、有効量の１つ以上の上述の組成物を投与する工程を包含する。

【００６５】

さらなる局面において、本発明は、単離された組換え可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ）タンパク質マルチマー、および単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質ダイマーを含む。幾つかの実施形態において、このダイマーは、非共有的に結合したｒｓＰＳＭＡタンパク質を含み、そして好ましくは、ｒｓＰＳＭＡタンパク質は、非変性条件下で非共有結合的に結合される。他の実施形態において、単離されたｒｓＰＳＭＡダイマーは、ＰＳＭＡを特異的に認識するコンフォメーション特異的抗体に反応性である。

【００６６】

特定の好ましい実施形態において、単離されたｒｓＰＳＭＡダイマーは、酵素活性であり、この酵素活性は、フォレートヒドロラーゼ活性、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性およびγ－グルタミルヒドロラーゼ活性からなる群から選択される。

【００６７】

本発明のさらに別の局面において、ＰＳＭＡ酵素の少なくとも１つの酵素活性を調節する候補薬剤をスクリーニングする方法が、提供される。この方法の好ましい実施形態において使用されるように、ＰＳＭＡの酵素活性を「調節する」とは、この酵素活性を増大するまたは阻害することを意味する。従って、本発明の特定の局面において、ＰＳＭＡの酵素活性を阻害する候補薬剤をスクリーニングする方法が、提供され、そして本発明の他の局面において、ＰＳＭＡの酵素活性を増大する候補薬剤をスクリーニングする方法が、提供される。この文脈における用語「増大する」および用語「阻害する」は、候補薬剤の存在下で、このような薬剤の非存在下の活性レベルと比較して、ＰＳＭＡの酵素活性が、増大または阻害されることを示す。この方法は、この候補薬剤を単離されたＰＳＭＡタンパク質マルチマーと混合して反応混合物を形成する工程、その後でＰＳＭＡ酵素の基質を反応混合物に添加する工程、およびＰＳＭＡ酵素により基質から形成された産物の量を決定する工程を包含する。コントロールとの比較における、形成された産物の量における変化は、ＰＳＭＡ酵素の少なくとも１つの酵素活性を調節し得る薬剤を表す。コントロールとの比較における、形成された産物の量における減少は、ＰＳＭＡ酵素の少なくとも１つの酵素活性を減少し得る薬剤を表す。コントロールとの比較における、形成された産物の量における増加は、ＰＳＭＡ酵素の少なくとも１つの酵素活性を増大し得る薬剤を表す。幾つかの実施形態において、ＰＳＭＡ酵素は、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ、フォレートヒドロラーゼ、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶおよびγ－グルタミルヒドロラーゼからなる群から選択される。他の実施形態において、ＰＳＭＡマルチマーは、組換え可溶性ＰＳＭＡを含む。さらに他の実施形態において、候補薬剤は、抗体、有機小化合物、またはペプチドからなる群から選択される。

【００６８】

本発明の別の局面において、ＰＳＭＡの少なくとも１つの酵素活性を調節する候補薬剤が、提供される。酵素薬剤は、上述の方法に従って同定される。従って、本発明の特定の局面において、ＰＳＭＡの酵素活性を阻害する候補薬剤が、提供され、そして本発明の他の局面において、ＰＳＭＡの酵素活性を増大する候補薬剤が、提供される。特定の実施形態において、この薬剤は、コンビナトリアル抗体ライブラリー、コンビナトリアルタンパク質ライブラリー、または有機小分子ライブラリーから選択される。

【００６９】

本発明はまた、ＰＳＭＡダイマーの解離を促進する化合物を同定する方法を提供する。この方法は、化合物の非存在下でＰＳＭＡダイマーの解離を促進しない条件下でＰＳＭＡダイマーと化合物を接触させる工程、ＰＳＭＡモノマーおよび／またはＰＳＭＡダイマーの量を測定する工程；ならびにこの化合物の存在下で測定されたＰＳＭＡモノマーおよび／またはＰＳＭＡダイマーの量をこの化合物の非存在下で観察された測定量と比較する工程を包含する。化合物の存在下で測定されたＰＳＭＡモノマーの量における増加は、この化合物がＰＳＭＡダイマーの解離を促進し得ることを示す。化合物の存在下で測定されたＰＳＭＡダイマーの量における減少は、この化合物がＰＳＭＡダイマーの解離を促進し得ることを示す。ＰＳＭＡモノマーおよびＰＳＭＡダイマーの量を測定した場合、この方法は、ＰＳＭＡモノマー対ＰＳＭＡダイマーの比率を計算する工程、この化合物の存在下で得られた比率をこの化合物の非存在下で得られた比率と比較する工程を包含する。このような方法において、この化合物の存在下で測定された比率の増加は、この化合物がＰＳＭＡダイマーの解離を促進し得ることを示す。

【００７０】

医薬の調製における、上述の組成物、分子および薬剤の使用も、提供される。好ましい実施形態において、この医薬は、過剰増殖性疾患（癌、ならびに不適当なＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、フォレートヒドロラーゼ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性および／またはγ－グルタミルヒドロラーゼ活性の疾患を含む）に関する状態の処置において有用である。

【００７１】

本発明のこれらおよび他の局面は、本発明の詳細な記載に関連して、さらに詳細に記載される。

【００７２】

例えば、本発明は以下の項目を提供する。

（項目１）

前立腺特異膜抗原（ＰＭＳＡ）上のエピトープに特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＰＭＳＡ上の第２抗体の標的エピトープに対する第２抗体の特異的結合を競合的に阻害し、ここで該第２抗体は、ＰＳＭＡ　３．７、ＰＳＭＡ　３．８、ＰＳＭＡ　３．９、ＰＳＭＡ　３．１１、ＰＳＭＡ　５．４、ＰＳＭＡ　７．１、ＰＳＭＡ　７．３、ＰＳＭＡ　１０．３、ＰＳＭＡ　１．８．３、ＰＳＭＡ　Ａ３．１．３、ＰＳＭＡ　Ａ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３６０．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１７７．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１６．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４０．２、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４９．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２０９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２１９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３３３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．５４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１５３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２３２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２９２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３０４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１５２．１であり、および

（ａ）配列番号２～７に示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および

（ｂ）配列番号８～１３に示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む抗体からなる群から選択される、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目２）

項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、

（ａ）配列番号２に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および

（ｂ）配列番号８に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目３）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、
（ａ）配列番号３に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号９に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またその抗原結合性フラグメント。
（項目４）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、
（ａ）配列番号４に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号１０に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目５）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、
（ａ）配列番号５に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号１１に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、
（ａ）配列番号６に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号１２に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、
（ａ）配列番号７に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号１３に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目８）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＰＳＭＡ　３．７、ＰＳＭＡ　３．８、ＰＳＭＡ　３．９、ＰＳＭＡ　３．１１、ＰＳＭＡ　５．４、ＰＳＭＡ　７．１、ＰＳＭＡ　７．３、ＰＳＭＡ　１０．３、ＰＳＭＡ　１．８．３、ＰＳＭＡ　Ａ３．１．３、ＰＳＭＡ　Ａ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３６０．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１７７．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１６．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４０．２、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４９．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２０９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２１９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３３３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．５４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１５３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ４．２３２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２９２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３０４．１、Ａｂ

ｇｅｎｉｘ　４．７８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１５２．１およびその抗原結合性フラグメントからなる群から選択される、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目９）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、
（ａ）配列番号２～７に示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列の重鎖コード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号８～１３に示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列の軽鎖コード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む抗体およびその抗原結合性フラグメントからなる群から選択される、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１０）
項目９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、
（ａ）配列番号２に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号８に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１１）
項目９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、
（ａ）配列番号３に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号９に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１２）
項目９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、
（ａ）配列番号４に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号１０に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１３）
項目９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、
（ａ）配列番号５に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号１１に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１４）
項目９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、
（ａ）配列番号６に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号１２に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１５）
項目９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ここで前記第２抗体が、

（ａ）配列番号７に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖、および
（ｂ）配列番号１３に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６）
前立腺特異膜抗原の細胞外ドメインに特異的に結合する単離された抗体であって、ここで該抗体が、項目９に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列と、少なくとも約９０％同一なヌクレオチド配列を含む核酸分子によってコードされる、単離された抗体。
（項目１７）
項目１６に記載の単離された抗体であって、ここで前記抗体が、少なくとも約９５％同一なヌクレオチド配列を含む核酸分子によってコードされる、単離された抗体。
（項目１８）
項目１６に記載の単離された抗体であって、ここで前記抗体が、少なくとも約９７％同一のヌクレオチド配列を含む核酸分子によってコードされる、単離された抗体。
（項目１９）
項目１６に記載の単離された抗体であって、ここで前記抗体が、少なくとも約９８％同一のヌクレオチド配列を含む核酸分子によってコードされる、単離された抗体。
（項目２０）
項目１６に記載の単離された抗体であって、ここで前記抗体が、少なくとも約９９％同一のヌクレオチド配列を含む核酸分子によってコードされる、単離された抗体。
（項目２１）
項目９に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであり、
（ａ）配列番号１４、１８、２２、２６および３０に示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号１６、２０、２４、２８および３２に示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目２２）
項目２１に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号１４に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号１６に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目２３）
項目２１に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号１８に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号２０に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目２４）
項目２１に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号２２に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号２４に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目２５）
項目２１に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号２６に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖の可変領域、および

（ｂ）配列番号２８に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目２６）
項目２１に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号３０に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号３２に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目２７）
項目９に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号１５、１９、２３、２７および３１に示されるアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号１７、２１、２５、２９および３３に示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目２８）
項目２７に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号１５に示されるアミノ酸配列を含む重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号１７に示されるアミノ酸を含む軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目２９）
項目２７に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号１９に示されるアミノ酸配列を含む重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号２１に示されるアミノ酸を含む軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目３０）
項目２７に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号２３に示されるアミノ酸配列を含む重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号２５に示されるアミノ酸を含む軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目３１）
項目２７に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号２７に示されるアミノ酸配列を含む重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号２９に示されるアミノ酸を含む軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目３２）
項目２７に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号３１に示されるアミノ酸配列を含む重鎖の可変領域、および
（ｂ）配列番号３３に示されるアミノ酸を含む軽鎖の可変領域と、を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目３３）
項目２１または項目２７に記載の抗原結合性フラグメントのＣＤＲを含む、単離されたその抗原結合性フラグメント。
（項目３４）
項目３３に記載の単離された抗原結合性フラグメントであって、前記ＣＤＲがＣＤＲ３である、単離されたその抗原結合性フラグメント。
（項目３５）
項目１～３４のうちのいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントをコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目３６）

配列番号２に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６の重鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目３７）
配列番号８に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６の軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目３８）
配列番号２および配列番号８に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６の重鎖および軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目３９）
配列番号３に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６の重鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目４０）
配列番号９に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６の軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目４１）
配列番号３および配列番号９に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６の重鎖および軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目４２）
配列番号４に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１の重鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目４３）
配列番号１０に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１の軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目４４）
配列番号４および配列番号１０に示されるヌクレオチド配列のコード領域または領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１の重鎖および軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目４５）
配列番号５に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９の重鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目４６）
配列番号１１に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９の軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目４７）
配列番号５および配列番号１１に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９の重鎖および軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目４８）
配列番号６に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７の重鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現

ベクター。
（項目４９）
配列番号１２に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７の軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目５０）
配列番号６および配列番号１２に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７の重鎖および軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目５１）
配列番号７に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６の重鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目５２）
配列番号１３に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６の軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目５３）
配列番号７および配列番号１３に示されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６の重鎖および軽鎖をコードする単離された核酸分子を含む、発現ベクター。
（項目５４）
項目３５に記載の発現ベクターによって形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞。
（項目５５）
項目１～３４のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントを産生するプラスミド。
（項目５６）
項目５５に記載のプラスミドであって、ここで該プラスミドは：
ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６重鎖（配列番号２）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６軽鎖（配列番号８）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６重鎖（配列番号３）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６軽鎖（配列番号９）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１重鎖（配列番号４）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１軽鎖（配列番号１０）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９重鎖（配列番号５）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９軽鎖（配列番号１１）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７重鎖（配列番号６）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７軽鎖（配列番号１２）、ＰＳＭＡ　１０．３重鎖（配列番号７）、およびＰＳＭＡ　１０．３κ（配列番号１３）からなる群から選択される、プラスミド。
（項目５７）
前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、生細胞へ結合する能力について選択される、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目５８）
前記細胞が腫瘍細胞である、項目５７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目５９）
前記腫瘍細胞が前立腺腫瘍細胞である、項目５８に記載の単離された単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６０）
前記腫瘍細胞がＬＮＣａＰ細胞である、項目５９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６１）

前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＰＳＭＡを発現する細胞の細胞溶解を媒介する、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６２）
ＰＳＭＡを発現する細胞の細胞溶解が、エフェクター細胞によって媒介される、項目６１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６３）
ＰＳＭＡを発現する細胞の細胞溶解が、エフェクター細胞の存在下で補体媒介される、項目６１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６４）
前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＰＳＭＡを発現する細胞の増殖を阻害する、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６５）
前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＰＳＭＡ上のエピトープに結合するために細胞溶解を必要としない、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６６）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＡｓｅｃ、ＩｇＤ、ＩｇＥからなる群から選択されるか、あるいはＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＡｓｅｃ、ＩｇＤまたはＩｇＥの免疫グロブリン定常ドメインおよび／または可変ドメインを有する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６７）
前記抗体が組換え抗体である、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６８）
前記抗体がポリクローナル抗体である、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目６９）
前記抗体がモノクローナル抗体である、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７０）
前記抗体がヒト抗体である、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７１）
前記抗体がモノクローナル抗体である、項目７０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７２）
前記抗体がポリクローナル抗体である、項目７０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７３）
前記抗体が、モノクローナル抗体および／またはポリクローナル抗体の混合物である、項目７０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７４）
前記抗体がキメラ抗体である、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７５）
前記抗体がモノクローナル抗体である、項目７４に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７６）

前記抗体がポリクローナル抗体である、項目７４に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７７）
前記抗体が、モノクローナル抗体および／またはポリクローナル抗体の混合物である、項目７４に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７８）
前記抗体がヒト抗体である、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目７９）
前記抗体がモノクローナル抗体である、項目７８に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目８０）
前記抗体がポリクローナル抗体である、項目７８に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目８１）
前記抗体が、モノクローナル抗体および／またはポリクローナル抗体の混合物である、項目７８に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目８２）
前記抗体が、二重特異的（ｂｉｓｐｅｃｉｆｉｃ）抗体または多重特異的（ｍｕｌｔｉｓｐｅｃｉｆｉｃ）抗体である、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目８３）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該単離された抗原結合性フラグメントが、Ｆａｂフラグメント、ａＦ（ａｂ’）２フラグメント、およびＦｖフラグメントＣＤＲ３からなる群から選択される、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目８４）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体が、ＰＳＭＡ　３．７（ＰＴＡ－３２５７）、ＰＳＭＡ　３．８、ＰＳＭＡ　３．９（ＰＴＡ－３２５８）、ＰＳＭＡ　３．１１（ＰＴＡ－３２６９）、ＰＳＭＡ　５．４（ＰＴＡ－３２６８）、ＰＳＭＡ　７．１（ＰＴＡ－３２９２）、ＰＳＭＡ　７．３（ＰＴＡ－３２９３）、ＰＳＭＡ　１０．３（ＰＴＡ－３２４７）、ＰＳＭＡ　１．８．３（ＰＴＡ－３９０６）、ＰＳＭＡ　Ａ３．１．３（ＰＴＡ－３９０４）、ＰＳＭＡ　Ａ３．３．１（ＰＴＡ－３９０５）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２４８．２（ＰＴＡ－４４２７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３６０．３（ＰＴＡ－４４２８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７．１（ＰＴＡ－４４２９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４．１（ＰＴＡ－４５５６）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１７７．３（ＰＴＡ－４５５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１６．１（ＰＴＡ－４３５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２２．３（ＰＴＡ－４３５８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８．３（ＰＴＡ－４３５９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４０．２（ＰＴＡ－４３６０）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４８．３（ＰＴＡ－４３６１）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４９．１（ＰＴＡ－４３６２）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２０９．３（ＰＴＡ－４３６５）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２１９．３（ＰＴＡ－４３６６）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８８．１（ＰＴＡ－４３６７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３３３．１（ＰＴＡ－４３６８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．５４．１（ＰＴＡ－４３６３）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１５３．１（ＰＴＡ－４３８８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２３２．３（ＰＴＡ－４３８９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２９２．３（ＰＴＡ－４３９０）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３０４．１（ＰＴＡ－４３９１）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７８．１（ＰＴＡ－４６５２）、およびＡｂｇｅｎｉｘ　４．１５２．１．（ＰＴＡ－４６５３）からなる群から選択されるハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体である、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目８５）

前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、立体配座エピトープに結合する、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目８６）

前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、前立腺特異膜抗原とともに細胞内に内在化され、項目１に記載の単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目８７）

ＰＳＭＡ ３．７、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９、ＰＳＭＡ ３．１１、ＰＳＭＡ ５．４、ＰＳＭＡ ７．１、ＰＳＭＡ ７．３、ＰＳＭＡ １０．３、ＰＳＭＡ １．８．３、ＰＳＭＡ Ａ３．１．３、ＰＳＭＡ Ａ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３６０．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１７７．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１６．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４０．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４９．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２０９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２１９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２９２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１およびＡｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１からなる群から選択される抗体を産生する、ハイブリドーマ細胞株。

（項目８８）

項目８７に記載のハイブリドーマ細胞株であって、該ハイブリドーマ細胞株が、ＰＳＭＡ ３．７（ＰＴＡ－３２５７）、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９（ＰＴＡ－３２５８）、ＰＳＭＡ ３．１１（ＰＴＡ－３２６９）、ＰＳＭＡ ５．４（ＰＴＡ－３２６８）、ＰＳＭＡ ７．１（ＰＴＡ－３２９２）、ＰＳＭＡ ７．３（ＰＴＡ－３２９３）、ＰＳＭＡ １０．３（ＰＴＡ－３２４７）、ＰＳＭＡ １．８．３（ＰＴＡ－３９０６）、ＰＳＭＡ Ａ３．１．３（ＰＴＡ－３９０４）、ＰＳＭＡ Ａ３．３．１（ＰＴＡ－３９０５）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２４８．２（ＰＴＡ－４４２７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３６０．３（ＰＴＡ－４４２８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７．１（ＰＴＡ－４４２９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４．１（ＰＴＡ－４５５６）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１７７．３（ＰＴＡ－４５５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１６．１（ＰＴＡ－４３５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２２．３（ＰＴＡ－４３５８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８．３（ＰＴＡ－４３５９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４０．２（ＰＴＡ－４３６０）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４８．３（ＰＴＡ－４３６１）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４９．１（ＰＴＡ－４３６２）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２０９．３（ＰＴＡ－４３６５）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２１９．３（ＰＴＡ－４３６６）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１（ＰＴＡ－４３６７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１（ＰＴＡ－４３６８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１（ＰＴＡ－４３６３）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１（ＰＴＡ－４３８８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３（ＰＴＡ－４３８９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２９２．３（ＰＴＡ－４３９０）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１（ＰＴＡ－４３９１）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１（ＰＴＡ－４６５２）、およびＡｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１．（ＰＴＡ－４６５３）からなる群から選択される、ハイブリドーマ細胞株。

（項目８９）

項目１～３４のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび薬学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定剤を含む、組成物。

（項目９０）

抗腫瘍剤、免疫刺激剤、免疫調節剤、またはそれらの組み合わせをさらに含む、項目８９に記載の組成物。

（項目９１）

前記抗腫瘍剤が、細胞傷害性薬剤、腫瘍血管新生に作用する薬剤、またはそれらの組み合

わせである、項目９０に記載の組成物。
（項目９２）
前記免疫調節剤が、α－インターフェロン、γ－インターフェロン、腫瘍壊死因子－αまたはそれらの組み合わせである、項目９０に記載の組成物。
（項目９３）
前記免疫刺激剤が、インターロイキン－２、免疫刺激オリゴヌクレオチド、またはそれらの組み合わせである、項目９０に記載の組成物。
（項目９４）
項目１～３４のいずれかの１項に記載の、２つ以上の抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび薬学的に受容可能キャリア、賦形剤、または安定剤の組み合わせを含む、組成物。
（項目９５）
抗腫瘍剤、免疫刺激剤、免疫調節剤、またはそれらの組み合わせをさらに含む、項目９４に記載の組成物。
（項目９６）
前記抗腫瘍剤が、細胞傷害性薬剤、腫瘍血管新生に作用する薬剤、またはそれらの組み合わせである、項目９５に記載の組成物。
（項目９７）
前記免疫調節剤が、α－インターフェロン、γ－インターフェロン、腫瘍壊死因子－αまたはそれらの組み合わせである、項目９５に記載の組成物。
（項目９８）
前記免疫刺激剤が、インターロイキン－２、免疫刺激オリゴヌクレオチド、またはそれらの組み合わせである、項目９５に記載の組成物。
（項目９９）
標識に結合された、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１００）
項目９９に記載の単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記標識が、蛍光標識、酵素標識、放射性標識、核磁気共鳴活性標識、発光標識、および発色団標識からなる群から選択される、単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１０１）
項目９９に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび薬学的に受容可能キャリア、賦形剤、または安定剤を含む、組成物。
（項目１０２）
項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントが、約1×10^{-9}Ｍ未満の結合親和性で細胞表面ＰＳＭＡおよび／またはｒｓＰＳＭＡに特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１０３）
前記結合親和性が約1×10^{-10}Ｍ未満である、項目１０２に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１０４）
前記結合親和性が約1×10^{-11}Ｍ未満である、項目１０３に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１０５）
前記結合親和性が約5×10^{-10}Ｍより小さい、項目１０２に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１０６）
少なくとも１つの治療的部分と結合した、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１０７）
項目１０６に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、約１×１０$^{-10}$Ｍより小さいＩＣ$_{50}$で、該抗体またはその抗原結合性フラグメントがＰＳＭＡ発現細胞の特異的細胞殺傷を媒介する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１０８）
前記ＩＣ$_{50}$が約１×１０$^{-11}$Ｍより小さい、項目１０７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１０９）
前記ＩＣ$_{50}$が約１×１０$^{-12}$Ｍより小さい、項目１０８に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１１０）
前記ＩＣ$_{50}$が約１．５×１０$^{-11}$Ｍより小さい、項目１０７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１１１）
前記治療的部分が薬剤である、項目１０６に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１１２）
前記治療的部分が複製選択性ウイルスである、項目１０６に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１１３）
前記薬剤が細胞傷害性の薬剤である、項目１１１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１１４）
項目１１３に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記細胞傷害性薬剤が、カリケアマイシン（ｃａｌｉｃｈｅａｍｉｃｉｎ）、エスペラマイシン（ｅｓｐｅｒａｍｉｃｉｎ）、メトトレキサート、ドキソルビシン、メルファラン、クロラムブシル、ＡＲＡ－Ｃ、ビンデシン、マイトマイシン　Ｃ、シスプラチン、エトポシド、ブレオマイシン、５－フルオロウラシル、エストラスチン、ビンクリスチン、エトポシド、ドキソルビシン、パクリタキセル、ドセタキセル、ドラスタチン（ｄｏｌａｓｔａｔｉｎ）１０、アウリスタチンＥ（ａｕｒｉｓｔａｔｉｎ　Ｅ）およびアウリスタチンＰＨＥ、からなる群から選択される、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１１５）
前記治療的部分が毒素またはそのフラグメントである、項目１０６に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１１６）
前記治療的部分が酵素またはそのフラグメントである、項目１０６に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１１７）
前記治療的部分が免疫刺激剤または免疫調節剤である、項目１０６に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１１８）
項目１１７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記免疫刺激剤または免疫調節剤が、サイトカイン、ケモカインおよびアジュバンドからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１１９）
項目１０６に記載の抗体または抗原結合性フラグメントと、薬学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定剤と、を含む組成物。
（項目１２０）
放射性同位体に結合された、項目１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグ

メント。
（項目１２１）
項目１２０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記放射性同位体がα放射線を放射する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１２２）
項目１２０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記放射性同位体がβ放射線を放射する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１２３）
項目１２０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記放射性同位体がγ放射線を放射する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１２４）
項目１２０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記放射性同位体が、^{225}Ａｃ、^{211}Ａｔ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{186}Ｒｈ、^{188}Ｒｈ、^{177}Ｌｕ、^{90}Ｙ、^{131}Ｉ、^{67}Ｃｕ、^{125}Ｉ、^{123}Ｉ、^{77}Ｂｒ、^{153}Ｓｍ、^{166}Ｈｏ、^{64}Ｃｕ、^{212}Ｐｂ、^{224}Ｒａおよび^{223}Ｒａからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１２５）
項目１２０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントと、薬学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定剤と、を含む組成物。
（項目１２６）
診断、予後またはモニタリングのために前立腺癌を検出するためのキットであって、
項目９９に記載の単離され標識された抗体またはその抗原結合性フラグメント、および該標識を検出するための１つ以上の化合物、を含む、キット。
（項目１２７）
項目１２６に記載のキットであって、前記標識は、蛍光標識、酵素標識、放射性標識、核磁気共鳴活性標識、発光標識、および発色団標識からなる群から選択される、キット。
（項目１２８）
凍結乾燥形態でパッケージされた、項目１、９９、１０６または１２０のうちのいずれかに記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１２９）
水性媒体中にパッケージされた、項目１、９９、１０６または１２０のうちのいずれかに記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１３０）
前立腺特異膜抗原（ＰＳＭＡ）上のエピトープに特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、ＰＳＭＡ ３．７、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９、ＰＳＭＡ ３．１１、ＰＳＭＡ ５．４、ＰＳＭＡ ７．１、ＰＳＭＡ ７．３、ＰＳＭＡ １０．３、ＰＳＭＡ １．８．３、ＰＳＭＡ Ｂ３．１．３、ＰＳＭＡ Ｂ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３６０．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１７７．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１６．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４０．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４９．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２０９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２１９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２９２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１、ならびに
（ａ）配列番号２～７として示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖と
（ｂ）配列番号８～１３として示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と

を含む抗体からなる群から選択される抗体によって定義される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１３１）

項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＰＳＭＡ　３．７、ＰＳＭＡ　３．８、ＰＳＭＡ　３．９、ＰＳＭＡ　３．１１、ＰＳＭＡ　５．４、ＰＳＭＡ　７．１、ＰＳＭＡ　７．３、ＰＳＭＡ　１０．３、ＰＳＭＡ　１．８．３、ＰＳＭＡ　Ｂ３．１．３、ＰＳＭＡ　Ｂ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３６０．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１７７．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１６．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４０．２、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４９．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２０９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２１９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３３３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．５４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１５３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２３２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２９２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３０４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１５２．１およびその抗原結合性フラグメントからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１３２）

項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントが、

（ａ）配列番号２～７として示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列の重鎖コード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖と、

（ｂ）配列番号８～１３として示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列の軽鎖コード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖と

を含む抗体、およびその抗原結合性フラグメントからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１３３）

前立腺特異膜抗原上のエピトープに特異的に結合する単離された抗体であって、該抗体は、項目１３２に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列と少なくとも約９０％同一であるヌクレオチド配列を含む核酸分子によってコードされる、抗体。

（項目１３４）

項目１３３に記載の単離された抗体であって、該抗体は、少なくとも約９５％同一であるヌクレオチド配列を含む核酸分子によってコードされる、抗体。

（項目１３５）

項目１３３に記載の単離された抗体であって、該抗体は、少なくとも約９７％同一であるヌクレオチド配列を含む核酸分子によってコードされる、抗体。

（項目１３６）

項目１３３に記載の単離された抗体であって、該抗体は、少なくとも約９８％同一であるヌクレオチド配列を含む核酸分子によってコードされる、抗体。

（項目１３７）

項目１３３に記載の単離された抗体であって、該抗体は、少なくとも約９９％同一であるヌクレオチド配列を含む核酸分子によってコードされる、抗体。

（項目１３８）

項目１３２に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、

（ａ）配列番号１４、１８、２２、２６および３０として示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる重鎖可変領域、および

（ｂ）配列番号１６、２０、２４、２８および３２として示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列のコード領域を含む核酸分子によってコードされる軽鎖可変領域、

を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目１３９）
項目１３２に記載の単離された抗体の抗原結合性フラグメントであって、
（ａ）配列番号１５、１９、２３、２７および３１として示されるアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および
（ｂ）配列番号１７、２１、２５、２９および３３として示されるヌクレオチド配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域、
を含む、抗原結合性フラグメント。
（項目１４０）
項目１３８または項目１３９に記載の抗原結合性フラグメントのＣＤＲを含む、単離された抗原結合性フラグメント。
（項目１４１）
ＣＤＲがＣＤＲ３である、項目１４０に記載の単離された抗原結合性フラグメント。
（項目１４２）
項目１３０～１３８のうちのいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントをコードする、単離された核酸分子を含む発現ベクター。
（項目１４３）
項目１４２に記載の発現ベクターによって形質転換またはトランスフェクトされた、宿主細胞。
（項目１４４）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントは、生細胞に結合する能力について選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１４５）
項目１４４に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記細胞が腫瘍細胞である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１４６）
項目１４５に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記腫瘍細胞が前立腺腫瘍細胞である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１４７）
項目１４６に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記腫瘍細胞がＬＮＣａＰ細胞である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１４８）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＰＳＭＡを発現している細胞の細胞溶解を媒介する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１４９）
ＰＳＭＡを発現している細胞の細胞溶解がエフェクター細胞によって媒介される、項目１４８に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１５０）
ＰＳＭＡを発現している細胞の細胞溶解が、エフェクター細胞の存在下で補体媒介される、項目１４８に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１５１）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＰＳＭＡを発現している細胞の増殖を抑制する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１５２）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ＰＳＭＡ上のエピトープに結合するために細胞溶解を必要としない、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目１５３）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＡｓｅｃ、ＩｇＤ、ＩｇＥからなる群から選択されるか、またはＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＡｓｅｃ、ＩｇＡもしくはＩｇＥの免疫グロブリン定常ドメインおよび／または免疫グロブリン可変ドメインを有する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１５４）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体が組み換え抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１５５）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体がポリクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１５６）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体がモノクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１５７）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体はヒト化された抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１５８）
項目１５７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体はモノクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１５９）
項目１５７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体はポリクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６０）
項目１５７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体は、モノクローナル抗体および／またはポリクローナル抗体の混合物である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６１）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体はキメラ抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６２）
項目１６１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体はモノクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６３）
項目１６１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体はポリクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６４）
項目１６１に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体は、モノクローナル抗体および／またはポリクローナル抗体の混合物である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６５）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体はヒト抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６６）
項目１６５に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体はモノクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６７）
項目１６５に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体

はポリクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６８）
項目１６５に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体は、モノクローナル抗体および／またはポリクローナル抗体の混合物である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６９）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体は、二重特異的抗体または多重特異的抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１７０）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該単離された抗原結合性フラグメントは、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ’）２フラグメント、およびＦｖフラグメントＣＤＲ３からなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１７１）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体は、ＰＳＭＡ　３．７（ＰＴＡ－３２５７）、ＰＳＭＡ　３．８、ＰＳＭＡ　３．９（ＰＴＡ－３２５８）、ＰＳＭＡ　３．１１（ＰＴＡ－３２６９）、ＰＳＭＡ　５．４（ＰＴＡ－３２６８）、ＰＳＭＡ　７．１（ＰＴＡ－３２９２）、ＰＳＭＡ　７．３（ＰＴＡ－３２９３）、ＰＳＭＡ　１０．３（ＰＴＡ－３２４７）、ＰＳＭＡ　１．８．３（ＰＴＡ－３９０６）、ＰＳＭＡ　Ｂ３．１．３（ＰＴＡ－３９０４）、ＰＳＭＡ　Ｂ３．３．１（ＰＴＡ－３９０５）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２４８．２（ＰＴＡ－４４２７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３６０．３（ＰＴＡ－４４２８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７．１（ＰＴＡ－４４２９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４．１（ＰＴＡ－４５５６）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１７７．３（ＰＴＡ－４５５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１６．１（ＰＴＡ－４３５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２２．３（ＰＴＡ－４３５８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８．３（ＰＴＡ－４３５９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４０．２（ＰＴＡ－４３６０）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４８．３（ＰＴＡ－４３６１）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４９．１（ＰＴＡ－４３６２）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２０９．３（ＰＴＡ－４３６５）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２１９．３（ＰＴＡ－４３６６）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８８．１（ＰＴＡ－４３６７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３３３．１（ＰＴＡ－４３６８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．５４．１（ＰＴＡ－４３６３）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１５３．１（ＰＴＡ－４３８８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２３２．３（ＰＴＡ－４３８９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２９２．３（ＰＴＡ－４３９０）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３０４．１（ＰＴＡ－４３９１）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７８．１（ＰＴＡ－４６５２）、およびＡｂｇｅｎｉｘ　４．１５２．１．（ＰＴＡ－４６５３）からなる群から選択されるハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１７２）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントは、コンフォメーショナルエピトープに結合する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１７３）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントは、前記前立腺特異的膜抗原を有する細胞中に内部移行されている、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１７４）
ＰＳＭＡ　３．７、ＰＳＭＡ　３．８、ＰＳＭＡ　３．９、ＰＳＭＡ３．１１、ＰＳＭＡ　５．４、ＰＳＭＡ　７．１、ＰＳＭＡ　７．３、ＰＳＭＡ　１０．３、ＰＳＭＡ　１．８．３、ＰＳＭＡ　Ｂ３．１．３、ＰＳＭＡ　Ｂ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３６０．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７．１、Ａｂｇｅｎｉ

ｘ４．４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１７７．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１６．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４０．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４９．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２０９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２１９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２９２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１およびＡｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１からなる群から選択される抗体を産生する、ハイブリドーマ細胞株。

（項目１７５）

項目１７４に記載のハイブリドーマ細胞株であって、該ハイブリドーマ細胞株は、ＰＳＭＡ ３．７（ＰＴＡ－３２５７）、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９（ＰＴＡ－３２５８）、ＰＳＭＡ ３．１１（ＰＴＡ－３２６９）、ＰＳＭＡ ５．４（ＰＴＡ－３２６８）、ＰＳＭＡ ７．１（ＰＴＡ－３２９２）、ＰＳＭＡ ７．３（ＰＴＡ－３２９３）、ＰＳＭＡ １０．３（ＰＴＡ－３２４７）、ＰＳＭＡ １．８．３（ＰＴＡ－３９０６）、ＰＳＭＡ Ｂ３．１．３（ＰＴＡ－３９０４）、ＰＳＭＡ Ｂ３．３．１（ＰＴＡ－３９０５）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２４８．２（ＰＴＡ－４４２７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３６０．３（ＰＴＡ－４４２８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７．１（ＰＴＡ－４４２９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４．１（ＰＴＡ－４５５６）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１７７．３（ＰＴＡ－４５５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１６．１（ＰＴＡ－４３５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２２．３（ＰＴＡ－４３５８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８．３（ＰＴＡ－４３５９）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４０．２（ＰＴＡ－４３６０）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４８．３（ＰＴＡ－４３６１）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４９．１（ＰＴＡ－４３６２）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２０９．３（ＰＴＡ－４３６５）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２１９．３（ＰＴＡ－４３６６）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１（ＰＴＡ－４３６７）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１（ＰＴＡ－４３６８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１（ＰＴＡ－４３６３）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１（ＰＴＡ－４３８８）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３（ＰＴＡ－４３８９）、Ａｂｇｅｎｉｘ４．２９２．３（ＰＴＡ－４３９０）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１（ＰＴＡ－４３９１）、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１（ＰＴＡ－４６５２）、およびＡｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１．（ＰＴＡ－４６５３）からなる群から選択される、ハイブリドーマ細胞株。

（項目１７６）

項目１３０～１４１のうちのいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントと、薬学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定剤と、を含む組成物。

（項目１７７）

項目１７６に記載の組成物であって、抗腫瘍剤、免疫刺激剤、免疫調節剤、またはそれらの組み合わせをさらに含む、組成物。

（項目１７８）

項目１７７に記載の組成物であって、前記抗腫瘍剤が、細胞傷害性薬剤であるか、腫瘍新生血管系に対して作用する薬剤であるか、またはそれらの組み合わせである、組成物。

（項目１７９）

項目１７７に記載の組成物であって、前記免疫調節剤が、α－インターフェロン、γ－インターフェロン、腫瘍壊死因子－αまたはそれらの組み合わせである、組成物。

（項目１８０）

項目１７７に記載の組成物であって、前記免疫刺激剤が、インターロイキン－２、免疫刺激オリゴヌクレオチド、またはそれらの組み合わせである、組成物。

（項目１８１）

２つ以上の項目１３０～１４１のいずれかの１項に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントの組み合わせと、薬学的に受容可能キャリア、賦形剤、または安定剤と、を含む組成物。

（項目１８２）

項目１８１に記載の組成物であって、抗腫瘍剤、免疫刺激剤、免疫調節剤、またはそれらの組み合わせをさらに含む、組成物。
（項目１８３）
項目１８２に記載の組成物であって、前記抗腫瘍剤が、細胞傷害性薬剤であるか、腫瘍新生血管系に対して作用する薬剤であるか、またはそれらの組み合わせである、組成物。
（項目１８４）
項目１８２に記載の組成物であって、前記免疫調節剤が、α－インターフェロン、γ－インターフェロン、腫瘍壊死因子－αまたはそれらの組み合わせである、組成物。
（項目１８５）
項目１８２に記載の組成物であって、前記免疫刺激剤が、インターロイキン－２、免疫刺激オリゴヌクレオチド、またはそれらの組み合わせである、組成物。
（項目１８６）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、標識に結合する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１８７）
項目１８６に記載の単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記標識が、蛍光標識、酵素標識、放射性標識、核磁気共鳴活性標識、発光性標識、および発色団標識からなる群から選択される、単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１８８）
以下：
項目１８６に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび薬学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定剤、
を含む組成物。
（項目１８９）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、該抗体またはその抗原結合性フラグメントが、約１Ｘ１０$^{-9}$Ｍ以下の結合親和性で細胞表面ＰＳＭＡおよび／またはｒｓＰＳＭＡに特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１９０）
項目１８９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記結合親和性が約１Ｘ１０$^{-10}$Ｍ未満である、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１９１）
項目１８９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記結合親和性が約１Ｘ１０$^{-11}$Ｍ以下である、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１９２）
項目１８９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記結合親和性が約５Ｘ１０$^{-10}$Ｍ未満である、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１９３）
少なくとも１つの治療的部分と結合される、項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１９４）
項目１９３に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、該抗体またはその抗原結合性フラグメントが、約１Ｘ１０$^{-10}$Ｍ未満のＩＣ$_{50}$でＰＳＭＡ発現細胞の特異的細胞殺傷を媒介する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１９５）
項目１９４に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記ＩＣ

IC_{50}が約$1X10^{-11}$M未満である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１９６）
項目１９５に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記IC_{50}が約$1X10^{-12}$M未満である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１９７）
項目１９４に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記IC_{50}が約$1.5x10^{-11}$M未満である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１９８）
項目１９３に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記治療的部分が薬物である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１９９）
項目１９３に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記治療的部分が複製選択的ウイルスである、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２００）
項目１９８に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記薬剤が細胞傷害性薬剤である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２０１）
項目２００に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記細胞傷害性薬剤が、以下：カリケアマイシン、エスペラマイシン、メトトレキサート、ドキソルビシン、メルファラン、クロラムブシル、ＡＲＡ－Ｃ、ビンデシン、マイトマイシンＣ、シスプラチンム、エトポシド、ブレオマイシン、５－フルオラウラシル、エストラスチン、ビンクリスチン、エトポシド、ドキソルビシン、バクリタキセル、ドセタキセル、ドラスタチン１０、アウリスタチンＥおよびアウリスタチンＰＨＥ、からなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２０２）
項目１９３に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記治療的部分が毒素またはそのフラグメントである、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２０３）
項目１９３に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記治療的部分が酵素またはそのフラグメントである、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２０４）
項目１９３に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記治療的部分が免疫刺激剤または免疫調節剤である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２０５）
項目２０４に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記免疫刺激剤または免疫調節剤が、以下：サイトカイン、ケモカインおよびアジュバントからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２０６）
以下：
項目１９３に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび薬学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定剤
を含む組成物。
（項目２０７）
放射性同位体に結合される、項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２０８）
項目２０７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記放射性同位体がα線を放射する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２０９）
項目２０７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記放射

性同位体がβ線を放射する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２１０）
項目２０７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記放射性同位体がγ放射線を放射する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２１１）
項目２０７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであり、前記放射性同位体が^{225}Ａｃ、^{211}Ａｔ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{186}Ｒｈ、^{188}Ｒｈ、^{177}Ｌｕ、^{90}Ｙ、^{131}Ｉ、^{67}Ｃｕ、^{125}Ｉ、^{123}Ｉ、^{77}Ｂｒ、^{153}Ｓｍ、^{166}Ｈｏ、^{64}Ｃｕ、^{212}Ｐｂ、^{224}Ｒａおよび^{223}Ｒａからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２１２）
項目２０７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび薬学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定化剤を含む組成物。
（項目２１３）
診断、予後またはモニタリングのために前立腺癌を検出するためのキットであり、以下：
項目１８６に記載の単離され標識された抗体またはその抗原結合性フラグメント、および該標識を検出するための１つ以上の化合物、
を含む、キット。
（項目２１４）
項目２１３に記載のキットであり、前記標識は蛍光標識、酵素標識、放射性標識、核磁気共鳴活性標識、発光標識、および発色団標識からなる群から選択される、キット。
（項目２１５）
凍結乾燥形態でパッケージされる項目１３０、１８６、１９３または２０７に記載のうちのいずれかである、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２１６）
水性培地中でパッケージされる、項目１３０、１８６、１９３または２０７のいずれか１項に記載の、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目２１７）
サンプル中のＰＳＭＡの存在、またはＰＳＭＡを発現する細胞を検出するための方法であり、以下：
抗体またはその抗原結合性フラグメントとＰＳＭＡとの間の複合体の形成を可能にするのに十分な時間、該サンプルと、項目１または１３０に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントとを接触させる工程、および
該ＰＳＭＡ－抗体複合体または該ＰＳＭＡ－抗原結合性フラグメント複合体を検出する工程、
を包含し、ここで、該サンプル中の複合体の存在が、ＰＳＭＡまたはＰＳＭＡを発現する細胞のサンプル中の存在を示す、方法。
（項目２１８）
被験体におけるＰＳＭＡ媒介疾患を診断するための方法であり、以下：
ＰＳＭＡ媒介疾患を有すると疑われるか、または以前にＰＳＭＡ媒介疾患に罹患すると診断された被験体に、単独量の項目１または１３０に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与する工程、
該抗体またはその抗原結合性フラグメントとＰＳＭＡとの間での複合体形成を可能にする工程、
前記標的エピトープとの該ＰＳＭＡ－抗体複合体または該ＰＳＭＡ－抗原結合性フラグメント複合体の形成を検出する工程、
を包含し、ここで、ＰＳＭＡ媒介疾患を有すると疑われるか、または以前にＰＳＭＡ媒介疾患に罹患すると診断された被験体における複合体の存在が、ＰＳＭＡ媒介疾患の存在を示す、方法。
（項目２１９）

項目２１８に記載の方法であり、前記ＰＳＭＡ媒介疾患が前立腺癌である、方法。
（項目２２０）
項目２１８に記載の方法であり、前記ＰＳＭＡ媒介疾患が非前立腺癌である、方法。
（項目２２１）
項目２２０に記載の方法であり、前記非前立腺癌が、移行細胞癌腫を含む膀胱癌；膵管癌腫を含む膵臓癌；非小細胞肺癌腫を含む肺癌；通常腎細胞癌腫を含む腎臓癌；軟部組織肉腫を含む肉腫；乳癌腫を含む乳癌；多形グリア芽腫を含む脳癌；神経内分泌性癌；結腸癌腫を含む結腸癌；精巣胎生期癌腫を含む精巣癌；および悪性黒色腫を含む黒色腫からなる群から選択される、方法。
（項目２２２）
項目２１７または項目２１８に記載の方法であり、前記抗体または前記抗原結合性フラグメントが標識される、方法。
（項目２２３）
項目２１７または項目２１８に記載の方法であり、第２抗体が、前記第１抗体またはその抗原結合性フラグメントを検出するために投与される、方法。
（項目２２４）
ＰＳＭＡ媒介疾患に罹患する被験体の予後を評価するための方法であり：
ＰＳＭＡ媒介疾患を有すると疑われるか、または以前にＰＳＭＡ媒介疾患に罹患すると診断された被験体に、有効量の項目１または１３０に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与する工程、
該抗体またはその抗原結合性フラグメントとＰＳＭＡとの間での複合体形成を可能にする工程、
標的エピトープとの該複合体の形成を検出する工程、
を包含し、ここで、ＰＳＭＡ媒介疾患を有すると疑われるか、または以前にＰＳＭＡ媒介疾患に罹患すると診断された被験体における該複合体の量が、予後を示す、方法。
（項目２２５）
ＰＳＭＡ媒介疾患に罹患する被験体の処置の効果を評価する方法であり、以下：
ＰＳＭＡ媒介疾患を有すると疑われる被験体に、有効量の項目１または１３０に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与する工程；
該抗体またはその抗原結合性フラグメントとＰＳＭＡとの間での複合体形成を可能にする工程、
標的エピトープとの該複合体の形成を検出する工程、
を包含し、ここで、ＰＳＭＡ媒介疾患を有すると疑われるか、または以前にＰＳＭＡ媒介疾患に罹患すると診断された被験体における該複合体の量が、処置の有効性を示す、方法。
（項目２２６）
項目２２４または項目２２５に記載の方法であり、前記ＰＳＭＡ媒介疾患が前立腺癌である、方法。
（項目２２７）
項目２２４または項目２２５に記載の方法であり、前記ＰＳＭＡ媒介疾患が非前立腺癌である、方法。
（項目２２８）
項目２２７に記載の方法であり、前記非前立腺癌が、移行細胞癌腫を含む膀胱癌；膵管癌腫を含む膵臓癌；非小細胞肺癌腫を含む肺癌；通常腎細胞癌腫を含む腎臓癌；軟部組織肉腫を含む肉腫；乳癌腫を含む乳癌；多形グリア芽腫を含む脳癌；神経内分泌性癌；結腸癌腫を含む結腸癌；精巣胎生期癌を含む精巣癌；および悪性黒色腫を含む黒色腫からなる群から選択される、方法。
（項目２２９）
項目２２４または項目２２５に記載の方法であり、前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが標識される、方法。

（項目２３０）
項目２２４または項目２２５に記載の方法であり、第２抗体が第１抗体またはその抗原結合性フラグメントを検出するために投与される、方法。
（項目２３１）
ＰＳＭＡを発現する細胞の増殖を阻害する方法であり、以下：
ＰＳＭＡを発現する細胞と、該ＰＳＭＡを発現する細胞の増殖を抑制するために有効な量のＰＳＭＡの細胞外ドメインに特異的に結合する項目１または１３０に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントとを接触させる工程、
を包含する、方法。
（項目２３２）
ＰＳＭＡを発現する細胞溶解を誘導する方法であり、以下：
ＰＳＭＡを発現する細胞と、該ＰＳＭＡを発現する細胞の細胞溶解を誘導するために有効な量のＰＳＭＡの細胞外ドメインに特異的に結合する項目１または１３０に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントとを接触させる工程、
を包含する、方法。
（項目２３３）
項目２３２に記載の方法で、前記細胞溶解がエフェクター細胞の存在下で生じる、方法。
（項目２３４）
項目２３２に記載の方法で、前記細胞溶解が補完媒介される、方法。
（項目２３５）
ＰＳＭＡ媒介疾患を処置または防止する方法であり、以下：
ＰＳＭＡ媒介疾患を有するか、またはＰＳＭＡ媒介疾患を有する危険性のある被験体に、項目１または１３０に記載の有効量の抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与して、ＰＳＭＡ媒介疾患を処置または予防する工程
を包含する、方法。
（項目２３６）
項目２３５に記載の方法であり、前記ＰＳＭＡ媒介疾患が癌である、方法。
（項目２３７）
項目２３６に記載の方法であり、前記癌が前立腺癌である、方法。
（項目２３８）
項目２３６に記載の方法であり、前記癌が非前立腺癌である、方法。
（項目２３９）
ＰＳＭＡ媒介疾患を処置または予防する方法であり、以下：
ＰＳＭＡ媒介疾患を有するか、またはＰＳＭＡ媒介疾患を有する危険性のある被験体に、ＰＳＭＡ媒介疾患を処置または予防するために有効な量の項目１または１３０に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与する工程、
を包含する、方法。
（項目２４０）
項目２３９に記載の方法であり、前記ＰＳＭＡ媒介疾患が、癌である、方法。
（項目２４１）
項目２４０に記載の方法であり、前記癌が、前立腺癌である、方法。
（項目２４２）
項目２４０に記載の方法であり、前記癌が、非前立腺癌である、方法。
（項目２４３）
項目２４２に記載の方法であり、前記非前立腺癌が、移行細胞癌腫を含む膀胱癌；膵管癌腫を含む膵臓癌；非小細胞肺癌腫を含む肺癌；通常腎細胞癌腫を含む腎臓癌；軟部組織肉腫を含む肉腫；乳癌腫を含む乳癌；多形グリア芽腫を含む脳癌；神経内分泌性癌；結腸癌腫を含む結腸癌；精巣胎生期癌腫を含む精巣癌；および悪性黒色腫を含む黒色腫からなる群から選択される、方法。
（項目２４４）

前記抗体またはその抗原結合性フラグメントの投与の前、その間またはその後の任意の時において、別の治療薬剤を投与して、前記ＰＳＭＡ媒介疾患を処置または予防する工程をさらに包含する、項目２３９に記載の方法。

（項目２４５）

項目２４４に記載の方法であり、前記治療薬剤がワクチンである、方法。

（項目２４６）

項目２４５に記載の方法であり、前記ワクチンが、ＰＳＭＡに対して前記被験体を免疫する、方法。

（項目２４７）

項目２４４に記載の方法であり、前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、少なくとも１つの治療的部分に結合される、方法。

（項目２４８）

項目２４７に記載の方法であり、前記治療的部分が細胞傷害性薬剤、腫瘍新生血管に対して作用する薬物、およびそれらの組み合わせである、方法。

（項目２４９）

項目２４８に記載の方法であり、前記細胞傷害性薬剤が、以下：カリケアマイシン、エスペラマイシン、メトトレキサート、ドキソルビシン、メルファラン、クロラムブシル、ＡＲＡ－Ｃ、ビンデシン、マイトマイシン　Ｃ、シスプラチン、エトポシド、ブレオマイシン、５－フルオラウラシル、エストラムスチン、ビンクリスチン、エトポシド、ドキソルビシン、パクリタキセル、ドセタキセル、ドラスタチン１０、アウリスタチンＥおよびアウリスタチンＰＨＥ、からなる群から選択される、方法。

（項目２５０）

項目２４７に記載の方法であり、前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが放射性同位体に結合され、ここで、該放射性同位体によって放射される放射線がα線、β線およびγ線からなる群から選択される、方法。

（項目２５１）

項目２５０に記載の方法であり、前記放射性同位体が、^{225}Ａｃ、^{211}Ａｔ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{186}Ｒｈ、^{188}Ｒｈ、^{177}Ｌｕ、^{90}Ｙ、^{131}Ｉ、^{67}Ｃｕ、^{125}Ｉ、^{123}Ｉ、^{77}Ｂｒ、^{153}Ｓｍ、^{166}Ｈｏ、^{64}Ｃｕ、^{212}Ｐｂ、^{224}Ｒａおよび^{223}Ｒａからなる群から選択される、方法。

（項目２５２）

フォレートヒドロラーゼ活性を阻害する方法であり、以下：

前記単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントが該フォレートヒドロラーゼ活性を阻害する条件下で、フォレートヒドロラーゼポリペプチドと、項目１または項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントの量とを、接触させる工程、

を包含する、方法。

（項目２５３）

項目２５２に記載の方法であり、前記フォレートヒドロラーゼポリペプチドが単離される、方法。

（項目２５４）

項目２５２に記載の方法であり、前記フォレートヒドロラーゼポリペプチドが、細胞、細胞ホモジネート、組織、または組織ホモジネートからなる群から選択されるサンプル中に含まれる、方法。

（項目２５５）

項目２５２に記載の方法であり、前記フォレートヒドロラーゼポリペプチドが、生物中に含まれる、方法。

（項目２５６）

項目２５５に記載される方法であり、前記生物が動物である、方法。

（項目２５７）

項目２５６に記載される方法であり、前記動物が哺乳動物である、方法。
（項目２５８）
フォレートヒドロラーゼ活性を増強するための方法であり、以下：
フォレートヒドロラーゼポリペプチドと、項目１または項目１３０に記載の、一定量の単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントとを、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントがフォレートヒドロラーゼ活性を増強する条件下で接触させる工程
を包含する、方法。
（項目２５９）
項目２５８に記載の方法で、前記フォレートヒドロラーゼポリペプチドが単離される、方法。
（項目２６０）
項目２５８に記載の方法で、前記フォレートヒドロラーゼポリペプチドが細胞、細胞ホモジネート、組織、または組織ホモジネートからなる群から選択されるサンプル中に含まれる、方法。
（項目２６１）
項目２５８に記載の方法で、前記フォレートヒドロラーゼポリペプチドが生物中に含まれる、方法。
（項目２６２）
項目２６１に記載の方法で、前記生物が動物である、方法。
（項目２６３）
項目２６２に記載の方法で、前記動物が哺乳動物である、方法。
（項目２６４）
Ｎアセチル化α連結酸性ジペプチダーゼ（ＮＡＡＬＡＤａｓｅ）活性を抑制する方法であり、
項目１または項目１３０に記載の単離された前記抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントがＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性を抑制する条件下で、ＮＡＡＬＡＤａｓｅポリペプチドと、該一定量の単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントを接触させる工程を包含する、方法。
（項目２６５）
項目２６４に記載の方法で、前記ＮＡＡＬＡＤａｓｅポリペプチドが単離された、方法。
（項目２６６）
項目２６４に記載の方法で、前記ＮＡＡＬＡＤａｓｅポリペプチドが細胞、細胞ホモジネート、組織、または組織ホモジネートからなる群から選択されるサンプル中に含まれる、方法。
（項目２６７）
項目２６４に記載の方法で、前記ＮＡＡＬＡＤａｓｅポリペプチドが生物中に含まれる、方法。
（項目２６８）
項目２６７に記載の方法で、前記生物が動物である、方法。
（項目２６９）
項目２６８に記載の方法で、前記動物が哺乳動物である、方法。
（項目２７０）
Ｎアセチル化α連結酸性ジペプチダーゼ（ＮＡＡＬＡＤａｓｅ）活性を増強する方法であり、以下：
項目１または項目１３０に記載の、単離された前記抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントがＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性を増強する条件下で、ＮＡＡＬＡＤａｓｅポリペプチドと、一定量の、該単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントを接触させる工程
を包含する、方法。

（項目２７１）
項目２７０に記載の方法で、前記ＮＡＡＬＡＤａｓｅポリペプチドが単離された、方法。
（項目２７２）
項目２７０に記載の方法で、前記ＮＡＡＬＡＤａｓｅポリペプチドが細胞、細胞ホモジネート、組織、または組織ホモジネートからなる群から選択されるサンプル中に含まれる、方法。
（項目２７３）
項目２７０に記載の方法で、前記ＮＡＡＬＡＤａｓｅポリペプチドが生物中に含まれる、方法。
（項目２７４）
項目２７３に記載の方法で、前記生物が動物である、方法。
（項目２７５）
項目２７４に記載の方法で、前記動物が哺乳動物である、方法。
（項目２７６）
ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性を抑制する方法であり、
項目１または項目１３０に記載の、単離された前記抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントがジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性を抑制する条件下で、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶポリペプチドと、一定量の、該単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントを接触させる工程
を包含する、方法。
（項目２７７）
項目２７６に記載の方法で、前記ジペプチジルジペプチダーゼＩＶポリペプチドが単離された、方法。
（項目２７８）
項目２７６に記載の方法で、前記ジペプチジルジペプチダーゼＩＶポリペプチドが細胞、細胞ホモジネート、組織、または組織ホモジネートからなる群から選択されるサンプル中に含まれる、方法。
（項目２７９）
項目２７６に記載の方法で、前記ジペプチジルジペプチダーゼＩＶポリペプチドが生物中に含まれる、方法。
（項目２８０）
項目２７９に記載の方法で、前記生物が動物である、方法。
（項目２８１）
項目２８０に記載の方法で、前記動物が哺乳動物である、方法。
（項目２８２）
ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性を阻害する方法であり、
項目１または項目１３０に記載の、単離された前記抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントがジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性を増強する条件下で、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶポリペプチドと、一定量の、該単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントを接触させる工程
を包含する、方法。
（項目２８３）
項目２８２に記載の方法で、前記ジペプチジルジペプチダーゼＩＶポリペプチドが単離された、方法。
（項目２８４）
項目２８２に記載の方法で、前記ジペプチジルジペプチダーゼＩＶポリペプチドが細胞、細胞ホモジネート、組織、または組織ホモジネートからなる群から選択されるサンプル中に含まれる、方法。
（項目２８５）
項目２８２に記載の方法で、前記ジペプチジルジペプチダーゼＩＶポリペプチドが生物中

に含まれる、方法。
（項目２８６）
項目２８５に記載の方法で、前記生物が動物である、方法。
（項目２８７）
項目２８６に記載の方法で、前記動物が哺乳動物である、方法。
（項目２８８）
γ－グルタミル加水分解酵素活性を抑制する方法であり、
項目１または項目１３０に記載の、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントがγ－グルタミル加水分解酵素活性を阻害する条件下で、γ－グルタミル加水分解酵素ポリペプチドと、一定量の、該単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントを接触させる工程
を包含する、方法。
（項目２８９）
項目２８８に記載の方法で、前記γ－グルタミル加水分解酵素ポリペプチドが単離された、方法。
（項目２９０）
項目２８８に記載の方法で、前記γ－グルタミル加水分解酵素ポリペプチドが細胞、細胞ホモジネート、組織、または組織ホモジネートからなる群から選択されるサンプル中に含まれる、方法。
（項目２９１）
項目２８８に記載の方法で、前記γ－グルタミル加水分解酵素ポリペプチドが生物中に含まれる、方法。
（項目２９２）
項目２９１に記載の方法で、前記生物が動物である、方法。
（項目２９３）
項目２９２に記載の方法で、前記動物が哺乳動物である、方法。
（項目２９４）
γ－グルタミル加水分解酵素活性を増強する方法であり、
項目１または項目１３０に記載の、単離された前記抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントがγ－グルタミル加水分解酵素活性を阻害する条件下で、γ－グルタミル加水分解酵素ポリペプチドと、一定量の、該単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントを接触させる工程
を包含する、方法。
（項目２９５）
項目２９４に記載の方法で、前記γ－グルタミル加水分解酵素ポリペプチドが単離された、方法。
（項目２９６）
項目２９４に記載の方法で、前記γ－グルタミル加水分解酵素ポリペプチドが細胞、細胞ホモジネート、組織、または組織ホモジネートからなる群から選択されるサンプル中に含まれる、方法。
（項目２９７）
項目２９４に記載の方法で、前記γ－グルタミル加水分解酵素ポリペプチドが生物中に含まれる、方法。
（項目２９８）
項目２９７に記載の方法で、前記生物が動物である、方法。
（項目２９９）
項目２９８に記載の方法で、前記動物が哺乳動物である、方法。
（項目３００）
少なくとも１つの治療薬剤のＰＳＭＡ発現細胞への特異的送達の方法であり、以下：
少なくとも１つの治療薬剤と結合した、項目１または１３０に記載の、有効量の抗体ま

たはそれらの抗原結合性フラグメントを投与する工程
を包含する、方法。
（項目３０１）
項目３００に記載の方法で、前記治療薬剤が核酸分子である、方法。
（項目３０２）
項目３００に記載の方法で、前記治療薬剤が抗腫瘍剤である、方法。
（項目３０３）
項目３０２に記載の方法で、前記抗腫瘍剤が、細胞傷害性薬剤、腫瘍で新生血管系を活発化させる薬剤、またはそれらの組み合わせである、方法。
（項目３０４）
項目３０３に記載の方法で、前記細胞傷害性薬剤が、カリケアマイシン、エスペラマイシン、メトトレキサート、ドキソルビシン、メルファラン、クロラムブシル、ＡＲＡ－Ｃ、ビンデシン、マイトマイシン　Ｃ、シスプラチン、エトポシド、ブレオマイシン、５－フルオラウラシル、エストラスチン、ビンクリスチン、エトポシド、ドキソルビシン、パクリタキセル、ドセタキセル、ドラスタチン１０、アウリスタチンＥおよびアウリスタチンＰＨＥ、からなる群から選択される、方法。
（項目３０５）
項目３００に記載の方法で、前記治療的部分が毒素またはフラグメントである、方法。
（項目３０６）
項目３００に記載の方法で、前記治療的部分が酵素またはフラグメントである、方法。
（項目３０７）
項目３００に記載の方法で、前記治療的部分が複製選択性ウイルス
ある、方法。
（項目３０８）
項目３００に記載の方法で、前記治療的部分が免疫刺激剤または免疫調節剤である、方法。
（項目３０９）
項目３０８に記載の方法で、前記免疫刺激剤または免疫調節剤が、以下：サイトカイン、ケモカインおよびアジュバントからなる群から選択される、方法。
（項目３１０）
ＰＳＭＡタンパク質マルチマーと選択的に結合する単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。
（項目３１１）
項目３１０に記載の、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、前記ＰＳＭＡタンパク質マルチマーがダイマーである、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。
（項目３１２）
項目３１１に記載の、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、前記マルチマーを形成するＰＳＭＡタンパク質のうちの少なくとも１つが組み換えの可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ）ポリペプチドである、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。
（項目３１３）
項目３１２に記載の、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、前記ｒｓＰＳＭＡポリペプチドが本質的に配列番号１のアミノ酸４４～７５０からなる、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。
（項目３１４）
ＰＳＭＡタンパク質マルチマーと選択的に結合する、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、該単離された抗体が少なくとも１つのＰＳＭＡタンパク質マルチマーの酵素活性を阻害する、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。
（項目３１５）

項目３１４に記載の、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、前記酵素活性がフォレートヒドロラーゼ活性、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性、γ－グルタミル加水分解酵素活性およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。

（項目３１６）

項目３１４に記載の、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、前記酵素活性がＰＳＭＡ分子の細胞外ドメインに存在する、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。

（項目３１７）

項目３１４に記載の、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、該抗体または該抗原結合性フラグメントがＰＳＭＡの細胞外ドメインに特異的に結合する、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。

（項目３１８）

ＰＳＭＡタンパク質マルチマーと特異的に結合する、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、該単離された抗体が少なくとも１つのＰＳＭＡタンパク質マルチマーの酵素活性を増強する、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。

（項目３１９）

項目３１８に記載の、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、前記酵素活性が、フォレートヒドロラーゼ活性、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性、γ－グルタミル加水分解酵素活性およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。

（項目３２０）

項目３１８に記載の、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、前記酵素活性がＰＳＭＡ分子の細胞外ドメインに存在する、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。

（項目３２１）

項目３１８に記載の、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントであり、該抗体またはそれらの抗原結合性フラグメントが特異的にＰＳＭＡの細胞外ドメインに結合する、抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。

（項目３２２）

項目３１０～３２１のいずれかに記載の単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント、および免疫調節性オリゴヌクレオチドを含む組成物。

（項目３２３）

項目３１０～３２１のいずれかに記載の単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント、およびサイトカインを含む組成物。

（項目３２４）

項目３２３に記載の、組成物で、前記サイトカインがＩＬ－２、ＩＬ－１２、ＩＬ－１８およびＧＭ－ＣＳＦからなる群から選択される、組成物。

（項目３２５）

項目３２２～３２４のいずれかに記載の組成物であり、さらに薬学的に受容可能なキャリアを含む、組成物。

（項目３２６）

免疫応答を誘導する方法であり、そのような処置を必要とする被験体に、項目３１０～３２５のいずれかに記載の、単離された抗体または組成物の有効量を投与する工程を包含する、方法。

（項目３２７）

選択的にＰＳＭＡタンパク質マルチマーと結合しそして少なくとも１つのＰＳＭＡの酵素活性を阻害する、単離された抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント。

（項目３２８）

項目３２７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記酵

素は、ヒドロラーゼおよびペプチダーゼからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３２９）

項目３２８に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記ヒドロラーゼは、フォレートヒドロラーゼおよびγ－グルタミルヒドロラーゼからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３３０）

項目３２９に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記ヒドロラーゼは、フォレートヒドロラーゼであり、そして該抗体は、ｍＡｂ５．４またはｍＡｂ３．９である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３３１）

項目３２８に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記ペプチダーゼは、ＮＡＡＬＡＤａｓｅおよびジペプチジルジペプチダーゼＩＶからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３３２）

項目３２７に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記酵素は、癌細胞において活性であり、かつ癌細胞においてよりも正常細胞においてより少ない活性を有するか、または正常細胞において活性を有さない、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３３３）

項目３３２に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記癌細胞は、前立腺癌細胞である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３３４）

選択的にＰＳＭＡタンパク質マルチマーに結合し、そして少なくとも１つのＰＳＭＡ酵素活性を増強する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３３５）

項目３３４に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記酵素は、ヒドロラーゼおよびペプチダーゼからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３３６）

項目３３５に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記ヒドロラーゼは、フォレートヒドロラーゼおよびγ－グルタミルヒドロラーゼからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３３７）

項目３３５に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記ペプチダーゼは、ＮＡＡＬＡＤａｓｅおよびジペプチジルジペプチダーゼＩＶからなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３３８）

項目３３４に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記酵素は、正常細胞において活性であり、かつ正常細胞においてよりも癌細胞においてより少ない活性を有するか、または癌細胞において活性を有さない、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３３９）

項目３３８に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、前記癌細胞は、前立腺癌細胞である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３４０）

選択的にＰＳＭＡタンパク質マルチマーに結合する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該単離された抗体は、動物のＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む調製物での免疫によって惹起される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

（項目３４１）

項目３２７～３４０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメント、および薬学的に受容可能なキャリアを含む組成物。
（項目３４２）
単離されたＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む組成物。
（項目３４３）
項目３４２に記載の組成物であって、前記ＰＳＭＡタンパク質マルチマーはダイマーである、組成物。
（項目３４４）
項目３４２に記載の組成物であって、該組成物は、少なくとも約１０％のＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む、組成物。
（項目３４５）
項目３４４に記載の組成物であって、該組成物は、少なくとも約２０％のＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む、組成物。
（項目３４６）
項目３４５に記載の組成物であって、該組成物は、少なくとも約３０％のＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む、組成物。
（項目３４７）
項目３４６に記載の組成物であって、該組成物は、少なくとも約４０％のＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む、組成物。
（項目３４８）
項目３４７に記載の組成物であって、該組成物は、少なくとも約５０％のＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む、組成物。
（項目３４９）
項目３４８に記載の組成物であって、該組成物は、少なくとも約７５％のＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む、組成物。
（項目３５０）
項目３４９に記載の組成物であって、該組成物は、少なくとも約９０％のＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む、組成物。
（項目３５１）
項目３５０に記載の組成物であって、該組成物は、少なくとも約９５％のＰＳＭＡタンパク質マルチマーを含む、組成物。
（項目３５２）
項目３４２に記載の組成物であって、前記ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、非共有結合的に会合するＰＳＭＡタンパク質を含む、組成物。
（項目３５３）
項目３５２に記載の組成物であって、前記ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、非変性条件下で非共有結合的に会合する、組成物。
（項目３５４）
項目３４２～３５３のうちのいずれかに記載の組成物であって、マルチマーを形成するＰＳＭＡタンパク質のうちの少なくとも１つは、組み換え可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ）ポリペプチドである、組成物。
（項目３５５）
項目３４２に記載の組成物であって、前記ＰＳＭＡタンパク質は、特異的にＰＳＭＡを認識するコンフォメーション特異的抗体と反応性を有する、組成物。
（項目３５６）
項目３４２に記載の組成物であって、前記ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、ネイティブなコンフォメーションのＰＳＭＡタンパク質を含む、組成物。
（項目３５７）
項目３４２に記載の組成物であって、前記ＰＳＭＡマルチマーは、酵素的に活性である、組成物。

（項目３５８）
項目３５７に記載の組成物であって、前記酵素活性は、ヒドロラーゼ活性、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性、γ－グルタミルヒドロラーゼ活性およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、組成物。
（項目３５９）
項目３４２～３５８のうちのいずれかに記載の組成物であって、さらにアジュバントを含む、組成物。
（項目３６０）
項目３４２～３５８のうちのいずれかに記載の組成物であって、さらにサイトカインを含む、組成物。
（項目３６１）
項目３６０に記載の組成物であって、前記サイトカインは、ＩＬ－２、ＩＬ－１２、ＩＬ－１８およびＧＭ－ＣＳＦからなる群から選択される、組成物。
（項目３６２）
項目３４２～３６１のうちのいずれかに記載の組成物であって、さらに薬学的に受容可能なキャリアを含む、組成物。
（項目３６３）
被験体に、そのような処置の必要に応じて、有効量の項目３４２～３６２のうちのいずれかに記載の組成物を投与する工程を包含する、免疫応答を誘導するための方法。
（項目３６４）
単離された組み換え可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ）タンパク質マルチマー。
（項目３６５）
単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマー。
（項目３６６）
項目３６５に記載の単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマーであって、該ダイマーは、非共有結合的に会合するｒｓＰＳＭＡタンパク質を含む、単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマー。
（項目３６７）
項目３６６に記載の単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマーであって、該ｒｓＰＳＭＡタンパク質は、非変性条件下で非共有結合的に会合する、単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマー。
（項目３６８）
項目３６５に記載の単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマーであって、該単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマーは、特異的にＰＳＭＡを認識するコンフォメーション特異的抗体と反応性を有する、単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマー。
（項目３６９）
項目３６５に記載の、単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマーであって、該単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマーは、酵素的に活性である、単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマー。
（項目３７０）
項目３６９に記載の単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマーであって、前記酵素活性は、フォレートヒドロラーゼ活性、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性、γ－グルタミルヒドロラーゼ活性およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、単離されたｒｓＰＳＭＡタンパク質のダイマー。
（項目３７１）
ＰＳＭＡの酵素の少なくとも１つの酵素活性を阻害する候補薬剤をスクリーニングする方法であって、以下：
ａ）該候補薬剤と単離されたＰＳＭＡタンパク質マルチマーを混合して、反応混合物を形成する工程、引き続いて
ｂ）該ＰＳＭＡのための基質を該反応混合物に添加する工程、および

ｃ）該ＰＳＭＡ酵素による該基質から形成される産物の量を決定する工程であって、ここで対照と比較して、該形成された産物の量における減少は、該ＰＳＭＡ酵素の少なくとも１つの酵素活性を阻害することができる薬剤を示す、
方法。
（項目３７２）
項目３７１に記載のスクリーニング方法であって、前記ＰＳＭＡ酵素が、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ、フォレートヒドロラーゼ、ジペプジルジペプチダーゼＩＶおよびγ－グルタミルヒドロラーゼからなる群から選択される、方法。
（項目３７３）
項目３７１に記載のスクリーニング方法であって、前記ＰＳＭＡマルチマーは、組み換え可溶性ＰＳＭＡを含む、方法。
（項目３７４）
項目３７１に記載のスクリーニング方法であって、前記候補薬剤は、抗体、低分子有機化合物、またはペプチドからなる群から選択される、方法。
（項目３７５）
項目３７１に記載の方法によって同定されるＰＳＭＡの少なくとも１つの酵素活性を阻害する候補薬剤。
（項目３７６）
項目３７５に記載の候補薬剤であって、該薬剤は、コンビナトリアル抗体ライブラリー、コンビナトリアルタンパク質ライブラリー、または低有機分子ライブラリーから選択される、候補薬剤。
（項目３７７）
ＰＳＭＡの酵素の少なくとも１つの酵素活性を増強する候補薬剤をスクリーニングする方法であって、以下：
ａ）該候補薬剤と単離されたＰＳＭＡタンパク質マルチマーを混合して、反応混合物を形成する工程、引き続いて
ｂ）該ＰＳＭＡのための基質を該反応混合物に添加する工程、および
ｃ）該ＰＳＭＡ酵素による該基質から形成される産物の量を決定する工程であって、ここで対照と比較して、該形成された産物の量における増加は、該ＰＳＭＡ酵素の少なくとも１つの酵素活性を増強することができる薬剤を示す、
方法。
（項目３７８）
項目３７７に記載のスクリーニング方法であって、該ＰＳＭＡ酵素は、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ、フォレートヒドロラーゼ、ジペプジルジペプチダーゼＩＶおよびγ－グルタミルヒドロラーゼからなる群から選択される、方法。
（項目３７９）
項目３７７に記載のスクリーニング方法であって、該ＰＳＭＡマルチマーが、組み換え可溶性ＰＳＭＡを含む、方法。
（項目３８０）
項目３７７に記載のスクリーニング方法であって、該候補薬剤が、抗体、低分子有機化合物、またはペプチドからなる群から選択される、方法。
（項目３８１）
項目３７７に記載の方法によって同定されるＰＳＭＡの少なくとも１つの酵素活性を増強する候補薬剤。
（項目３８２）
項目３８１に記載の候補薬剤であって、該薬剤は、コンビナトリアル抗体ライブラリー、コンビナトリアルタンパク質ライブラリー、または低有機分子ライブラリーから選択される、候補薬剤。
（項目３８３）
ＰＳＭＡダイマーの解離を促進する化合物を同定する方法であって、以下：

該化合物の非存在下で該ＰＳＭＡダイマーの解離を促進させない条件下で、ＰＳＭＡダイマーと化合物を接触させる工程；
ＰＳＭＡモノマーの量を測定する工程；および
該化合物の存在下で測定されるＰＳＭＡモノマーの量と該化合物の非存在下で観察される量とを比較する工程；
を包含し、ここで該化合物の存在下で測定されるＰＳＭＡモノマーの量の増加は、該化合物が、ＰＳＭＡダイマーの解離を促進することができることを示す、
方法。
（項目３８４）
ＰＳＭＡダイマーの解離を促進する化合物を同定するための方法であって、以下：
該化合物の非存在下で該ＰＳＭＡダイマーの解離を促進させない条件下で、ＰＳＭＡダイマーと化合物を接触させる工程；
ＰＳＭＡダイマーの量を測定する工程；および
該化合物の存在下で測定されるＰＳＭＡダイマーの量と該化合物の非存在下で観察される量とを比較する工程；
を包含し、ここで該化合物の存在下で測定されるＰＳＭＡダイマーの量の増加は、該化合物が、ＰＳＭＡダイマーの解離を促進することができることを示す、
方法。
（項目３８５）
ＰＳＭＡダイマーの解離を促進する化合物を同定するための方法であって、以下：
該化合物の非存在下で該ＰＳＭＡダイマーの解離を促進させない条件下で、該ＰＳＭＡダイマーと化合物を接触させる工程；
ＰＳＭＡモノマーおよび該ＰＳＭＡダイマーの量を測定する工程；
該ＰＳＭＡモノマー　対　該ＰＳＭＡダイマーの比を計算する工程；および
該化合物の存在下で観察される比と該化合物の非存在下で観察される比とを比較する工程；
を包含し、ここで該化合物の存在下で測定される比の増加は、該化合物が、ＰＳＭＡダイマーの解離を促進することができることを示す、
方法。

【図面の簡単な説明】

【００７３】
【図１】図１は、フローサイトメトリーにより決定されたｍＡｂのＰＳＭＡ反応性を示す。抗ＰＳＭＡｍＡｂ（３．７、３．９、３．１１、３．１２、５．４、および１０．３）を、親３Ｔ３細胞（黒線で示す）または細胞表面ＰＳＭＡを発現するように設計した３Ｔ３細胞（３Ｔ３－ＰＳＭＡ；灰色線）のどちらかと共にインキュベートした。
【図２】図２は、ｍＡｂによるＰＳＭＡの免疫沈降のデジタル画像を示す。３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞または親３Ｔ３細胞由来の溶解産物を、それぞれｍＡｂと共にインキュベートし、それからタンパク質Ａ／Ｇアガロースビーズを使用して沈降させた。洗浄の後、タンパク質をポリアクリルアミドゲル上で分離し、ニトロセルロース膜上にブロットし、そしてＭＡＢ５４４抗ＰＳＭＡｍＡｂを使用して可視化した。
【図３】図３は、ＰＳＭＡコンフォメーションを認識する幾つかのＰＳＭＡ抗体による、非変性ＰＳＭＡの認識を示す。
【図４】図４は、２つのＰＳＭＡ抗体による変性ＰＳＭＡの認識を示すウェスタンブロットのデジタル画像であり、そしてＰＳＭＡコンフォメーションを認識する抗体は、変性ＰＳＭＡを認識しないことを示す。
【図５】図５は、ポリアクリルアミドゲルのデジタル画像であり、還元および非還元のＳＤＳ－ＰＡＧＥによる、精製された組換え体（可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ））、および３Ｔ３細胞由来の全長ＰＳＭＡ（３Ｔ３　ＰＳＭＡ）またはＬＳＣａＰ細胞（ＬＮＣａＰ　ＰＳＭＡ）の分析を示す。
【図６】図６は、ポリアクリルアミドゲルのデジタル画像であり、精製された組換え体（

可溶性ＰＳＭＡ（精製ｒｓＰＳＭＡ））、および３Ｔ３細胞由来の全長ＰＳＭＡ（３Ｔ３　ＰＳＭＡ）またはＬＳＣａＰ細胞（ＬＮＣａＰ　ＰＳＭＡ）の、Ｂｌｕｅ　Ｎａｔｉｖｅ　ＰＡＧＥ分析を示す。

【図７】図７は、フォレートヒドロラーゼの酵素活性に対する４つの抗体（ｍＡｂ３．９、ｍＡｂ５．４、ｍＡｂ７．３およびｍＡｂＪ５９１）の効果を、０．０００２μｇのｒｓＰＳＭＡ＃７中に存在するフォレートヒドロラーゼによる、メトトレキサート２－γグルタメートからのグルタメートの開裂比率の測定を通して、示す。

【図８】図８は、フォレートヒドロラーゼの酵素活性に対する４つの抗体（ｍＡｂ３．９、ｍＡｂ５．４、ｍＡｂ７．３およびｍＡｂＪ５９１）の効果を、０．０００２μｇのｒｓＰＳＭＡ＃８中に存在するフォレートヒドロラーゼによる、メトトレキサート２－γグルタメートからのグルタメートの開裂比率の測定を通して、示す。

【図９】図９は、フォレートヒドロラーゼの酵素活性に対する４つの抗体（ｍＡｂ３．９、ｍＡｂ５．４、ｍＡｂ７．３およびｍＡｂＪ５９１）の効果を、Ｃ４－２細胞溶解産物中に存在するフォレートヒドロラーゼによる、メトトレキサート２－γグルタメートからのグルタメートの開裂比率の測定を通して、示す。

【図１０】図１０は、ｐｃＤＮＡ内へのＩｇＧ１抗体クローニングのためのクローニングプロトコールを描く。

【図１１】図１１は、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６の重鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図１２】図１２は、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６の重鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図１３】図１３は、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１の重鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図１４】図１４は、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９の重鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図１５】図１５は、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７の重鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図１６】図１６は、抗体ＰＳＭＡ　１０．３の重鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図１７】図１７は、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６の軽鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図１８】図１８は、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６の軽鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図１９】図１９は、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１の軽鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図２０】図２０は、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９の軽鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図２１】図２１は、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７の軽鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図２２】図２２は、抗体ＰＳＭＡ　１０．３の軽鎖をコードする核酸分子のプラスミドマップを、提供する。

【図２３】図２３は、ＬＮＣａＰ標的細胞における^{225}Ａｃ－３．９の細胞傷害性を描く。

【図２４】図２４は、抗ＰＳＭＡモノクローナル抗体ＸＧ－００６、ＸＧ－０５１、４．４０．１、４．４９．１、４．２９２．１および４．３０４．１を、親３Ｔ３細胞（黒の棒グラフ）または細胞表面ヒトＰＳＭＡを発現するように設計された３Ｔ３細胞（灰色の棒グラフ）のいずれかと共にインキュベートし、フローサイトメトリーによって分析した、抗ＰＳＭＡモノクローナル抗体の反応性を図示する。

【図２５Ａ】図２５は、抗ＰＳＭＡ　Ａｂの結合を図示する。図２５Ａは、抗ＰＳＭＡ　Ａｂは３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞に結合するが３Ｔ３細胞には結合しないことを示す。少なく

とも１０回の測定から代表的な１実験を、示す。
【図２５Ｂ】図２５は、抗ＰＳＭＡ　Ａｂの結合を図示する。図２５Ｂは、抗ＰＳＭＡｍＡｂ含有の培養上清の連続の希釈物を使用した、細胞表面ＰＳＭＡへの結合が、起こったことを図示する。５回の測定から代表的な１実験を、示す。
【図２５Ｃ】図２５は、抗ＰＳＭＡ　Ａｂの結合を図示する。図２５Ｃは、精製された抗ＰＳＭＡｍＡｂ、ＸＧ－００６および１０．３の連続の希釈物を使用した、細胞表面ＰＳＭＡへの結合を図示する。代表的な１実験を示す。
【図２６】図２６は、Ｃ４－２前立腺癌細胞上のマウス抗ＰＳＭＡ抗体の、免疫毒細胞傷害性を図示する。コントロール抗体としてのＳＪ２５Ｃ－１は、マウス抗ＣＤ１９ＩｇＧである。５．４、３．９、およびｍＪ５９１抗体のＬＤ５０（Ｍ）は、それぞれ２．２７×１０$^{-11}$、２．２９×１０$^{-11}$、および８．８２×１０$^{-11}$であった。
【図２７】図２７は、ＰＳＭＡ－３Ｔ３細胞上のマウス抗ＰＳＭＡ抗体の、免疫毒細胞傷害性を図示する。コントロール抗体としてのＳＪ２５Ｃ－１は、マウス抗ＣＤ１９ＩｇＧである。５．４、３．９、およびｍＪ５９１抗体のＬＤ５０（Ｍ）は、それぞれ１．６４×１０$^{-11}$、１．９６×１０$^{-11}$、および８．９０×１０$^{-11}$であった。
【図２８】図２８は、ＰＳＭＡ－３Ｔ３上のサポリン（ｓａｐｏｒｉｎ）と直接結合するヒト４．３０４抗ＰＳＭＡ抗体の細胞傷害性を提供する。サポリンと直接結合した４．３０４抗ＰＳＭＡ抗体のＬＤ５０は、１．４８×１０$^{-11}$であった。
【図２９】図２９は、Ｉｎ－１１１放射線標識された４．４０および４．３０４抗ＰＳＭＡ抗体との競合に使用された、未改変の４．３０４、４．４０、ｍＪ５９１抗ＰＳＭＡ抗体の競合アッセイの結果を、図示する。
【図３０】図３０は、Ｉｎ－１１１放射線標識されたｍＪ５９１抗ＰＳＭＡ抗体との競合に使用された、未改変の４．３０４、ｍＪ５９１抗ＰＳＭＡ抗体の競合アッセイの結果を、図示する。
【図３１】図３１は、１００ｎＭから６．２５ｎＭまでの異なったｒｓＰＳＭＡ濃度での、結合期および解離期における、ＰＲＧＸ１－ＸＧ－００６抗体の分析を示す。
【図３２】図３２は、Ｂｉａｃｏｒｅ分析を使用して行った、完全なヒト抗ＰＳＭＡ抗体４．４０．１、４．４９．１、０５１および００６ならびにマウス抗ＰＳＭＡ抗体３．９の比較の結果を示す。
【図３３】図３３は、Ｉｎ－１１１標識抗ＰＳＭＡ抗体３．９を使用した、ＰＳＭＡ－３Ｔ３、ＬＮＣａＰおよびＣ４－２細胞株の、スキャッチャード分析の結果を提供する。
【図３４】図３４は、前立腺癌細胞上のＡｃ－２２５標識ヒト抗ＰＳＭＡ抗体４．４０のインビトロ細胞傷害性を示す。
【図３５】図３５は、Ｌｕ－１７７標識ヒト抗ＰＳＭＡ抗体によるインビボ放射線免疫療法の結果を示す。
【図３６】図３６は、抗ＰＳＭＡ抗血清のＰＳＭＡ－３Ｔ３細胞への結合のフローサイトメトリデータを示す一連のグラフである。ｒｓＰＳＭＡダイマー調製物によって免疫されたマウス由来の抗血清（ＡＢＩＭ１５１、ＡＢＩＭ１５２、ＡＢＩＭ１５３、ＡＢＩＭ１５４およびＡＢＩＭ１５５）は、ＰＳＭＡ発現細胞への強い結合を示す。ｒｓＰＳＭＡモノマー調製物によって免疫されたマウス由来の抗血清（ＡＢＩＭ１５６、ＡＢＩＭ１５７、ＡＢＩＭ１５８、ＡＢＩＭ１５９およびＡＢＩＭ１６０）は、ＰＳＭＡ発現細胞への僅かな結合を示すかまたは全く結合を示さない。
【発明を実施するための形態】
【００７４】
（発明の詳細な記載）
本発明は、ＰＳＭＡの細胞外ドメイン上のコンフォメーショナルエピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメント、このような１つの抗体もしくはその抗原結合性フラグメントまたはこれらの組み合わせを含む組成物、抗体を産生するハイブリドーマ細胞株、および癌の診断または処置のために抗体またはその抗原結合性フラグメントを使用する方法を提供する。

【００７５】
前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）は、前立腺組織において発現する１００ｋＤのＩＩ型膜糖タンパク質であり、そして初めは７Ｅ１１－Ｃ５と命名されるモノクローナル抗体との反応性によって同定された（Ｈｏｒｏｓｚｅｗｉｃｚら（１９８７）Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．７：９２７－９３５；米国特許第５，１６２，５０４号）。ＰＳＭＡは、精製された形状で得られ（Ｗｒｉｇｈｔら（１９９０）Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｉｍｍｕｎｏｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ ａｎｄ Ｒａｄｉｏ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ ３：Ａｂｓｔｒａｃｔ １９３）、そしてトランスフェリンレセプターと同一の配列を有し（Ｉｓｒａｅｌｉら（１９９４）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５４：１８０７－１８１１）、かつＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性を有する（Ｃａｒｔｅｒら（１９９６）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９３：７４９－７５３）、ＩＩ型膜貫通タンパク質として特徴付けられた。より重要には、ＰＳＭＡは、前立腺癌において増加した量で発現され、そして高められたＰＳＭＡレベルはまた、これらの患者の血清において検出可能である（Ｈｏｒｏｓｚｅｗｉｃｚら（１９８７）；Ｒｏｃｈｏｎら（１９９４）Ｐｒｏｓｔａｔｅ ２５：２１９－２２３；Ｍｕｒｐｈｙら（１９９５）Ｐｒｏｓｔａｔｅ ２６：１６４－１６８；およびＭｕｒｐｈｙら（１９９５）Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１５：１４７３－１４７９）。ＰＳＭＡ発現は、疾患の進行と共に増加し、転移において最高になり、現存する治療法のないホルモン治療抵抗性疾患となる。刺激的な最近のデータは、ＰＳＭＡが、膀胱、膵臓、肉腫、黒色腫、肺、および腎臓の腫瘍細胞を含む種々の他の重要な腫瘍の新生血管においても豊富に発現するが、正常な新生血管においては発現しないことを示す。

【００７６】
本発明の一局面は、ＰＳＭＡの細胞外ドメインに特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントを提供し、ここで、この抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ＰＳＭＡ上の標的エピトープへの第二抗体の特異的結合を競合的に阻害し、そしてこの第二抗体は、以下からなる群より選択される：ＰＳＭＡ ３．７、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９、ＰＳＭＡ ３．１１、ＰＳＭＡ ５．４、ＰＳＭＡ ７．１、ＰＳＭＡ ７．３、ＰＳＭＡ １０．３、ＰＳＭＡ １．８．３、ＰＳＭＡ Ａ３．１．３、ＰＳＭＡ Ａ３．３．１、４．２４８．２、４．３６０．３、４．７．１、４．４．１、４．１７７．３、４．１６．１、４．２２．３、４．２８．３、４．４０．２、４．４８．３、４．４９．１、４．２０９．３、４．２１９．３、４．２８８．１、４．３３３．１、４．５４．１、４．１５３．１、４．２３２．３、４．２９２．３、４．３０４．１、４．７８．１、および４．１５２．１。

【００７７】
本発明の別の局面は、以下からなる群より選択される抗体により定義されるＰＳＭＡ上のエピトープに特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントを提供する：ＰＳＭＡ ３．７、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９、ＰＳＭＡ ３．１１、ＰＳＭＡ ５．４、ＰＳＭＡ ７．１、ＰＳＭＡ ７．３、ＰＳＭＡ １０．３、ＰＳＭＡ １．８．３、ＰＳＭＡ Ａ３．１．３、ＰＳＭＡ Ａ３．３．１、４．２４８．２、４．３６０．３、４．７．１、４．４．１、４．１７７．３、４．１６．１、４．２２．３、４．２８．３、４．４０．２、４．４８．３、４．４９．１、４．２０９．３、４．２１９．３、４．２８８．１、４．３３３．１、４．５４．１、４．１５３．１、４．２３２．３、４．２９２．３、４．３０４．１、４．７８．１、および４．１５２．１。

【００７８】
特定の実施形態において、これらの抗体は、本明細書中に以下のように参照されるハイブリドーマによって産生される：それぞれ、ＰＳＭＡ ３．７、ＰＳＭＡ ３．８、ＰＳＭＡ ３．９、ＰＳＭＡ ３．１１、ＰＳＭＡ ５．４、ＰＳＭＡ ７．１、ＰＳＭＡ ７．３、ＰＳＭＡ １０．３、ＰＳＭＡ １．８．３、ＰＳＭＡ Ａ３．１．３、ＰＳＭＡ Ａ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３６０．３

、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１７７．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１６．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４０．２、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４８．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．４９．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２０９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２１９．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２８８．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３３３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．５４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．１５３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２３２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．２９２．３、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．３０４．１、Ａｂｇｅｎｉｘ ４．７８．１、およびＡｂｇｅｎｉｘ ４．１５２．１。これらのハイブリドーマは、国際寄託当局であるＡＴＣＣに寄託され、以下の特許寄託指定を与えられた（表１）：

【００７９】

【表１－１】

表1

抗体	ハイブリドーマ／プラスミド	特許寄託指定	寄託日
PSMA 3.7	PSMA 3.7	PTA-3257	2001年4月5日
PSMA 3.9	PSMA 3.9	PTA-3258	2001年4月5日
PSMA 3.11	PSMA 3.11	PTA-3269	2001年4月10日
PSMA 5.4	PSMA 5.4	PTA-3268	2001年4月10日
PSMA 7.1	PSMA 7.1	PTA-3292	2001年4月18日
PSMA 7.3	PSMA 7.3	PTA-3293	2001年4月18日
PSMA 10.3	PSMA 10.3	PTA-3347	2001年5月1日
	pcDNA内のPSMA 10．3HC（配列番号7）	PTA-4413	2002年5月29日
	pcDNA内のPSMA 10．3κ（配列番号13）	PTA-4414	2002年5月29日
PSMA 1.8.3	PSMA 1.8.3	PTA-3906	2001年12月5日
PSMA A3.1.3	PSMA A3.1.3	PTA-3904	2001年12月5日

【００８０】

【表１－２】

PSMA A3.3.1	PSMA A3.3.1	PTA-3905	2001年12月5日
Abgenix 4.248.2	Abgenix 4.248.2	PTA-4427	2002年6月4日
Abgenix 4.360.3	Abgenix 4.360.3	PTA-4428	2002年6月4日
Abgenix 4.7.1	Abgenix 4.7.1	PTA-4429	2002年6月4日
Abgenix 4.4.1	Abgenix 4.4.1	PTA-4556	2002年6月18日
Abgenix 4.177.3	Abgenix 4.177.3	PTA-4557	2002年6月18日
Abgenix 4.16.1	Abgenix 4.16.1	PTA-4357	2002年5月16日
Abgenix 4.22.3	Abgenix 4.22.3	PTA-4358	2002年5月16日
Abgenix 4.28.3	Abgenix 4.28.3	PTA-4359	2002年5月16日
Abgenix 4.40.2	Abgenix 4.40.2	PTA-4360	2002年5月16日
Abgenix 4.48.3	Abgenix 4.48.3	PTA-4361	2002年5月16日
Abgenix 4.49.1	Abgenix 4.49.1	PTA-4362	2002年5月16日
Abgenix 4.209.3	Abgenix 4.209.3	PTA-4365	2002年5月16日
Abgenix 4.219.3	Abgenix 4.219.3	PTA-4366	2002年5月16日
Abgenix 4.288.1	Abgenix 4.288.1	PTA-4367	2002年5月16日
Abgenix 4.333.1	Abgenix 4.333.1	PTA-4368	2002年5月16日
Abgenix 4.54.1	Abgenix 4.54.1	PTA-4363	2002年5月16日
Abgenix 4.153.1	Abgenix 4.153.1	PTA-4388	2002年5月23日
Abgenix 4.232.3	Abgenix 4.232.3	PTA-4389	2002年5月23日
Abgenix 4.292.3	Abgenix 4.292.3	PTA-4390	2002年5月23日
Abgenix 4.304.1	Abgenix 4.304.1	PTA-4391	2002年5月23日
AB-PG1-XG1-006	AB-PG1-XG1-006 重鎖(配列番号2) AB-PG1-XG1-006 軽鎖(配列番号8)	PTA-4403 PTA-4404	2002年5月29日
AB-PG1-XG1-026	AB-PG1-XG1-026 重鎖(配列番号3) AB-PG1-XG1-026 軽鎖(配列番号9)	PTA-4405 PTA-4406	2002年5月29日
AB-PG1-XG1-051	AB-PG1-XG1-051 重鎖(配列番号4) AB-PG1-XG1-051	PTA-4407 PTA-4408	2002年5月29日

【００８１】

【表１－３】

	軽鎖(配列番号10)		
AB-PG1-XG1-069	AB-PG1-XG1-069 重鎖(配列番号5) AB-PG1-XG1-069 軽鎖(配列番号11)	PTA-4409 PTA-4410	2002年5月29日
AB-PG1-XG1-077	AB-PG1-XG1-077 重鎖(配列番号6) AB-PG1-XG1-077 軽鎖(配列番号12)	PTA-4411 PTA-4412	2002年5月29日

本発明の別の局面において、特定の配列を有する抗体が、提供される。具体的には、この抗体は、以下を含む抗体からなる群より選択される：重鎖コード領域または配列番号２～７に示すヌクレオチド配列からなる群より選択されるヌクレオチド配列領域を含む核酸分子によりコードされる重鎖、および軽鎖コード領域または配列番号８～１３に示すヌクレオチド配列からなる群より選択されるヌクレオチド配列領域を含む核酸分子によりコードされる軽鎖。同様に、上述の抗体の抗原結合性フラグメントも、提供される。

【００８２】

以下の抗体の重鎖および軽鎖をコードするプラスミドも、ＡＴＣＣに寄託された：ＰＳＭＡ１０．３、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７。上の表１に示す。本明細書中で使用される場合、寄託されたハイブリドーマまたはプラスミドの名称は、抗体の名前と交換可能に使用され得る。この名称が抗体を言及することが意図される場合、またはこの名称が抗体をコードするプラスミドもしくは抗体を産生するハイブリドーマを言及する場合、当業者に明らかである。さらに、この抗体名称は、表１で示す短縮形の名称であり得る。例えば、抗体ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６は、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６、ＰＧ１－ＸＧ１－００６、ＸＧ１－００６、００６、などと呼ばれ得る。別の例では、抗体名ＰＳＭＡ　４．２３２．３は、ＰＳＭＡ　４．２３２．１、４．２３２．３、４．２３２．１，４．２３２などと呼ばれ得る。抗体の名称における全てのバリエーションが、同じ抗体を意味し、そして異なった抗体を意味しないことが意図される。

【００８３】

重鎖および軽鎖配列の特定の組によりコードされる抗体も、提供される。一実施形態において、コード領域または配列番号２および配列番号８に示す核酸配列領域を含む核酸分子によりコードされる抗体（ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６）が、提供される。別の実施形態において、抗体（ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６）は、コード領域または配列番号３および配列番号９に示すヌクレオチド配列領域を含む核酸分子によりコードされる。なお別の実施形態において、抗体（ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１）は、コード領域または配列番号４および配列番号１０に示すヌクレオチド配列領域を含む核酸分子によりコードされる。さらに別の実施形態において、抗体（ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９）は、コード領域または配列番号５および配列番号１１に示すヌクレオチド配列領域を含む核酸分子によりコードされる。別の実施形態において、抗体（ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７）は、コード領域または配列番号６および配列番号１２に示すヌクレオチド配列領域を含む核酸分子によりコードされる。なお別の実施形態において、抗体（ＰＳＭＡ　１０．３）は、コード領域または配列番号７および配列番号１３に示すヌクレオチド配列領域を含む核酸分子によりコードされる。

【００８４】
特に好ましい実施形態において、この抗体は、コード領域または配列番号１４、配列番号１８、配列番号２２、配列番号２６および配列番号３０に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列領域を含む核酸分子にコードされる重鎖可変領域、ならびにコード領域または配列番号１６、配列番号２０、配列番号２４、配列番号２８および配列番号３２に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列領域を含む核酸分子にコードされる軽鎖可変領域を含む。本明細書中で使用される場合、「コード領域」は、ポリペプチド配列をコードするヌクレオチド配列領域を言及する；コード領域は、後に開裂するタンパク質の一部分（例えば、シグナルペプチド）をコードする領域を含み得る。

【００８５】
当業者は、本発明が、本明細書中に存在するヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を含む、核酸およびポリペプチドを含むことを理解する。幾つかの例においては、ヌクレオチド配列およびアミノ酸配列は、シグナルペプチドをコードする配列を含み得る。本発明は、シグナルペプチドをコードする配列もしくはシグナルペプチドである配列の一部を有するかまたは有さないこれらそれぞれの配列を含む。

【００８６】
重鎖および軽鎖の可変配列の特定の組を含む抗体も、提供される。一実施形態において、コード領域または配列番号１４および配列番号１６に示す核酸配列領域を含む核酸分子にコードされる免疫グロブリン可変配列を含む抗体（ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６）が、提供される。同様に、この抗体は、免疫グロブリン可変配列を含み得、この可変配列は、配列番号１５および配列番号１７に示すアミノ酸配列を含む。別の実施形態において、抗体（ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６）は、コード領域もしくは配列番号１８および配列番号２０に示すヌクレオチド配列領域を含む核酸分子にコードされる免疫グロブリン可変配列を含むか、または配列番号１９および配列番号２１に示すアミノ酸配列を含む免疫グロブリン可変配列を含む。なお別の実施形態において、抗体（ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１）は、コード領域もしくは配列番号２２および配列番号２４に示すヌクレオチド配列領域を含む核酸分子にコードされる免疫グロブリン可変配列を含むか、または配列番号２３および配列番号２５に示すアミノ酸配列を含む免疫グロブリン可変配列を含む。さらに別の実施形態において、抗体（ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９）は、コード領域もしくは配列番号２６および配列番号２８に示すヌクレオチド配列領域を含む核酸分子にコードされる免疫グロブリン可変配列を含むか、または配列番号２７および配列番号２９に示すアミノ酸配列を含む免疫グロブリン可変配列を含む。別の実施形態において、抗体（ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７）は、コード領域もしくは配列番号３０および配列番号３２に示すヌクレオチド配列領域を含む核酸分子にコードされる免疫グロブリン可変配列を含むか、または配列番号３１および配列番号３３に示すアミノ酸配列を含む免疫グロブリン可変配列を含む。

【００８７】
特定の実施形態において、抗体は上述の核酸分子に対し高度に相同である核酸分子にコードされる。好ましくは、この相同核酸分子としては、本明細書中で提供されるヌクレオチド配列と、少なくとも約９０％同一であるヌクレオチド配列が挙げられる。より好ましくは、このヌクレオチド配列は、本明細書中で提供されるヌクレオチド配列と、少なくとも約９５％同一、少なくとも約９７％同一、少なくとも約９８％同一、または少なくとも約９９％同一である。相同性は、種々の、公に入手可能な、当業者に周知であるソフトウェアツールを使用して、計算され得る。代表的なツールとしては、国立衛生院の国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）のウェブサイトから入手し得るＢＬＡＳＴシステムが挙げられる。

【００８８】
高度に相同なヌクレオチド配列を同定する一方法は、核酸ハイブリダイゼーションによるものである。従って、本発明はまた、ＰＳＭＡ結合特性および本明細書中に記載される

他の機能特性を有する抗体を含み、この抗体は、高ストリンジェンシー条件下で上述の核酸分子とハイブリダイズする核酸分子にコードされる。関連配列の同定は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）および関連核酸配列のクローニングに適した他の増幅技術を使用しても達成され得る。好ましくは、ＰＣＲプライマーは、ＣＤＲのような、目的の核酸配列部分を増幅するために選択される。

【００８９】

本明細書中で使用される場合、用語「高ストリンジェンシー条件」は、よく知られた技術のパラメータを意味する。核酸ハイブリダイゼーションパラメータは、このような方法をまとめた参考文献（例えば、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｊ．Ｓａｍｂｒｏｏｋら，ｅｄｓ．，Ｓｅｃｏｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８９）またはＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌら，ｅｄｓ．，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ）において見出され得る。高ストリンジェンシー条件の一例は、ハイブリダイゼーション緩衝液（３．５×ＳＳＣ、０．０２％ フィコール、０．０２％ ポリビニルピロリドン、０．０２％ ウシ血清アルブミン、２．５ｍＭ NaH_2PO_4（ｐＨ７）、０．５％ ＳＤＳ、２ｍＭ ＥＤＴＡ）における６５℃のハイブリダイゼーションである。ＳＳＣは、０．１５Ｍ 塩化ナトリウム／０．０１５Ｍ クエン酸ナトリウム、ｐＨ７であり；ＳＤＳは、ドデシル硫酸ナトリウムであり；そしてＥＤＴＡは、エチレンジアミン四酢酸である。ハイブリダイゼーションの後、核酸を移した膜を、例えば、２×ＳＳＣにおいて室温で、そしてそれから０．１～０．５×ＳＳＣ／０．１×ＳＳＣにおいて６８℃までの温度で、洗浄する。

【００９０】

他の好ましい実施形態において、抗体は、配列番号１５、配列番号１９、配列番号２３、配列番号２７および配列番号３１に示すアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号１７、配列番号２１、配列番号２５、配列番号２９および配列番号３３に示すヌクレオチド配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。本明細書中の他の場所に記載されているように、上述の抗原結合性フラグメントも提供される。

【００９１】

本明細書中で使用される場合、用語「抗体」は、ジスルフィド結合によって互いに結合する少なくとも２つの重鎖（Ｈ鎖）および２つの軽鎖（Ｌ鎖）を含む糖タンパク質を言及する。それぞれの重鎖は、重鎖可変領域（本明細書中でＨＣＶＲまたはV_Hと略される）および重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は、３つのドメイン、C_H1、C_H2およびC_H3から構成される。それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書中でＬＣＶＲまたはV_Lと略される）および軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、１つのドメイン、ＣＬからなる。V_H領域およびV_L領域は、相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれる超可変的領域と、その所々に挟まれるより保存的な領域（フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる）とにさらに細分され得る。V_HおよびV_Lはそれぞれ、３つのＣＤＲおよび４つのＦＲで構成され、アミノ末端からカルボキシ末端へ以下の順序で配列される：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４。重鎖および軽鎖可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系の種々の細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的成分系の第一成分（Ｃ１ｑ）を含む宿主組織または宿主因子への、免疫グロブリンの結合を媒介し得る。

【００９２】

用語「（抗体の）抗原結合性フラグメント」は、本明細書中で使用される場合、抗原（例えば、ＰＳＭＡ）に特異的に結合する能力を保有する、抗体の１つ以上の部分を意味する。抗体の抗原結合作用は、全長抗体のフラグメントにより実行され得ることが示されている。結合フラグメントの例は、以下を含む用語「（抗体の）抗原結合性フラグメント」

の範囲内に含まれる：（ｉ）Ｆａｂフラグメント（$Ｖ_{Ｌ}$、$Ｖ_{Ｈ}$、$Ｃ_{Ｌ}$および$Ｃ_{Ｈ}$１ドメインからなる１価のフラグメント）；（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_{2}$フラグメント（ヒンジ領域においてジスルフィド結合で結合される２つのＦａｂフラグメントを含む２価のフラグメント）；（ｉｉｉ）$Ｖ_{Ｈ}$およびＣＨ１ドメインからなるＦｄフラグメント；（ｉｖ）抗体の単一の腕の$Ｖ_{Ｌ}$および$Ｖ_{Ｈ}$ドメインからなるＦｖフラグメント；（ｖ）$Ｖ_{Ｈ}$ドメインからなるｄＡｂフラグメント（Ｗａｒｄら，（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ　３４１：５４４－５４６）；および（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）。さらに、Ｆｖフラグメントの２つのドメインＶおよび$Ｖ_{Ｈ}$は、離れた遺伝子によってコードされているが、これらは、組換え技術を使用して、これらを$Ｖ_{Ｌ}$領域および$Ｖ_{Ｈ}$領域の一組が１価の分子を形成するような１つのタンパク質鎖（単一鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として公知である；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）にさせ得る合成リンカーにより、連結され得る。このような単鎖抗体も、用語「（抗体の）抗原結合性フラグメント」に含まれることが意図される。これらの抗体フラグメントは、タンパク分解断片化手順（本明細書中に参考として援用されるＪ．Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ　ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ，ｐｐ９８－１１８（Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ　１９８３）に記載される）および当業者に公知の他の技術のような従来手順を使用して得られる。フラグメントは、インタクトな抗体と同じ様式で有効性について検査される。

【００９３】

「単離された抗体」は、本明細書中で使用される場合、異なった抗原特性を有する他の抗体を本質的に含まない抗体を意味することが意図される（例えば、ＰＳＭＡに特異的に結合する単離された抗体は、ＰＳＭＡ以外の抗原を特異的に結合する抗体を本質的に含まない）。しかし、エピトープ、ＰＳＭＡのアイソフォームまたは改変体に特異的に結合する単離された抗体は、他の関連する抗原（例えば、他の種（例えば、ＰＳＭＡ種ホモログ）由来）に対する交叉反応性を有し得る。さらに、単離された抗体は、本質的に他の細胞物質および／または化学物質を含まなくてもよい。本明細書中で使用される場合、「特異的結合」は、所定の抗原に結合する抗体を言及する。典型的には、抗体は、所定の抗原または近縁抗原以外の非特異抗原（例えば、ＢＳＡ、カゼイン）への結合親和性より、少なくとも２倍強い親和性をもって結合する。

【００９４】

本発明の単離された抗体は、以下のような種々の抗体アイソタイプを含む：ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＡｓｅｃ、ＩｇＤ、ＩｇＥ。本明細書中で使用される場合、「アイソタイプ」は、重鎖定常領域遺伝子によってコードされる抗体クラス（例えば、ＩｇＭまたはＩｇＧ１）を言及する。抗体は、全長であり得るか、あるいはＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＡｓｅｃ、ＩｇＤもしくはＩｇＥの抗体定常領域および／または可変ドメインのような抗原結合性フラグメントのみを含み得るか、あるいはＦａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ’）$_{2}$フラグメント、およびＦｖフラグメントで構成され得る。

【００９５】

本発明の抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、またはポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の混合物であり得る。抗体は、当該分野に周知である種々の技術により生産し得る。ポリクローナル抗体を作製する手順は、周知である。例えば、抗ＰＳＭＡポリクローナル抗体は、最初に免疫前血清を得るために採血したニュージーランド白ウサギに、ＰＳＭＡタンパク質を皮下的に投与することによって作製し得る。ＰＳＭＡを、異なる６ヶ所へ１ヶ所あたり総量１００μｌ、典型的には１つ以上の調整剤と共に投与し得る。それからウサギを、最初の注射から２週間後に採血し、６週間ごとに３回、同じ抗原を定期的に追加投与する。血清のサンプルは、それぞれの追加投与から１０日後に採取する。好ましくはＰＳＭＡを使用したアフィニティクロマトグラフィにより抗体を捕捉して、ポリクローナル抗体を、血清から回収する。ポリクローナル抗体を作製するこ

の手順および他の手順は、Ｅ．Ｈａｒｌｏｗら編，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（１９９８）（本明細書中において参考として援用される）において開示される。

【００９６】

モノクローナル抗体産生は、当該分野に周知である技術により行われ得る。用語「モノクローナル抗体」は、本明細書中で使用されるように、単一の分子組成の抗体分子の調製物を意味する。モノクローナル抗体は、特定のエピトープに対し、単一の結合特異性および親和性を示す。モノクローナル抗体産生の過程は、抗体産生の可能性のある免疫体細胞（特にＢリンパ球）を得る工程を包含する。この細胞は、かつてインビボまたはインビトロのどちらかで目的の抗原で免疫されており、Ｂ細胞骨髄腫株との融合に適している。

【００９７】

哺乳類リンパ球を、動物（例えばマウス）のインビボ免疫法により、望ましいタンパク質またはポリペプチドで（例えば、本発明においてはＰＳＭＡで）、典型的に免疫する。このような免疫は、数週間までの間隔をあけて、十分な力価の抗体を得るため、必要に応じて繰り返される。一旦免疫されると、動物は、抗体産生リンパ球の供給源として使用し得る。最後の抗体の追加投与の後、この動物を屠殺し、そして脾臓細胞を摘出する。マウスリンパ球は、本明細書中に記載したマウス骨髄腫株との安定した融合の、より高い百分率を与える。これらには、ＢＡＬＢ／ｃマウスが、好ましい。しかし、他のマウス系統、ウサギ、ハムスター、ヒツジ、およびカエルも、抗体産生細胞を調製するための宿主として使用し得る。Ｇｏｄｉｎｇ（ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，２ｄ ｅｄ．，ｐｐ．６０－６１，Ｏｒｌａｎｄｏ，Ｆｌａ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ（１９８６））参照。特に、ゲノム内に挿入されたヒト免疫グロブリン遺伝子を有する（そしてマウス免疫グロブリンを産生し得ない）マウス系統が、望ましい。例としては、Ｍｅｄａｒｅｘ／ＧｅｎＰｈａｒｍ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌにより産生されるＨｕＭＡｂマウス系統、およびＡｂｇｅｎｉｘにより産生されるＸｅｎｏＭｏｕｓｅ系統が挙げられる。これらのマウスは、免疫応答において、完全にヒト免疫グロブリン分子を産生する。

【００９８】

形質芽球分裂期におけるこれらの抗体産生細胞は、優先的に融合する。体細胞は、抗原初回刺激動物のリンパ節、脾臓および末梢血から得られ得、そして選り抜きのリンパ細胞は、大部分は特定の融合系におけるその実験的有効性に依存する。この抗体分泌リンパ球を、次に（マウス）Ｂ細胞骨髄腫または細胞培養において無限に複製し得、それにより不死の免疫グロブリン分泌細胞株を産生し得る形質転換細胞と、融合させる。この生じた融合細胞またはハイブリドーマを、培養し、そして生じたコロニーを、望ましいモノクローナル抗体の産生のためにスクリーニングした。このような抗体を産生するコロニーを、クローン化し、インビボまたはインビトロのどちらかで増殖させ、大量の抗体を産生する。このような細胞の融合の理論的根拠および実践的方法論の記載は、ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５（１９７５）（本明細書中に参考として援用される）において示される。

【００９９】

あるいは、抗体を産生し得るヒト体細胞（特にＢリンパ球）は、骨髄腫細胞株との融合に適する。個体の脾臓生検材料、扁桃生検材料、またはリンパ節生検材料由来のＢリンパ球が、使用し得るが、より容易に入手可能な末梢血Ｂリンパ球が、好ましい。このリンパ球は、診断された前立腺癌腫または別のＰＳＭＡ発現癌を有する患者由来であり得る。加えて、ヒトＢ細胞は、Ｅｐｓｔｅｉｎ－Ｂａｒｒ ウイルス（Ｃｏｌｅら（１９９５）Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．，ｐｐ．７７－９６）により直接に不死化され得る。体細胞ハイブリダイゼーション手順が、好ましいが、原則的に、モノクローナル抗体を産生するための他の技術（Ｂ細胞のウイルス形質転換または腫瘍形成形質転換のような）が、使用し得る。

【０１００】
ハイブリドーマ産生融合手順における使用に適した骨髄腫細胞株は、好ましくは、非抗体産生であり、高い融合効率および望ましいハイブリドーマの増殖を支持する特定の選択培地においてそれらを増殖不能にする酵素欠損を、有している。融合細胞株の産生に使用され得るこのような骨髄腫の例としては、以下が挙げられる：Ｐ３－Ｘ６３／Ａｇ８、Ｘ６３－Ａｇ８．６５３、ＮＳ１／１．Ａｇ４．１、Ｓｐ２／０－Ａｇ１４、ＦＯ、ＮＳＯ／Ｕ、ＭＰＣ－１１、ＭＰＣ１１－Ｘ４５－ＧＴＧ１．７、Ｓ１９４／５ＸＸ０Ｂｕｌ（全てマウス由来）；Ｒ２１０．ＲＣＹ３、Ｙ３－Ａｇ１．２．３、ＩＲ９８３Ｆおよび４Ｂ２１０（ラット由来）およびＵ－２６６、ＧＭ１５００－ＧＲＧ２、ＬＩＣＲ－ＬＯＮ－ＨＭｙ２、ＵＣ７２９－６（全てヒト由来）（Ｇｏｄｉｎｇ，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，２ｄ ｅｄ．，ｐｐ．６５－６６，Ｏｒｌａｎｄ，Ｆｌａ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ（１９８６）；Ｃａｍｐｂｅｌｌ，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ｉｎ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ Ｖｏｌ．１３，Ｂｕｒｄｅｎ ａｎｄ Ｖｏｎ Ｋｎｉｐｐｅｎｂｅｒｇ，ｅｄｓ．ｐｐ．７５－８３，Ａｍｓｔｅｒｄａｍ，Ｅｌｓｖｉｅｗ（１９８４））。

【０１０１】
哺乳類骨髄腫細胞または細胞培養において、無限に複製可能な他の融合相手との融合は、標準かつ周知の技術（例えば、ポリエチレングリコール（「ＰＥＧ」）または他の融合剤の使用）によって生じる（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ ａｎｄ Ｋｏｈｌｅｒ，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．６：５１１（１９７６）を参照。これは本明細書中で参考として援用される）。

【０１０２】
他の実施形態において、抗体は、組換え抗体であり得る。用語「組換え抗体」は、本明細書中で使用されるように、別の種の免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックである動物（例えばマウス）から単離された抗体、宿主細胞にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを使用して発現された抗体、組換えのコンビナトリアル抗体ライブラリーから単離された抗体、または免疫グロブリン遺伝子配列の他のＤＮＡ配列へのスプライシングを含む任意の他の手法によって調製、発現、作製または単離された抗体のような、組換え手段によって調製、発現、作製または単離された抗体を含むことを意図する。

【０１０３】
さらに他の実施形態において、抗体は、キメラ抗体またはヒト化抗体であり得る。本明細書中に使用されるように、用語「キメラ抗体」は、マウス可変領域または超可変領域とヒト定常領域または定常フレームワーク領域および可変フレームワーク領域とを結合する抗体をいう。本明細書中で使用されるように、用語「ヒト化抗体」は、親抗体由来の抗原結合ＣＤＲのみをヒトフレームワーク領域と共同して保有する抗体をいう（Ｗａｌｄｍａｎｎ（１９９１）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５２：１６５７参照）。マウス抗体の結合特異性を保有するこのようなキメラ抗体またはヒト化抗体は、本発明に従い、診断、予防または治療の適用のためにインビボで投与された場合に、低減された免疫原性を有することが期待される。

【０１０４】
代替の実施形態に従い、本発明のモノクローナル抗体は、二重特異性抗体、または多重特異性抗体の形態に改変され得る。用語「二重特異性抗体」は、（ａ）細胞表面抗原および（ｂ）効果細胞の表面上のＦｃレセプターに、結合するかまたはこれらと相互作用する、２つの異なる結合特異性を有する任意の薬剤（例えば、タンパク質、ペプチド、またはタンパク質複合体もしくはペプチド複合体）を含むことを意図する。用語「多重特異性抗体」は、（ａ）細胞表面抗原、（ｂ）効果細胞の表面上のＦｃレセプターおよび（ｃ）少なくとも１つの他の成分に、結合するかまたはこれらと相互作用する、２つより多くの異なる結合特異性を有する任意の薬剤（例えば、タンパク質、ペプチド、またはタンパク質

複合体もしくはペプチド複合体）を含むことを意図する。従って、本発明は、細胞表面抗原（ＰＳＭＡのような）および効果細胞上のＦｃレセプターに関する、二重特異性抗体、三重特異性抗体、四重特異性抗体、および他の多重特異性抗体を含むが、これらに限定されない。用語「二重特異性抗体」は、さらにジアボディー（ｄｉａｂｏｄｙ）を含む。ジアボディーは、$Ｖ_Ｈ$ドメインおよび$Ｖ_Ｌ$ドメインが単一のポリペプチド鎖上に発現するが、同じ鎖上で２つのドメインの間で対を形成するには短すぎるリンカーを使用し、それによってそのドメインを他の鎖の相補ドメインと対にさせ、２つの抗原結合部位を作る、二価の二重特異性抗体である（Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．ら（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：６４４４－６４４８；Ｐｏｉｊａｋ，Ｒ．Ｊ．ら（１９９４）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　２：１１２１－１１２３を参照のこと）。

【０１０５】

二重特異性抗体は、ＰＳＭＡの細胞外ドメインに特異的な抗原結合領域および殺腫瘍性または腫瘍阻害活性を有する効果細胞に特異的な抗原結合領域で形成され得る。二重特異性抗体の２つの抗原結合領域は、化学的に連結されるか、または二重特異性抗体を産生するために遺伝的に操作された細胞によって発現され得るかのどちらかである（Ｆａｎｇｅｒら（１９９５）Ｄｒｕｇ　Ｎｅｗｓ＆Ｐｅｒｓｐｅｃ．８（３）：１３３－１３７を一般的に参照）。殺腫瘍性活性を有する適した効果細胞としては、細胞傷害性Ｔ細胞（主としてＣＤ８^{+}細胞）、ナチュラルキラー細胞、などが挙げられるが、これらに限定はされない。本発明に従う有効量の二重特異性抗体を、前立腺癌患者に投与し、そして二重特異性抗体が、ＰＳＭＡを抱える一次腫瘍または転移腫瘍の部位で局在化した後の悪性細胞を殺しそして／または悪性細胞の増殖を阻害する。

【０１０６】

特定の実施形態において、抗体はヒト抗体である。用語「ヒト抗体」は、本明細書中で使用されるように、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列由来の可変領域および定常領域を有する抗体を含むことを意図する。本発明のヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列にコードされないアミノ酸残基を含み得る（例えば、ランダムなもしくは部位特異的なインビトロの変異誘発によって、またはインビボの体細胞変異によって誘導された変異）。しかし、用語「ヒト抗体」は、本明細書中で使用されるように、別の哺乳類の種（マウスのような）の生殖細胞系由来であるＣＤＲ配列が、ヒトフレームワーク配列上にグラフトされている抗体を含むことを意図しない（本明細書中の「ヒト化抗体」を参照）。ＰＳＭＡに関連するヒト抗体は、マウスの系よりむしろヒト免疫系の部分を保有するトランスジェニックマウスを使用して産生される。

【０１０７】

完全なヒトモノクローナル抗体は、ヒト免疫グロブリン重鎖および軽鎖遺伝子座の大部分についてトランスジェニックのマウスを免疫することによって、調製し得る。例えば、米国特許出願第５，５９１，６６９号、同第５，５９８，３６９号、同第５，５４５，８０６号、同第５，５４５，８０７号、同第６，１５０，５８４号、およびこれらの中で引用された参考文献（本明細書中に内容が参考として援用される）を参照。これらの動物は、内因性の（例えばマウスの）抗体の産生において機能的な欠失が存在するように、遺伝的に改変されている。動物は、これらの動物の免疫化が目的の抗原に対する完全なヒト抗体の産生を生じるようなヒト生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含むように、さらに改変される。これらのマウス（例えば、ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ａｂｇｅｎｉｘ）、ＨｕＭＡｂマウス（Ｍｅｄａｒｅｘ／ＧｅｎＰｈａｒｍ））の免疫化に続き、モノクローナル抗体を、標準的ハイブリドーマ技術に従って調製する。これらのモノクローナル抗体は、ヒト免疫グロブリンアミノ酸配列を有し、従って、ヒトに投与した場合に、ヒト抗マウス抗体（ＨＡＭＡ）反応を起こさない。

【０１０８】

好ましくは、最初の免疫化においてマウスは６～１６週齢である。例えば、ＰＳＭＡ抗原（例えば、組換えＰＳＭＡまたはＰＳＭＡ発現細胞）の精製または富化された調製物を、マウスに腹腔内（ＩＰ）的に免疫するために使用するが、当業者に公知の他の免疫法も

可能である。ＰＳＭＡ抗原を、アジュバント（例えば、フロイント完全アジュバント）との組み合わせで注射し、そして好ましくは、最初の注射に続き、アジュバント（例えば、フロイント不完全アジュバント）中の抗原で追加免疫する。免疫応答を、例えば眼窩後方（ｒｅｔｒｏｏｒｂｉｔａｌ）採血により得た血漿サンプルの免疫化プロトコールを通して、モニターする。血漿を、ＥＬＩＳＡ（以下で記載するように）によりスクリーニングし、そして充分な力価の抗ＰＳＭＡヒト免疫グロブリンを有するマウスを、融合に使用する。マウスを屠殺および脾臓摘出の３日前に、抗原で静脈に追加免疫する。

【０１０９】

特定の実施形態において、抗体が、本明細書中において、以下のように呼ばれるハイブリドーマにより産生される：ＰＳＭＡ　３．７（ＰＴＡ－３２５７）、ＰＳＭＡ　３．８、ＰＳＭＡ　３．９（ＰＴＡ－３２５８）、ＰＳＭＡ　３．１１（ＰＴＡ－３２６９）、ＰＳＭＡ　５．４（ＰＴＡ－３２６８）、ＰＳＭＡ　７．１（ＰＴＡ－３２９２）、ＰＳＭＡ　７．３（ＰＴＡ－３２９３）、ＰＳＭＡ　１０．３（ＰＴＡ－３２４７）、ＰＳＭＡ　１．８．３（ＰＴＡ－３９０６）、ＰＳＭＡ　Ａ３．１．３（ＰＴＡ－３９０４）、ＰＳＭＡ　Ａ３．３．１（ＰＴＡ－３９０５）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２４８．２（ＰＴＡ－４４２７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３６０．３（ＰＴＡ－４４２８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７．１（ＰＴＡ－４４２９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４．１（ＰＴＡ－４５５６）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１７７．３（ＰＴＡ－４５５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１６．１（ＰＴＡ－４３５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２２．３（ＰＴＡ－４３５８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８．３（ＰＴＡ－４３５９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４０．２（ＰＴＡ－４３６０）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４８．３（ＰＴＡ－４３６１）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４９．１（ＰＴＡ－４３６２）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２０９．３（ＰＴＡ－４３６５）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２１９．３（ＰＴＡ－４３６６）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８８．１（ＰＴＡ－４３６７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３３３．１（ＰＴＡ－４３６８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．５４．１（ＰＴＡ－４３６３）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１５３．１（ＰＴＡ－４３８８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２３２．３（ＰＴＡ－４３８９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２９２．３（ＰＴＡ－４３９０）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３０４．１（ＰＴＡ－４３９１）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７８．１（ＰＴＡ－４６５２）、およびＡｂｇｅｎｉｘ　４．１５２．１（ＰＴＡ－４６５３）。これらのハイブリドーマは、特許手続き上の微生物の寄託の国際的承認に関する、ブダペスト条約の要件に従い、かつこれを満たし、国際寄託当局であるＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（「ＡＴＣＣ」）に寄託され、上の表１において示した特許寄託指定を与えられた。

【０１１０】

本発明は、さらに抗ＰＳＭＡ抗体をコードする核酸分子および本明細書中で記載した核酸分子を含むベクターを、提供する。提供されるベクターは、本明細書中で記載する抗体の特異性を有する抗ＰＳＭＡ抗体を産生するための宿主細胞の形質転換またはトランスフェクトに使用し得る。好ましい実施形態において、産生された抗体は、以下の抗体の特異性を有する：ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１、ＡＢ－ＰＧ１、ＸＧ１－０６９、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７およびＰＳＭＡ　１０．３。一実施形態において、ベクターは、コード領域または図２～図７に示す核酸配列の領域を含む核酸分子にコードされる、上に列挙した抗体の重鎖をコードする、単離された核酸分子を含み得る。別の実施形態において、ベクターは、配列番号８～１３に示す抗体の軽鎖をコードする核酸配列を含み得る。さらなる実施形態において、本発明のベクターは、重鎖配列および軽鎖配列を含み得る。さらなる実施形態において、本明細書中で記載した抗体または抗原結合フラグメントを産生するプラスミドが、与えられる。本発明のプラスミドは、以下からなる群より選択されるプラスミドを含む：ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６重鎖（配列番号２）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－００６軽鎖（配列番号８）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６重鎖（配列番号３）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０２６軽鎖（配列番号９）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１重鎖（配列番号４）、Ａ

Ｂ－ＰＧ１－ＸＧ１－０５１軽鎖（配列番号１０）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９重鎖（配列番号５）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０６９軽鎖（配列番号１１）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７重鎖（配列番号６）、ＡＢ－ＰＧ１－ＸＧ１－０７７軽鎖（配列番号１２）、ＰＳＭＡ　１０．３重鎖（配列番号７）、およびＰＳＭＡ　１０．３κ（配列番号１３）。

【０１１１】

単離された抗体またはその抗原結合フラグメントは、好ましくはそのＰＳＭＡを発現している生細胞を結合する能力により、選択される。ＰＳＭＡを発現している生細胞へのモノクローナル抗体の結合を実証するため、フローサイトメトリーが、使用され得る。例えば、（標準増殖条件下で増殖した）ＰＳＭＡ発現細胞株またはＰＳＭＡを発現している前立腺癌細胞を、０．１％　Ｔｗｅｅｎ　８０および２０％マウス血清含有のＰＢＳ中で種々の濃度のモノクローナル抗体と混合し、３７℃で１時間インキュベートする。洗浄後、細胞を、フルオレセイン標識抗ヒトＩｇＧ二次抗体（ヒト抗ＰＳＭＡ抗体を使用した場合）と、１次抗体染色と同じ条件下で反応させる。サンプルを、蛍光活性化セルソーター（ＦＡＣＳ）装置で、単独の細胞を通すために、光および側方散乱特性を使用して分析する。蛍光鏡検を使用した代替のアッセイが、（フローサイトメトリアッセイに加えてまたはその代わりに）使用され得る。細胞は、まさに上で記載したように染色され得、蛍光顕微鏡によって試験され得る。この方法は、個々の細胞を可視化させ得るが、抗原の密度に依存して低下した感度を有し得る。

【０１１２】

抗体またはその抗原結合フラグメントのＰＳＭＡを発現している生細胞への結合は、細胞の増殖を阻害し得るか、または細胞溶解を媒介し得る。細胞溶解は、補体により媒介され得るか、または効果細胞によって媒介され得る。好ましい実施形態において、細胞溶解は、生きた生物、好ましくは哺乳類において起こり、そして生細胞は、腫瘍細胞である。本発明の抗体が標的にし得る腫瘍の例としては、前立腺、膀胱、膵臓、肺、結腸、腎臓、黒色腫および肉腫のような、ＰＳＭＡを発現している任意の腫瘍が挙げられる。好ましい実施形態において、腫瘍細胞は、前立腺癌細胞である。

【０１１３】

クロム放出アッセイによる抗体細胞溶解活性のインビトロでの試験が、インビボモデルを試験するのに先立つ最初のスクリーニングを提供し得る。この試験は、標準的クロム放出アッセイを使用して実行され得る。簡潔には、健康なドナー由来の多形核細胞（ＰＭＮ）、または他の効果細胞を、フィコール水溶性剤密度遠沈法（Ｆｉｃｏｌｌ　Ｈｙｐａｑｕｅ　ｄｅｎｓｉｔｙ　ｃｅｎｔｒｉｆｕｇａｔｉｏｎ）、続いて混入赤血球の溶解により、精製し得る。洗浄したＰＭＮは、１０％　熱不活性化ウシ胎仔血清を補充したＲＰＭＩ中に懸濁され得、そして種々の効果細胞対腫瘍細胞（効果細胞：腫瘍細胞）の割合において、ＰＳＭＡを発現している^{51}Ｃｒ標識細胞と混合され得る。次いで、精製された抗ＰＳＭＡ　ＩｇＧは、種々の濃度で添加され得る。無関係なＩｇＧが、ネガティブコントロールとして使用され得る。アッセイは、０～１２０分間、３７℃で実行され得る。サンプルは、培養上清への^{51}Ｃｒ放出を測定することによって、細胞溶解についてアッセイされ得る。抗ＰＳＭＡモノクローナル抗体も、互いの組み合わせにおいて、細胞溶解は複数のモノクローナル抗体により増大されるか否かを決定するために、試験され得る。

【０１１４】

ＰＳＭＡに結合する抗体も、インビボモデルにおいて（例えばマウスにおいて）ＰＳＭＡ発現細胞（例えば、腫瘍細胞）の細胞溶解の媒介および細胞の殺傷におけるその有効性を決定するために試験され得る。これらの抗体を、例えば、排他的であることを意図しない以下の診断基準に基づいて、選択し得る：

１）ＰＳＭＡを発現している生細胞への結合；

２）ＰＳＭＡへの高い結合親和性；

３）ＰＳＭＡ上の独特なエピトープへの結合（組み合わせにおいて使用した場合に、相補的な活性を有する抗体が同じエピトープへの結合に競合する可能性を排除する）；

４）ＰＳＭＡ発現細胞のオプソニン作用；
５）効果細胞存在下での増殖阻害の媒介、ＰＳＭＡ発現細胞の食作用および／または細胞殺傷；
６）ＮＡＡＬＡＤａｓｅ、フォレートヒドロラーゼ、ジペプチジルペプチダーゼＩＶおよび／またはγ－グルタミルヒドロラーゼの活性の調節（阻害または増大）；
７）効果細胞非存在下での増殖阻害、細胞周期阻止、および／または細胞傷害性；
８）ＰＳＭＡのインターナリゼーション；
９）ＰＳＭＡ上のコンフォメーショナルエピトープへの結合；
１０）ＰＳＭＡを発現しない細胞または組織に対する最小限の交叉反応性；および
１１）単量体形態のＰＳＭＡよりダイマー形態のＰＳＭＡへの優先的な結合。

【０１１５】
本発明の好ましい抗体は、これらの基準の１つ以上、好ましくは全てを満たす。特定の実施形態において、抗体は、例えば、２つ以上の異なった抗ＰＳＭＡ抗体またはその結合フラグメントを含む薬学的組成物のように、組み合わせで使用される。例えば、異なった、しかし相補的な活性を有する抗ＰＳＭＡ抗体は、望ましい治療または診断効果を達成するために、単一の治療において組み合わされ得る。この実例は、効果細胞の存在下において、標的細胞の高度に効果的な殺傷を媒介する抗ＰＳＭＡ抗体を、ＰＳＭＡ発現細胞の増殖を阻害する別の抗ＰＳＭＡ抗体と組み合わせて含む組成物である。

【０１１６】
本発明の好ましい局面において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、ＰＳＭＡ分子の細胞外ドメイン内のコンフォメーショナルエピトープに結合する。選択されたヒト抗ＰＳＭＡ抗体が、コンフォメーショナルエピトープに結合するか否かを決定するため、それぞれの抗体は、ネイティブなタンパク質（例えば、非変性免疫沈降、細胞表面結合のフローサイトメトリー分析）、および変性タンパク質（例えば、ウェスタンブロット、変性タンパク質の免疫沈降）を使用したアッセイにおいて試験され得る。結果の比較は、抗体が、コンフォメーショナルエピトープに結合するか否かを示す。ネイティブタンパク質には結合するが変性タンパク質には結合しない抗体は、コンフォメーショナルエピトープに結合する抗体であり、そして好ましい抗体である。

【０１１７】
選択されたヒト抗ＰＳＭＡ抗体が、優先的に（すなわち、選択的にかつ／または特異的に）ＰＳＭＡダイマーに結合するか否かを決定するため、それぞれの抗体は、ネイティブなダイマーＰＳＭＡタンパク質および解離単量体ＰＳＭＡタンパク質を使用したアッセイ（例えば、免疫沈降とそれに続くウエスタンブロッティング）において試験され得る。結果の比較は、抗体が、優先的にダイマーまたはモノマーに結合するか否かを示す。ＰＳＭＡダイマーに結合するが単量体ＰＳＭＡに結合しない抗体は、好ましい抗体である。

【０１１８】
好ましい抗体としては、第二抗体のそのＰＳＭＡ上の標的エピトープへの特異的結合を競合的に阻害する抗体が挙げられる。競合阻害を決定するために、当業者に公知の種々のアッセイが、使用され得る。例えば、実施例４および２１に示される交叉競合アッセイは、抗体が別の抗体によるＰＳＭＡへの結合を競合的に阻害するか否かを決定するために使用され得る。これらの実施例は、フローサイトメトリーまたは固相結合分析を使用した細胞ベースの方法を提供する。細胞の表面上に発現されないＰＳＭＡ分子に対して交叉競合する抗体の能力を評価する、他の固相におけるアッセイまたは液相におけるアッセイもまた、使用され得る。これらのアッセイは、好ましくは本明細書中で記載されるＰＳＭＡマルチマーを使用する。

【０１１９】
特定の好ましい抗体は、第二抗体のそのＰＳＭＡ上の標的エピトープへの特異的結合を、少なくとも約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％または９９％、競合的に阻害する。阻害は、種々のモル比率または質量比率で評価され得る；例えば競合的結合実験は、第二抗体に対して２倍、３倍、４倍、５倍、

７倍、１０倍以上にモル過剰な、第一抗体によって、実施される。

【０１２０】

他の好ましい抗体としては、第二抗体によって規定されるＰＳＭＡ上のエピトープに、特異的に（すなわち選択的に）結合する抗体が挙げられる。エピトープを決定するため、当該分野に公知である標準的エピトープマッピング方法を、使用され得る。例えば、第二抗体を結合するＰＳＭＡ抗原のフラグメント（ペプチド）（好ましくは合成ペプチド）を、候補抗体が同じエピトープを結合するか否かを決定するために使用され得る。直鎖状エピトープに対して、規定された長さ（例えば、８アミノ酸以上）の折り重ねペプチドが、合成される。ペプチドは、好ましくは１アミノ酸でオフセットされ、ＰＳＭＡタンパク質配列のあらゆる８アミノ酸のフラグメントを含む一連のペプチドが、調製される。例えば、２または３アミノ酸の、より大きなオフセットを使用するペプチドは、殆ど調製され得ない。加えて、より長いペプチド（例えば、９～、１０～、１１～マーのペプチド）が、合成され得る。ペプチドの抗体への結合は、表面プラスモン共鳴（ＢＩＡＣＯＲＥ；実施例２２参照）およびＥＬＩＳＡアッセイを含む標準的方法論を使用して決定され得る。コンフォメーショナルエピトープの試験のために、より大きなＰＳＭＡフラグメントが、使用され得る。コンフォメーショナルエピトープを決定するために、質量分析法を使用する他の方法が、記載されており、使用され得る（例えば、Ｂａｅｒｇａ－Ｏｒｔｉｚら，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ １１：１３００－１３０８（２００２）およびここで引用された参考文献を参照）。エピトープ決定のためのなお他の方法が、標準的実験室参考研究（例えば、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｃｏｌｉｇａｎら，ｅｄｓ．，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓの、Ｕｎｉｔ ６．８（“Ｐｈａｇｅ Ｄｉｓｐｌａｙ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ｂ－ｃｅｌｌ Ｅｐｉｔｏｐｅ”）およびＵｎｉｔ ９．８（“Ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ Ａｎｔｉｇｅｎｉｃ Ｄｅｔｅｒｍｉｎａｎｔｓ Ｕｓｉｎｇ Ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｃｏｍｂｉｎａｔｏｒｉａｌ Ｌｉｂｒａｒｉｅｓ”））において、提供される。エピトープは、公知のエピトープ中へ点変異または点欠失を導入すること、次いで、どの変異が抗体の結合を減少させたかを決定するために１つ以上の抗体との結合を試験することにより、確認され得る。

【０１２１】

本発明の一実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、細胞上に発現するＰＳＭＡに結合し、ＰＳＭＡにより内在化する。抗体またはその抗原結合性フラグメントが前立腺特異的膜抗原により内在化するメカニズムは、本発明の診療にとって致命的ではない。例えば、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ＰＳＭＡの内在化を誘導し得る。あるいは、抗体またはその抗原結合性フラグメントの内在化は、慣用的なＰＳＭＡの内在化の結果であり得る。抗体またはその抗原結合性フラグメントは、非改変形態で、単独または他の組成物との組み合わせで、使用され得る。あるいは、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、抗体またはその抗原結合性フラグメントの前立腺特異的膜抗原への結合および前立腺特異的膜抗原との生物学的薬剤の内在化の際に、細胞を殺傷するのに効果的な基質に、結合され得る。

【０１２２】

本発明のヒトＰＳＭＡ抗体は、細胞表面ＰＳＭＡおよび／またはナノモル濃度未満の親和性を有するｒｓＰＳＭＡを特異的に結合する。本発明のヒトＰＳＭＡ抗体は、約１×１０$^{-9}$Ｍ以下、好ましくは約１×１０$^{-10}$Ｍ以下、より好ましくは１×１０$^{-11}$Ｍ以下の結合親和性を有する。特定の実施形態において、結合親和性は、約５×１０$^{-10}$Ｍ未満である。

【０１２３】

抗体は、検出可能マーカー、抗腫瘍剤または免疫調節物と連結され得る。抗腫瘍剤は、細胞傷害性薬剤および腫瘍新生血管系に対して作用する薬剤を含み得る。検出可能マーカーとしては、例えば、放射性マーカーまたは蛍光マーカーが挙げられる。細胞傷害性薬剤としては、細胞傷害性放射性核種、化学毒素、そしてタンパク質毒素が挙げられる。

【０１２４】
細胞傷害性放射性核種または放射線療法同位体は、好ましくは以下のようなα線放出同位体である：^{225}Ａｃ、^{211}Ａｔ、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、^{212}Ｐｂ、^{224}Ｒａまたは^{223}Ｒａ。あるいは、細胞傷害性放射性核種は、以下のようなβ線放出同位体であり得る：^{186}Ｒｈ、^{188}Ｒｈ、^{177}Ｌｕ、^{90}Ｙ、^{131}Ｉ、^{67}Ｃｕ、^{64}Ｃｕ、^{153}Ｓｍまたは^{166}Ｈｏ。さらに、細胞傷害性放射性核種は、オージェ電子または低エネルギー電子を放出し得、そして^{125}Ｉ、^{123}Ｉまたは^{77}Ｂｒの同位体を含む。

【０１２５】
適切な化学毒素または化学療法化学療法薬剤としては、カリケラミシンおよびエスペラミシンのようなエネジエン（ｅｎｅｄｉｙｎｅ）ファミリーの分子のメンバーが挙げられる。化学毒素はまた、メトトレキサート、ドキソルビシン、メルファラン、クロラムブシル、ＡＲＡ－Ｃ、ビンデシン、マイトマイシンＣ、シスプラチン、エトポシド、ブレオマイシンおよび５－フルオロウラシルからなる群から選択し得る。本発明の抗ＰＳＭＡ抗体と共役し得る他の抗腫瘍剤は、ドラスタチン（米国特許第６，０３４，０６５号および第６，２３９，１０４号）およびその誘導体を含む。特に興味深いものはドラスタチン１０（ドラバリン－バリン－ドライソロウイン－ドラプロイン－ドラフェニン（ｄｏｌａｖａｌｉｎｅ－ｖａｌｉｎｅ－ｄｏｌａｉｓｏｌｅｕｉｎｅ－ｄｏｌａｐｒｏｉｎｅ－ｄｏｌａｐｈｅｎｉｎｅ））および誘導体オーリスタチンＰＨＥ（ドラバリン－バリン－ドライソロウイン－ドラプロイン－フェニルアラニン－メチルエステル（ｄｏｌａｖａｌｉｎｅ－ｖａｌｉｎｅ－ｄｏｌａｉｓｏｌｅｕｉｎｅ－ｄｏｌａｐｒｏｉｎｅ－ｐｈｅｎｙｌａｌａｎｉｎｅ－ｍｅｔｈｙｌ　ｅｓｔｅｒ））（Ｐｅｔｔｉｔ，Ｇ．Ｒ．ら，Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｓ．１３（４）：２４３－２７７（１９９８）；Ｗｏｙｋｅ，Ｔ．ら，Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ　Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．４５（１２）：３５８０－３５８４（２００１））、およびオーリスタチンＥなどである。本発明の組成物および方法においてあまり好ましくない毒素としては、毒性レクチン、植物毒素（例えば、リシン毒素、アブリン毒素、モデクシン（ｍｏｄｅｃｃｉｎ）毒素、ボツリヌス毒素およびジフテリア毒素）が挙げられる。無論、種々の毒素の組み合わせがまた、１抗体分子と結合され得、それによって変動する細胞傷害性と適応する。他の化学療法薬剤は、当業者に公知である。

【０１２６】
本発明のＰＳＭＡ抗体の毒物結合体形態は、ＰＳＭＡ発現細胞の特異的細胞殺傷を、ピコモル濃度の濃度で媒介する。本発明の毒物結合ＰＳＭＡ抗体は、約1×10^{-10}Ｍ未満（好ましくは約1×10^{-11}Ｍ未満、より好ましくは約1×10^{-12}Ｍ未満）の濃度において、IC_{50}を示す。特定の実施形態において、約1.5×10^{-11}Ｍ未満の濃度において、IC_{50}が、達成される。

【０１２７】
腫瘍血管構造に対して作用する薬剤は、コンブレスタチンＡ４（ｃｏｍｂｒｅｓｔａｔｉｎ　Ａ４）（Ｇｒｉｇｇｓら，Ｌａｎｃｅｔ　Ｏｎｃｏｌ．２：８２（２００１））、アンギオスタチン（ａｎｇｉｏｓｔａｔｉｎ）およびエンドスタチン（Ｒｏｓｅｎ，Ｏｎｃｏｌｏｇｉｓｔ　５：２０（２０００）における概説（本明細書中に参考として援用される））のようなチューブリン結合薬剤ならびにインターフェロン誘導タンパク質１０（米国特許第５，９９４，２９２号）を含み得る。現在の臨床的試行における、多くの抗脈管形成剤も、企図される。現在の臨床的試行における薬剤としては、以下が挙げられる：２ＭＥ２、アンギオスタチン、アンギオザイム（Ａｎｇｉｏｚｙｍｅ）、抗ＶＥＧＦ　ＲｈｕＭＡｂ、Ａｐｒａ（ＣＴ－２５８４）、アビシン（Ａｖｉｃｉｎｅ）、ベネフィン（Ｂｅｎｅｆｉｎ）、ＢＭＳ２７５２９１、カルボキシアミドトリアゾール（Ｃａｒｂｏｘｙａｍｉｄｏｔｒｉａｚｏｌｅ）、ＣＣ４０４７、ＣＣ５０１３、ＣＣ７０８５、ＣＤＣ８０１、ＣＧＰ－４１２５１（ＰＫＣ　４１２）、ＣＭ１０１、コンブレスタチンＡ－４プロドラッグ、ＥＭＤ１２１９７４、エンドスタチン、フラボピリドール（Ｆｌａｖｏｐ

ｉｒｉｄｏｌ）、ゲニステイン（Ｇｅｎｉｓｔｅｉｎ）（ＧＣＰ）、緑茶抽出物、ＩＭ－８６２、ＩｍｍＴｈｅｒ、インターフェロンα、インターロイキン１２、イレッサ（Ｉｒｅｓｓａ）（ＺＤ１８３９）、マリマスタット（Ｍａｒｉｍａｓｔａｔ）、メタスタット（Ｍｅｔａｓｔａｔ）（Ｃｏｌ－３）、ネオバスタット（Ｎｅｏｖａｓｔａｔ）、オクトレオチド（Ｏｃｔｒｅｏｔｉｄｅ）、パクリタキセル、ペニシラミン、フォトフリン（Ｐｈｏｔｏｆｒｉｎ）、フォトポイント（Ｐｈｏｔｏｐｏｉｎｔ）、ＰＩ－８８、プリノマスタット（Ｐｒｉｎｏｍａｓｔａｔ）（ＡＧ－３３４０）、ＰＴＫ７８７（ＺＫ２２５８４）、ＲＯ３１７４５３、ソリマスタット（Ｓｏｌｉｍａｓｔａｔ）、スクアラミン、ＳＵ　１０１、ＳＵ　５４１６、ＳＵ－６６６８、スラジスタ（Ｓｕｒａｄｉｓｔａ）（ＦＣＥ　２６６４４）、スラミン（メタレート（Ｍｅｔａｒｅｔ））、テトラチオモリブデート、サリドマイド、ＴＮＰ－４７０およびビタキシン（Ｖｉｔａｘｉｎ）。さらなる抗脈管形成剤は、Ｋｅｒｂｅｌ，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｏｎｃｏｌ．１９（１８ｓ）：４５ｓ－５１ｓ（２００１）（本明細書中に参考として援用される）によって記載される。抗ＰＳＭＡ抗体との結合に適した免疫調節因子としては、α－インターフェロン、γ－インターフェロン、および腫瘍壊死因子α（ＴＮＦα）が挙げられる。

【０１２８】

１つ以上の毒素分子の抗ＰＳＭＡ抗体との結合は、多くの化学的メカニズムを含むことが構想され、これらとしては、共有結合、親和性結合、インターカレーション、配位結合、および複合体化が挙げられる。抗ＰＳＭＡ免疫毒素の調製に使用される毒素化合物は、当該分野に公知の標準的プロトコールにより、抗体またはそのＰＳＭＡ結合フラグメントに結合される。

【０１２９】

共有結合は、存在する側鎖の縮合または外架橋分子（ｅｘｔｅｒｎａｌ　ｂｒｉｄｇｉｎｇ　ｍｏｌｅｃｕｌｅ）の取り込みのいずれかによって達成され得る。多くの２価または多価の薬剤が、タンパク質分子の他のタンパク質、ペプチドまたはアミン官能基などとの結合において、有用である。例えば、文献は、カルボジイミド、ジイソシアネート、グルタルアルデヒド、ジアゾベンゼン、およびヘキサメチレンジアミンのような結合薬剤でいっぱいである。この一覧は、当該分野に公知である種々の結合薬剤を網羅することを意図しないが、むしろ、より通常の結合薬剤の例である。

【０１３０】

好ましい実施形態において、まず抗体の誘導体化を望み得、次いで毒素成分をこの誘導体化産物に結合することが企図される。この様式における使用のために適切な架橋剤としては、例えば、ＳＰＤＰ（Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート）、およびＳＭＰＴ、４－スクシンイミジル－オキシカルボニル－メチル－（２－ピリジルジチオ）トルエンが挙げられる。

【０１３１】

さらに、タンパク質毒素は、ハイブリッド免疫毒素融合タンパク質を形成する遺伝的方法により、抗ＰＳＭＡ抗体またはＰＳＭＡ結合フラグメントに融合され得る。本発明に従って、融合免疫毒素タンパク質を作製するため、抗ＰＳＭＡ抗体、抗ＰＳＭＡ抗体のフラグメント、単鎖抗ＰＳＭＡ抗体、またはタンパク質毒素と連結した抗ＰＳＭＡ抗体のサブユニットをコードする核酸分子が、生成される。このような融合タンパク質は、少なくとも標的薬剤（例えば、抗ＰＳＭＡ抗体サブユニット）および、作動可能に結合する、本発明の毒素を含む。融合タンパク質は、標的薬剤および毒素化合物に作動可能に結合するペプチドスペーサーのような追加のペプチド配列もまた、含み得る（このような追加の配列が標的活性または融合タンパク質の毒素活性に相当に影響しない限り）。２つのタンパク質は、グリシン－セリンスペーサーペプチド、またはペプチドヒンジのように、当該分野で公知であるような、ペプチドリンカーまたはスペーサーにより結合され得る。従って、例えば、抗ＰＳＭＡ抗体またはそのフラグメントのＣ末端は、タンパク質毒素分子のＮ末端に融合し、抗ＰＳＭＡ抗体の結合特性を保有する、免疫毒素を形成し得る。他の融合配置は、当業者に公知である。

【０１３２】
融合免疫毒素を発現するため、融合タンパク質をコードする核酸は、標準的方法に従って、融合タンパク質の安定した発現のために、好ましくは哺乳類細胞（例えば、ＣＨＯ細胞）中で、発現ベクターに挿入される。融合タンパク質は、ＰＳＭＡアフィニティカラムのような標準的方法論を使用して、細胞または培養上清から、単離および精製され得る。
【０１３３】
放射性核種は、代表的には、キレート化によって抗体と結合される。例えば、金属放射性核種の場合、二官能性のキレート剤が、同位体を抗体または目的の他のタンパク質と連結させるために、通常使用される。代表的に、キレート剤は、まず抗体に結合され、キレート剤抗体結合体が、金属放射性同位体と接触される。多くの二官能性のキレート剤が、この目的のために開発されてきており、このキレート剤としてはジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＤＴＰＡ）シリーズのアミノ酸が挙げられ、これは、米国特許第５，１２４，４７１号、同第５，２８６，８５０号および同第５，４３４，２８７号（本明細書中で参考として援用される）に記載される。別の例として、ヒドロキサム酸ベースの二官能性キレート剤が、米国特許第５，７５６，８２５号に記載され、その内容は本明細書中で援用される。別の例は、ｐ－ＳＣＮ－Ｂｚ－ＨＥＨＡ（１，４，７，１０，１３，１６－ヘキサアザシクロ－オクタデカン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’，Ｎ’’’，Ｎ’’’’，Ｎ’’’’’－ヘキサ酢酸）（Ｄｅａｌら，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４２：２９８８（１９９９））と呼ばれるキレート剤であり、^{225}Ａｃのような放射性金属の効果的なキレート剤である。また別の例は、ＤＯＴＡ（１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカンＮ，Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’－テトラ酢酸）であり、二官能性のキレート剤であり（ＭｃＤｅｖｉｔｔら，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２９４：１５３７－１５４０（２００１）を参照のこと）、２工程標識法において使用し得、続いて結合体化する。
【０１３４】
別の局面において、本発明は、単離された抗体、他の官能基部分に誘導体化された抗体もしくは他の官能基部分に連結する抗体、またはその抗原結合性フラグメント、あるいは１つ以上の上述の抗体またはその結合フラグメントの組み合わせを含む組成物を提供する。この組成物は、単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントと混合された、生理学的受容可能キャリアまたは薬学的受容可能キャリア、賦形剤、または安定化剤を、含む。好ましい実施形態において、この組成物は、複数（例えば、２つ以上）の単離された本発明の抗体またはその抗原結合部分の組み合わせを含む。好ましくは、組成物の抗体またはその抗原結合部分のそれぞれは、異なるＰＳＭＡのコンフォメーショナルエピトープに結合する。一実施形態において、相補的活性を有する抗ＰＳＭＡ抗体は、組み合わせ（例えば、２つ以上の抗ＰＳＭＡ抗体を含む薬学的組成物）中で使用する。例えば、エフェクター細胞存在下で、標的細胞の高度に効果的な細胞溶解を媒介する抗体は、ＰＳＭＡを発現する細胞の増殖を阻害する別の抗体と組み合わされ得る。本明細書中で使用される場合、「標的細胞」は、被験体（例えば、ヒトまたは動物）における任意の所望されない細胞を意味し、これは、本発明の組成物によって標的化され得る細胞である。好ましい実施形態において、標的細胞は、ＰＳＭＡを発現する細胞または過剰に発現する細胞である。ＰＳＭＡを発現する細胞としては、代表的に、前立腺、膀胱、膵臓、肺、腎臓、結腸の腫瘍細胞、黒色腫、および肉腫のような、腫瘍細胞が挙げられる。
【０１３５】
本発明の薬学的組成物は、組み合わせ療法（すなわち、他の薬剤と組み合わされた療法）においても、投与され得る。例えば、組み合わせ療法としては、少なくとも１つの抗腫瘍剤、免疫調節因子、免疫刺激剤、または他の従来療法を含む本発明の組成物が挙げられ得る。この薬剤は、ＰＳＭＡ発現細胞へこの薬剤が指向された標的化のために、本発明のＰＳＭＡ抗体と、結合されるか、もしくは結合体化されるか、または組換え融合分子として形成され得る。
【０１３６】
本発明のＰＳＭＡ抗体は、腫瘍治療のための、複製選択性ウイルスのＰＳＭＡ発現細胞

への送達のための標的部分として使用され得る。ｐ５３経路標的アデノウイルス変異体ｄｌ１５２０，ＯＮＹＸ－０１５のような複製可能ウイルスは、選択的に腫瘍細胞を殺傷する（Ｂｉｅｄｅｒｅｒ，Ｃ．ら，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｍｅｄ．８０（３）：１６３－１７５，２００２）。

【０１３７】

本明細書中で使用される場合、「薬学的受容可能キャリア」または「生理学的受容可能キャリア」としては、任意および全ての塩、溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤または吸収遅延剤などが挙げられ、これらは、生理学的に適合性である。好ましくは、このキャリアは、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄、または表皮の投与（例えば、注射または輸液による）に適する。投与の経路に依存して、活性化合物（すなわち、抗体）は、化合物を不活性化し得る酸および他の自然条件の作用から化合物を保護するために物質内にコートされ投与され得る。

【０１３８】

投与される場合、本発明の薬学的調製物は、薬学的受容可能量および薬学的受容可能組成物において、適用される。用語「薬学的受容可能」は、活性成分の生物学的活性の有効性に干渉しない、非毒性物質を意味する。このような調製物は、塩、緩衝剤、保存薬、適合性キャリア、および任意の他の治療剤（アジュバント、ケモカインおよびサイトカインを含む補充免疫増強剤）を、慣用的に含み得る。医薬中で使用される場合、塩は薬学的に受容可能であるべきである。しかし、薬学的受容不可能な塩は、その薬学的受容可能塩の調製に都合よく使用され得、本発明の範囲から除外されない。

【０１３９】

塩は、親化合物の望ましい生物学的活性を保有し、任意の所望されない毒物学的効果を与えない（例えば、Ｂｅｒｇｅ，Ｓ．Ｍ．ら（１９７７）Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．６６：１－１９を参照のこと）。このような塩の例としては、酸付加塩および塩基付加塩が挙げられる。酸付加塩としては、非毒性無機酸（例えば、塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、亜リン酸など）由来の塩、および非毒性有機酸（例えば、脂肪族モノカルボン酸および脂肪族ジカルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、芳香族酸、脂肪族スルホン酸および芳香族スルホン酸など）由来の塩が挙げられる。塩基付加塩としては、アルカリ土類金属（例えば、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなど）由来の塩、および非毒性有機アミン（例えば、Ｎ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン、Ｎ－メチルグルカミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、プロカインなど）由来の塩が挙げられる。

【０１４０】

抗ＰＳＭＡ抗体組成物は、所望の場合、薬学的受容可能キャリアと組み合わされ得る。本明細書中で使用される場合、用語「薬学的受容可能キャリア」は、人に投与するのに適する、１つ以上の適合した固体または液体充填剤、賦形剤またはカプセル化物質を意味する。用語「キャリア」は、有機成分または無機成分、天然のまたは合成の、活性成分が適用を促進するために組み合わせられる、成分を意味する。薬学的組成物の構成要素もまた、望ましい薬学的効能を実質的に損なう相互作用のないような様式において、本発明の分子と一緒に混合され得、そして互いに混合され得る。

【０１４１】

薬学的組成物は、以下を含む適した緩衝剤を含み得る：塩中の酢酸；塩中のクエン酸；塩中のホウ酸；および塩中のリン酸。

【０１４２】

薬学的組成物は、必要に応じて、適切な保存薬（例えば、塩化ベンザルコニウム；クロロブタノール；パラベンおよびチメロサール）もまた、含み得る。

【０１４３】

薬学的組成物は、単回投薬形態中に都合よく存在し得、そして薬学分野に周知の任意の方法によって調製され得る。全ての方法は、１つ以上の付属の成分を構成する活性薬剤を、キャリアと一緒に送達する工程を包含する。一般に、組成物は、活性化合物が液体キャ

リア、微細に分割された固体キャリア、またはその両方と一緒に一様かつ密接に送達されることにより調製され、次いで、必要な場合、産物を成形する。

【０１４４】

非経口投与に適した組成物は、抗ＰＳＭＡ抗体の水性または非水性の無菌調製物を都合よく含み、これは、好ましくは受容者の血液と等張である。この調製物は、適切な分散剤または湿潤剤および懸濁剤を使用した、公知の方法に従って処方され得る。無菌の注射可能な調製物はまた、非毒性の非経口受容可能賦形薬または溶媒中の無菌の注射可能な溶液または懸濁液（例えば、１，３－ブタンジオール中の溶液）であり得る。受容可能ビヒクルおよび溶媒において、水、リンガー液、および等張塩化ナトリウム水溶液が、使用され得る。さらに、無菌の不揮発性油は、従来、溶媒または懸濁媒体として使用される。この目的について、任意のブランドの不揮発性油（合成モノグリセリドまたはジグリセリドを含む）が、使用され得る。さらに、オレイン酸のような脂肪酸が、注射可能な調製物において使用され得る。経口投与、皮下投与、静脈内投与、筋肉内投与などに適したキャリア処方物は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，ＰＡにおいて、見出され得る。

【０１４５】

活性化合物は、急速な放出から化合物を保護するキャリアと共に調製され得る（例えば移植片、経皮パッチ、およびマイクロカプセル化された送達系を含む放出制御処方物）。生分解性の、生物適合性のポリマー（例えば、エチレンビニルアセテート、ポリアンヒドリド、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸）が、使用され得る。このような処方物の調製のための多くの方法は、特許化されているか、または、一般に当業者に公知である。例えば、Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，ｅｄ．，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９７８）を参照。

【０１４６】

本発明の治療は、注射を含む、任意の従来経路または時間をかけた漸次の輸液によって投与され得る。投与は、例えば、経口、静脈内、腹腔内、筋肉内、管腔内（ｉｎｔｒａｃａｖｉｔｙ）、腫瘍内、または経皮膚であり得る。抗体が治療に使用される場合、好ましい投与経路としては、静脈内経路および肺のエアロゾルによる経路が挙げられる。抗体を含むエアロゾル送達系の調製のための技術は、当業者に周知である。一般に、このような系は、抗体の生物学的特性（例えば、パラトープ結合能力）（例えば、ＳｃｉａｒｒａおよびＣｕｔｉｅ、“Ａｅｒｏｓｏｌｓ”，ｉｎ Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１８ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ（１９９０）ｐｐ．１６９４－１７１２を参照。これは、本明細書中で参考として援用される）を有意に損なわない構成要素を、利用するべきである。当業者は、抗体エアロゾルを産生するための種々のパラメータおよび条件を、過度の実験に頼ることなく、容易に決定し得る。

【０１４７】

本発明の組成物は、有効量において投与される。「有効量」は、単独で、またはさらなる用量と共に、抗ＰＳＭＡ抗体組成物の、望ましい応答（例えば、被験体における例えば悪性疾患の処置）を産生する量である。この応答は、疾患の進行を時間的に遅らせることのみを含み得るが、より好ましくは、永遠に疾患の進行を停止することを含む。この応答を、慣用的方法によってモニターし得る。疾患または症状の処置への望ましい応答はまた、疾患または症状の発症を遅らせること、または発症を防ぐことでさえあり得る。

【０１４８】

このような量は、無論、処置される特定の状態、状態の重篤度、年齢、身体状態、身長および体重を含む個々の患者のパラメータ、処置の期間、（もしあれば）同時治療の性質、特定の投与経路などの、保健医師の知見および専門技術の範囲内の因子に依存する。これらの因子は、当業者に周知であり、そしてただの慣用的実験だけで取り込まれ得る。一

般的に、個々の構成要素またはそれらの組み合わせの最高用量（妥当な医療判断に従った安全な最高の用量）が使用されることが好ましい。当業者に理解されることであるが、患者は医学的理由、心理学的理由または事実上任意の他の理由により、より低用量または耐えられる用量を主張し得る。

【０１４９】

上述の方法において使用される薬学的組成物は、好ましくは無菌であり、有効量の抗ＰＳＭＡ抗体を、患者への投与に適した質量単位または容量単位において望ましい応答を産生するために含有する。応答は、例えば、抗ＰＳＭＡ抗体組成物の生理学的効果（腫瘍の後退または疾患症状の減少のような効果）の決定により、測定され得る。他のアッセイは、当業者に公知であり、そして応答レベルの測定のために使用され得る。

【０１５０】

被験体に投与される抗ＰＳＭＡ抗体の用量は、異なったパラメータに従って（特に、使用された投与の様式および被験体の状態に従って）選択され得る。他の因子としては、望ましい処置期間が挙げられる。適用された最初の用量において、被験体における応答が不十分である場合、より高い用量（または異なった、より局在化した送達経路による、効果的により高い用量）が、患者の許容限界の範囲で使用され得る。

【０１５１】

一般に、用量は、約１０μｇ／ｋｇから約１００，０００μｇ／ｋｇの範囲に及び得る。組成物に基づき、用量は、連続的ポンプなどにより連続的に送達され得、または定期的間隔において送達され得る。多用量の特定の組成物の望ましい時間間隔は、当業者により、過度の実験なしで決定され得る。用量、投与計画、投与部位、投与様式などを上述の記載から変更する場合の、抗ＰＳＭＡ抗体組成物の投与のための他のプロトコールは、当業者に公知である。

【０１５２】

一般に、本発明の抗ＰＳＭＡ抗体により送達される放射性核種の用量は、約０．０１ｍＣｉ／Ｋｇから約１０ｍＣｉ／ｋｇまでの範囲に及び得る。好ましくは、放射性核種の用量は、約０．１ｍＣｉ／Ｋｇから約１．０ｍＣｉ／ｋｇまでの範囲に及ぶ。与えられた同位体の最適用量は、当業者に周知の単純な慣用的力価測定実験により、実験的に決定され得る。

【０１５３】

抗ＰＳＭＡ抗体組成物のヒト以外の哺乳類への投与（例えば、試験目的または獣医学的治療目的の投与）は、上で記載した条件と実質的に同じ条件下で実行される。

【０１５４】

本発明のこの組成物（ＰＳＭＡに対する抗体またはこれらの誘導体／結合体）は、インビトロおよびインビボでの診断および治療での有用性を有する。例えば、これらの分子は、種々の障害を処置、予防または診断するために、培養細胞（例えば、インビトロもしくはエキソビボ）または被験体（例えば、インビボ）に投与され得る。本明細書中で使用される場合、用語「被験体」は、ヒトおよび非ヒト動物を含むことを意図する。好ましい被験体としては、ＰＳＭＡ発現（代表的には、異常なＰＳＭＡ発現（例えば、過剰発現））により特徴付けられる障害を有するヒト患者が挙げられる。

【０１５５】

本発明の一局面は、生物学的サンプル（例えば、組織学または細胞学の標本、生検など）において、癌性細胞またはその部分を検出する方法（特に、悪性腫瘍を正常組織および非悪性腫瘍から区別する方法）に関連する。この方法は、このような細胞のＰＳＭＡの細胞外ドメインに結合する、抗体またはその抗原結合性フラグメント、プローブ、またはリガンド（例えば、抗ＰＳＭＡ抗体）を提供する工程を包含する。抗ＰＳＭＡ抗体を、抗ＰＳＭＡ抗体が細胞または細胞の部分へと結合した際に、細胞または細胞の部分（例えば、このような癌性細胞から放出されるＰＳＭＡまたはそのフラグメント）の検出を可能にする標識に、結合させる。生物学的サンプルを、抗ＰＳＭＡ抗体を生物学的サンプルにおける任意の細胞またはその部分のＰＳＭＡの細胞外ドメインに結合させることに効果的な条

件下で、標識抗ＰＳＭＡ抗体に接触させる。生物学的サンプルにおける任意の細胞または細胞の部分の存在は、この標識の検出によって検出される。１つの好ましい形態において、抗ＰＳＭＡ抗体と生物学的サンプルとの間の接触は、生きている哺乳類において実行される。この接触は、抗ＰＳＭＡ抗体を生物学的サンプルにおける任意の細胞または細胞の部分のＰＳＭＡへ結合させる条件下での、抗ＰＳＭＡ抗体の哺乳類への投与を含む。さらに、このような投与は、当業者に公知の任意の適した方法により、実行され得る。

【０１５６】

さらに、本発明の抗ＰＳＭＡ抗体は、ヒトの組織、細胞および体液の標本を試験するために、免疫蛍光技術（ｉｍｍｕｎｏｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｃｅ　ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ）において使用され得る。典型的なプロトコールにおいて、凍結非固定組織生検サンプルのクリオスタット切片または細胞学的塗抹を含むスライドガラスを、風乾し、ホルマリン固定またはアセトン固定し、そしてモノクローナル抗体調製物と共に湿潤チャンバ中で室温でインキュベートする。それからスライドガラスを、洗浄し、前述のモノクローナル抗体に対する二次抗体調製物と共にさらにインキュベートする。使用されるモノクローナル抗体がマウス脾臓リンパ球とマウス骨髄腫細胞株との融合物に由来する場合、通常、二次抗体は、任意の型の抗マウス免疫グロブリンである。この二次抗体は、特定の波長の蛍光を発する化合物（例えばローダミンまたはフルオレセインイソチオシアネート）によりタグ化される。次いで、サンプルにおける染色のパターンおよび強度は、蛍光顕微鏡法によって決定され、随意に写真によって記録される。

【０１５７】

また別の代替法として、コンピューター増強蛍光画像分析またはフローサイトメトリーが、本発明の抗ＰＳＭＡ抗体を使用して組織標本または剥離細胞（すなわち、腫瘍の吸引生検からの１細胞調製物）を試験するために、使用され得る。本発明の抗ＰＳＭＡ抗体は、生きている腫瘍細胞（すなわち、前立腺腫瘍の吸引生検からの１細胞調製物）のコンピューター増強蛍光画像分析機またはフローサイトメーターによる定量において、特に有用である。本発明の抗体は、良性前立腺腫瘍を悪性前立腺腫瘍と識別するようなアッセイにおいて特に有用である。なぜなら、抗ＰＳＭＡ抗体が結合するＰＳＭＡタンパク質は、良性前立腺腫瘍と比較して増加した量で悪性腫瘍によって発現されるからである。ＰＳＭＡ陽性細胞集団の百分率は、単独でまたはこれらの細胞の他の特質（例えば、これらの細胞のＤＮＡ倍数性）の決定に関連して、疾患進行の初期指標の提供により、非常に有用な予後情報をさらに提供し得る。

【０１５８】

また別の代替の実施形態において、本発明の抗体は、他の公知の抗体との組み合わせにおいて、癌の悪性表現型に関するさらなる情報を提供するために使用され得る。

【０１５９】

本発明の方法は、癌性細胞またはその部分の存在に関連した疾患に関して、患者の疾患をスクリーニングするために使用され得る。あるいは、本発明の方法は、特に、このような疾患が、患者の特定の生物学的物質に局在する場合、この疾患の再発を同定するために使用され得る。例えば、前立腺窩における前立腺疾患の再発は、根治的な前立腺切除後に遭遇され得る。本発明の方法を使用して、この再発を、哺乳類への短期放射性標識抗体の投与およびその後の直腸標識検出（例えば、直腸横断検出プローブ（ｔｒａｎｓｒｅｃｔａｌ　ｄｅｔｅｃｔｏｒ　ｐｒｏｂｅ）を用いる）によって検出し得る。

【０１６０】

あるいは、接触工程を、例えば、体液におけるＰＳＭＡの存在を検出するために、血清もしくは尿または他の体液（精液、前立腺液、射精された精液などが挙げられるが、これらに限定はされない）のサンプルにおいて、実行し得る。接触が、血清または尿のサンプルにおいて実行される場合、ＰＳＭＡ以外には血液内を循環する抗原を実質的に認識しない生物学的薬剤が、好ましい。インタクトな細胞は、ＰＳＭＡを細胞外環境に排出も分泌もしないため、血清、尿または他の体液におけるＰＳＭＡの検出は、一般に、細胞が溶解または脱落していることを示す。従って、本発明の生物学的薬剤および方法は、血清、尿

または他の体液におけるＰＳＭＡレベルをモニターすることによって、癌処置プロトコールの有効性を決定するために使用され得る。

【０１６１】

本発明による癌性細胞の検出方法の特に好ましい実施形態において、抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントは、このような細胞の前立腺特異的膜抗原に結合して内在化される。さらに、生物学的薬剤は、前立腺特異的膜抗原への生物学的薬剤の結合および内在化の際に、細胞またはその部分を検出させるのに効果的な標識に結合する。

【０１６２】

癌性細胞を検出するのに適した生物学的薬剤としては、抗ＰＳＭＡ抗体（例えば、モノクローナルまたはポリクローナル抗体）が挙げられる。さらに、抗体フラグメント、半抗体（ｈａｌｆ－ａｎｔｉｂｏｄｙ）、ハイブリッド誘導体、プローブ、および他の分子構築物が、利用され得る。これらの生物学的薬剤（抗体、その抗原結合性フラグメント、プローブ、またはリガンド）は、癌性細胞における前立腺特異的膜抗原またはその部分の細胞外ドメインに結合する。結果として、この生物学的薬剤は、固定された細胞またはそうでなければ細胞内抗原性ドメインが細胞外環境に露出される細胞のみにしか結合しないのではない。従って、生物学的薬剤の結合は、これらの細胞が固定されているかまたは固定されていないか、生存性かまたは壊死性かに拘わらず、前立腺細胞の存在する領域に集中する。さらにまたはあるいは、これらの生物学的薬剤は、正常細胞、良性増殖性細胞、およびずっと高い度合いで、癌性細胞において、前立腺特異的膜抗原またはその部分に結合し、そしてこれによって内在化される。

【０１６３】

抗体またはその抗原結合性フラグメントは、癌のインビボ治療において、利用され得る。抗体は、単独で、または結合体が投与されて局在化された後に悪性細胞もしくは悪性組織を殺傷しそして／もしくはこれらの増殖を阻害する化合物に対して直接的もしくはリンカー経由のどちらかで共有結合されて使用され得る。抗体が単独で使用される場合、抗体は、補体結合または抗体依存性細胞傷害性による腫瘍の破壊を仲介し得る。あるいは、抗体は、化学療法薬物との組み合わせで投与されて、相乗治療効果を生じ得る（ＢａｓｌｙａおよびＭｅｎｄｅｌｓｏｈｎ（１９９４）Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．ａｎｄ Ｔｒｅａｔｍｅｎｔ ２９：１２７－１３８）。種々の異なった型の物質（放射性金属同位体および放射性非金属同位体、化学治療薬物、毒素など、上で記載した、当該分野に公知の物質）が、治療用途のために、抗体に直接的に結合され得る（例えば、ＶｉｔｅｔｔａおよびＵｈｒ（１９８５）Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３：１９７を参照のこと）。

【０１６４】

本発明の抗体またはその抗原結合性フラグメントは、また、補体と共に投与され得る。従って、抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび血清または補体を含む組成物は、本発明の範囲内にある。これらの組成物は、補体が、ヒト抗体またはその抗原結合性フラグメントと近位に存在することにおいて、有利である。あるいは、本発明の抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび補体または血清は、別々に投与され得る。

【０１６５】

抗体は、免疫応答を誘導または増強する１つ以上の免疫刺激剤（例えば、ＩＬ－２）および、免疫刺激性オリゴヌクレオチド（例えば、ＣｐＧモチーフを含む）と共に投与され得る。好ましい免疫刺激剤は、抗体依存性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）を仲介するナチュラルキラー（ＮＫ）細胞のように、免疫系の特定のアームを刺激する。

【０１６６】

本明細書中で記載したＰＳＭＡダイマーのような抗原は、免疫応答を誘導または増強するために、１つ以上のアジュバントと共に投与され得る。アジュバントは、免疫応答を増強する物質である。多くの種類のアジュバントが、当該分野に周知である。アジュバントの特定の例としては、以下が挙げられる：モノホスホリルリピドＡ（ＭＰＬ，ＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ Ｂｅｅｃｈａｍ）；ＱＳ２１（ＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ Ｂｅｅｃｈａｍ）を

含むサポニン；免疫刺激性オリゴヌクレオチド（例えば、Ｋｒｅｉｇら，Ｎａｔｕｒｅ３７４：５４６－９（１９９５）に記載されるＣｐＧオリゴヌクレオチド）；不完全フロイントアジュバント；完全フロイントアジュバント；モンタニド（ｍｏｎｔａｎｉｄｅ）；ビタミンＥおよび生分解可能な油（スクアレンおよび／またはトコフェロール、クイルＡ（Ｑｕｉｌ　Ａ）、Ｒｉｂｉ　Ｄｅｔｏｘ、ＣＲＬ－１００５、Ｌ－１２１）から調製される種々の油中水型乳剤およびこれらの組み合わせ。

【０１６７】

被験体のＰＳＭＡマルチマー抗原への免疫応答を刺激する他の薬剤も、被験体に投与され得る。例えば、サイトカインも、そのリンパ球調節特性の結果として、ワクチン接種プロトコールにおいて有用である。このような目的に有用な多くのサイトカインは、当業者に公知である。このようなサイトカインとしては、以下が挙げられる：インターロイキン－２（ＩＬ－２）；ＩＬ－４；ＩＬ－５；ＩＬ－１２（これらは、ワクチンの保護効果を増強することが示されてきた（例えば、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２６８：１４３２－１４３４（１９９５）を参照））；ＧＭ－ＣＳＦ；ＩＬ－１５；ＩＬ－１８；これらの組み合わせなど。従って、サイトカインは、免疫応答を高めるために、抗体、抗原、ケモカインおよび／またはアジュバントと共に投与され得る。

【０１６８】

免疫応答を高めるために有用なケモカインとしては、ＳＬＣ、ＥＬＣ、ＭＩＰ３α、ＭＩＰ３β、ＩＰ－１０、ＭＩＧ、およびこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定はされない。

【０１６９】

本発明の抗体またはその抗原結合性フラグメントは、他の治療的処置様式と共に使用され得る。このような他の処置としては、外科、放射線照射、凍結外科、熱療法、ホルモン処置、化学療法、ワクチン、および他の免疫治療が挙げられる。

【０１７０】

予防のための抗体またはその抗原結合性フラグメントを使用する工程を包含する方法も、本発明に含まれる。例えば、これらの物質は、癌の発生または進行を防ぐためまたは遅らせるために、使用され得る。

【０１７１】

本発明の癌治療の使用は、多くの利益を有する。本発明に従う抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントは、優先的に前立腺癌細胞を標的にするため、他の組織は標的にされることを免れる。結果として、このような生物学的薬剤による処置は、とりわけ高齢の患者にとって、より安全である。本発明に従う処置は、特に効果的であることが期待される。何故なら、この処置は高レベルの抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントを、前立腺癌転移物が優勢である骨髄およびリンパ節に、直接導くからである。さらに、前立腺癌の腫瘍部位は、大きさが小さい傾向にあり、従って、細胞障害剤により容易に破壊される傾向にある。本発明に従う処置を、血清前立腺特異的抗原および／または患者の癌の病理学的特徴（病期、グリーソン評点、関節包外浸潤、精液浸潤、小疱浸潤または神経周囲の浸潤、リンパ節に含まれる陽性縁（ｐｏｓｉｔｉｖｅ　ｍａｒｇｉｎ）などが挙げられる）のような臨床的パラメータにより、効果的にモニターし得る。あるいは、これらのパラメータは、このような処置がいつ使用されるべきかを示すために使用され得る。

【０１７２】

本発明の抗体またはその抗原結合性フラグメントは生細胞に結合するので、これらの生物学的薬剤を使用した治療方法は、溶解細胞を標的にする治療法より、もっとずっと効果的である。同じ理由により、生きている正常細胞、良性増殖性細胞、または癌性細胞の局在を決定する、診断方法および画像化方法は、本発明の抗体またはその抗原結合性フラグメントの使用により、はるかに改善される。さらに、生細胞と死細胞とを区別する能力は、特に、特定の処置レジメンの有効性をモニターするために、有利であり得る。

【０１７３】

本発明の組成物および使用説明書を含むキットも、本発明の範囲内にある。このキットは、少なくとも１つの追加の（補体のような）試薬、または１つ以上の追加の本発明の抗体（例えば、ＰＳＭＡ抗原のエピトープに結合する相補的活性を有する抗体で、第一抗体と異なっている抗体）を、さらに含み得る。他のキットは、本明細書中の下で記載する、ＰＳＭＡマルチマーを含み得る。

【０１７４】

本発明の抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキットは、上で記載した免疫組織学的方法、免疫細胞学的方法および免疫血清学的方法による、癌のインビトロでの診断、予後および／またはモニタリングのために調製され得る。キットの構成要素は、水性媒質中でまたは凍結乾燥形態のどちらかで梱包され得る。抗体またはその抗原結合性フラグメントが、（酵素または放射性金属イオンのような）標識部分の結合した結合体の形態で、キットにおいて使用される場合、このような結合体の構成要素は、完全に結合体化した形態、中間体の形態、またはキットの使用者により結合体とされるべき別々の部分のいずれかにおいて供給され得る。

【０１７５】

キットは、試験管、バイアル、フラスコ、瓶、シリンジなどのような、１つ以上の容器手段または一連の容器手段を密閉した状態で受けるために区画分けされるキャリアを含み得る。第一のこの容器または一連の容器手段は、１つ以上の抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントまたはＰＳＭＡを、含み得る。第二の容器手段または一連の容器手段は、一次抗ＰＳＭＡ抗体（またはそのフラグメント）に結合し得る、標識またはリンカー標識中間体を含み得る。

【０１７６】

インビボにおける腫瘍の局在化および治療方法における使用のための、他の化合物または物質と結合化された、抗ＰＳＭＡ抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキットが、調製され得る。キットの構成要素は、水性媒質中または凍結乾燥形態のどちらかで梱包され得る。抗体またはその抗原結合性フラグメントが、キットにおいて、標識または治療的部分（例えば、放射性金属イオンまたは治療薬物部分）が結合されている結合体の形態で使用される場合、このような結合体の構成要素は、完全な結合体化形態、中間体の形態、またはキットの使用者により結合されるべき別々の部分のいずれかにおいて供給され得る。

【０１７７】

本発明の一局面（ＰＳＭＡの少なくとも１つの酵素活性を調節する方法）において、ＰＳＭＡの酵素活性は、インビトロまたはインビボにおける、以下からなる群から選択される：Ｎ－アセチル化α結合酸性ジペプチダーゼ（ＮＡＡＬＡＤａｓｅ）、フォレートヒドロラーゼ、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ、およびγ－グルタミルヒドロラーゼの活性、またはこれらの組み合わせ。調節は、ＰＳＭＡの少なくとも１つの酵素活性の増強または阻害であり得る。

【０１７８】

好ましい実施形態において、本発明は、ＰＳＭＡの少なくとも１つの酵素活性を阻害するための方法を提供する。この活性は、インビトロまたはインビボにおける以下からなる群から選択される：Ｎ－アセチル化α結合酸性ジペプチダーゼ（ＮＡＡＬＡＤａｓｅ）、フォレートヒドロラーゼ、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ、およびγ－グルタミルヒドロラーゼの活性、またはこれらの組み合わせ。この方法は、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ、フォレートヒドロラーゼ、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ、および／またはγ－グルタミルヒドロラーゼを、単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性フラグメントがＮＡＡＬＡＤａｓｅ、フォレートヒドロラーゼ、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ、またはγ－グルタミルヒドロラーゼの活性を阻害する条件下で、一定量の単離された本発明の抗体またはその抗原結合性フラグメントと接触させる工程を包含する。

【０１７９】

ＮＡＡＬＡＤａｓｅの組織レベルは、組織を界面活性剤で可溶化し、均質化し、不溶物

質を遠心分離によってペレットにし、残留上清におけるＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性を測定することによって決定され得る。同様に、体液におけるＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性も、細胞物質を遠心分離によって最初にペレットとする工程、および上清についてＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性の典型的な酵素アッセイを行う工程により、測定され得る。ＮＡＡＬＡＤａｓｅ酵素アッセイは、Ｆｒｉｅｄｅｎ（１９５９）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２３４：２８９１により、記載されている。このアッセイにおいて、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ酵素の反応産物は、グルタミン酸である。これは、この酵素が触媒したＮ－アセチルアスパルチルグルタメートの切断（Ｎ－アセチルアスパラギン酸およびグルタミン酸を生じる）に由来する。グルタミン酸は、ＮＡＤ（Ｐ）$^{+}$要求工程において、グルタメートデヒドロゲナーゼにより触媒される反応において、２－オキソグルタレートおよびＮＡＤ（Ｐ）Ｈを生じる。反応の進行は、ＮＡＤ（Ｐ）$^{+}$のＮＡＤ（Ｐ）Ｈへの変換による３４０ｎｍでの吸光度の変化により、容易かつ簡便に測定され得る。

【０１８０】

ＰＳＭＡのフォレートヒドロラーゼ活性を、Ｈｅｓｔｏｎ他により記載された酵素アッセイ（例えば、Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２（９）：１４４５－５１（１９９６）；Ｕｒｏｌｏｇｙ ４９（３Ａ Ｓｕｐｐｌ）：１０４－１２（１９９７））を行うことにより、測定し得る。ＰＳＭＡのようなフォレートヒドロラーゼは、ポリグルタメート化フォレートからγ－連結グルタメートを除去する。フォレートヒドロラーゼ活性を、メトトレキサートトリ－γグルタメート（ＭＴＸＧｌｕ３）、メトトレキサートジ－γグルタメート（ＭＴＸＧｌｕ２）およびプテロイルペンタグルタメート（ＰｔｅＧｌｕ５）のような基質を使用して、例えばキャピラリー電気泳動（Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．２（９）：１４４５－５１（１９９６）を参照）を使用して、測定し得る。ＰＳＭＡのポリグルタメート化基質との、時間を定めたインキュベーションに続けて、加水分解産物の分離と検出を行う。

【０１８１】

本発明は、選択的にＰＳＭＡマルチマーに結合する、単離された抗体またはその結合フラグメントも、含む。本明細書中で使用される場合、特に抗ＰＳＭＡ抗体および結合フラグメントによるＰＳＭＡマルチマーの結合に関して、「選択的結合」は、抗体がＰＳＭＡタンパク質モノマーよりも優先的にＰＳＭＡタンパク質マルチマーに（例えば、より高いアビディティおよび／またはより高い結合親和性で）結合することを意味する。好ましい実施形態において、本発明の抗体は、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーに対し、この抗体がＰＳＭＡモノマーに対して示すよりも、１．１倍、１．２倍、１．３倍、１．４倍、１．５倍、１．６倍、１．７倍、１．８倍、１．９倍、２倍、３倍、４倍、５倍、７倍、１０倍、２０倍、３０倍、４０倍、５０倍、７０倍、１００倍、２００倍、３００倍、５００倍、１０００倍またはそれより高いアビディティおよび／または結合親和性で結合する。好ましくは、抗体は、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーを選択的に結合し、ＰＳＭＡタンパク質モノマーは結合しない。すなわち、本質的に専らＰＳＭＡタンパク質マルチマーにだけ結合する。最も好ましくは、抗体は、選択的にＰＳＭＡタンパク質ダイマーを結合する。

【０１８２】

選択的にＰＳＭＡタンパク質マルチマーを結合する単離された抗体または結合フラグメントは、幾つかの実施形態において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーの酵素活性を制御し得る。このような一実施形態において、抗体は、少なくとも一酵素活性（ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、フォレートヒドロラーゼ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性、γ－グルタミルヒドロラーゼ活性、またはこれらの組み合わせ）を阻害する。別の実施形態において、抗体は、少なくとも一酵素活性（ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、フォレートヒドロラーゼ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性、γ－グルタミルヒドロラーゼ活性、またはこれらの組み合わせ）を増大する。

【０１８３】

ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、本明細書中で使用される場合、少なくとも２つのＰ

ＳＭＡタンパク質またはそのフラグメントのタンパク質複合体である。ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、全長ＰＳＭＡタンパク質（例えば、配列番号１）、組換え可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ、例えば、配列番号１のアミノ酸４４～７５０）およびマルチマーを形成する上述のＰＳＭＡのフラグメント（すなわち、ダイマーおよび／またはより高重合のＰＳＭＡマルチマーの形成に要求されるタンパク質ドメインを保有する）の種々の組み合わせから、構成され得る。好ましい実施形態において、マルチマーを形成する少なくとも１つのＰＳＭＡタンパク質は、組換え体の、可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ）ポリペプチドである。好ましいＰＳＭＡタンパク質マルチマーはダイマーであり、特に組換え可溶性ＰＳＭＡタンパク質から形成されるダイマーである。特に好ましい実施形態は、ｒｓＰＳＭＡホモダイマーである。

【０１８４】

本明細書中で言及されるＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、ネイティブのコンフォメーションを呈すると考えられ、好ましくは、このようなコンフォメーションを有する。特定の実施形態において、ＰＳＭＡタンパク質は、非共有的に互いに結合し、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーを形成する。例えば、下の実施例で記載されるように、ＰＳＭＡタンパク質は、非変性条件下で非共有的に結合し、ダイマーを形成することが発見された。

【０１８５】

ＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、ＰＳＭＡの活性を保有し得、望ましくは保有する。ＰＳＭＡ活性は、フォレートヒドロラーゼ活性、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性およびγ－グルタミルヒドロラーゼ活性のような、酵素活性であり得る。マルチマーのＰＳＭＡ活性を試験するための方法は、当業者に周知であり（Ｐｒｏｓｔａｔｅ Ｃａｎｃｅｒ：Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，ａｎｄ ｔｈｅ Ｎｅｗ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，Ｌ．Ｗ．Ｋ．Ｃｈｕｎｇ，Ｗ．Ｂ．ＩｓｓａｃｓおよびＪ．Ｗ．Ｓｉｍｏｎｓ（ｅｄｓ．）Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ（２０００）ｐｐ．３０７－３２６においてＯ’Ｋｅｅｆｅらにより論評される）、そのうちの幾つかは、本明細書中の下の実施例において記載される。

【０１８６】

特定の局面において、本発明は、１つ以上の単離された、本明細書中に記載するＰＳＭＡタンパク質マルチマー（ＰＳＭＡタンパク質ダイマーのようなマルチマー）を含む組成物も、含む。好ましい実施形態において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマー組成物は、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーを、少なくとも約１０％含む。他の実施形態において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマー組成物は、ＰＳＭＡタンパク質マルチマーを、少なくとも約２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９９％または９９．５％含む。好ましい実施形態において、ＰＳＭＡタンパク質マルチマー組成物は、本質的に純粋なタンパク質マルチマーを含み、本質的にＰＳＭＡモノマーを含まない。特定百分率のリストは、示される百分率の間の全ての示されていない百分率を推定により含むことが、理解される。

【０１８７】

ポリペプチド、タンパク質またはそれらのフラグメントに関して本明細書中で使用される場合、「単離された」は、そのネイティブな環境から引き離され、同定または使用に充分な量で存在することを意味する。タンパク質またはポリペプチドを言及する場合、「単離された」は、例えば以下を意味する：（ｉ）発現クローニングにより選択的に産生された、または（ｉｉ）クロマトグラフィーまたは電気泳動により精製された。単離されたタンパク質またはポリペプチドは、本質的に純粋であり得るが、純粋である必要はない。用語「本質的に純粋」は、タンパク質またはポリペプチドが、自然界またはインビボ系において見い出され得る他の基質を、その意図される使用に対し実際的な適切な範囲で、本質的に含有しないことを、意味する。本質的に純粋なポリペプチドは、当該分野に周知の技術により、産生される。単離されたタンパク質は、薬学的調製において、薬学的受容可能キャリアと混合され得るため、このタンパク質は、調製物の重量の小さな割合だけをなし得る。それでもなお、タンパク質は、生きている系において結合され得る物質（すなわち

他のタンパク質）から引き離され、単離される。

【０１８８】

ＰＳＭＡタンパク質のフラグメントは、好ましくは、ＰＳＭＡタンパク質の異なった機能的能力を保有するフラグメントである。フラグメントに保有され得る機能的能力としては、他のＰＳＭＡ分子の結合によるダイマーおよびより高重合のマルチマーの形成、抗体との相互作用、他のポリペプチドまたはそのフラグメントとの相互作用、および酵素活性が挙げられる。他のＰＳＭＡタンパク質フラグメント（例えば、配列番号１の他の組換え可溶フラグメント）は、その機能的特性に従って、選択され得る。例えば、当業者は、ＰＳＭＡフラグメントを組換え的に調製し得、これらのフラグメントを、下に例示する方法に従って試験し得る。

【０１８９】

ＰＳＭＡポリペプチドの改変は、典型的にＰＳＭＡポリペプチドをコードする核酸に対してなされ、そして、欠失、点変異、切断、アミノ酸置換、およびアミノ酸または非アミノ酸部分の追加を含み得る。あるいは、改変は、ペプチドに対して直接行われる（開裂、リンカー分子の追加、ビオチンのような検出部分の追加、脂肪酸の追加などによる）。改変は、全ＰＳＭＡアミノ酸配列またはその一部を含む融合タンパク質も、含む。

【０１９０】

一般に、改変ＰＳＭＡポリペプチドは、その生理学的活性に関わらないポリペプチドの特性を特異的に変えるために改変されたポリペプチドを、含む。例えば、システイン残基は、望まないジスルフィド結合を防ぐために、置換または欠失され得る。同様に、特定のアミノ酸は、発現系においてプロテアーゼによるタンパク分解を除くことにより、ＰＳＭＡポリペプチドの発現を増大するために、変えられ得る（例えば、ＫＥＸ２プロテアーゼ活性が存在する場合の酵母発現系における二塩基性アミノ酸残基）。

【０１９１】

改変は、ＰＳＭＡポリペプチドをコードする核酸分子を変えることにより、簡便に調製される。ＰＳＭＡポリペプチドをコードする核酸の改変は、好ましくはコード配列のアミノ酸読み取り枠を保存し、そして好ましくは、ハイブリダイズして二次構造（ヘアピンまたはループのような、改変ポリペプチドの発現に有害な構造）を形成しやすい領域を、核酸において作製しない。

【０１９２】

改変は、アミノ酸置換、またはＰＳＭＡポリペプチドをコードする核酸における選択された部位のランダム変異誘発による改変から選択される。それから、改変ＰＳＭＡポリペプチドは、発現され、１つ以上の活性（例えば、抗体結合、酵素活性、マルチマー安定性）を試験されて、どの変異が望ましい特性を有する改変ポリペプチドを提供するかを決定され得る。さらなる改変は、ポリペプチドのアミノ酸配列としては活性を示さないが、特定の宿主において好ましい翻訳のコドンを提供する、改変ＰＳＭＡポリペプチド（または非改変ＰＳＭＡポリペプチド）を提供し得る。例えばＥ．Ｃｏｌｉにおいて、好ましい核酸の翻訳のコドンは、当業者に周知である。また他の変異は、ポリペプチドの発現を増大させるＰＳＭＡコード配列またはｃＤＮＡクローンの非コード領域を提供する。改変ＰＳＭＡポリペプチドの活性は、改変ＰＳＭＡポリペプチドをコードする遺伝子を、細菌発現ベクター内または哺乳類発現ベクター内にクローン化し、このベクターを適切な宿主細胞に導入し、改変ＰＳＭＡポリペプチドを発現させ、そして本明細書中で開示されるＰＳＭＡの機能的能力を試験することにより、試験され得る。上述の手順は、当業者に周知である。

【０１９３】

当業者はまた、保存的アミノ酸置換がＰＳＭＡポリペプチドにおいて作られ、ＰＳＭＡポリペプチドとの機能的な等価物（すなわち、ＰＳＭＡポリペプチドの機能的能力を保有する改変ＰＳＭＡポリペプチド）を提供し得ることを理解する。本明細書中で使用されるように、「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸置換がなされたタンパク質の、相対的な電荷や大きさの特性を変えないアミノ酸置換を意味する。改変ＰＳＭＡポリペプチドは、ポ

リペプチド配列を変える、当業者に公知の方法（このような技術をまとめる参考文献（例えば、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｊ．Ｓａｍｂｒｏｏｋら，ｅｄｓ．，Ｓｅｃｏｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８９）またはＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌら，ｅｄｓ．，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ）において、見出し得る）に従って、調製され得る。模範的なＰＳＭＡポリペプチド機能的等価物は、配列番号１または組換え可溶性ＰＳＭＡポリペプチドのようなそのフラグメント（配列番号１のアミノ酸４４～７５０）の保存的アミノ酸置換を含む。アミノ酸の保存的置換は、以下の群の範囲内のアミノ酸の間に作られる置換を含む：（ａ）Ｍ、Ｉ、Ｌ、Ｖ；（ｂ）Ｆ、Ｙ、Ｗ；（ｃ）Ｋ、Ｒ、Ｈ；（ｄ）Ａ、Ｇ；（ｅ）Ｓ、Ｔ；（ｆ）Ｑ、Ｎ；および（ｇ）Ｅ、Ｄ。

【０１９４】

ＰＳＭＡポリペプチドにおける保存的アミノ酸置換は、典型的には、ＰＳＭＡポリペプチドをコードする核酸の交換により作られる。このような置換は、当業者に公知の種々の方法により、作られ得る。例えば、アミノ酸置換はＰＣＲ関連変異、部位関連変異誘発、またはＰＳＭＡポリペプチドをコードする遺伝子の化学的合成により、作られ得る。アミノ酸置換がＰＳＭＡポリペプチドの小さなフラグメントに合わせて作られた場合、置換は、ペプチドの直接合成により、作られ得る。ＰＳＭＡポリペプチドのフラグメントの機能的等価物の活性は、変えられたＰＳＭＡポリペプチドをコードする遺伝子を細菌発現ベクター内または哺乳類発現ベクター内にクローン化し、そのベクターを適切な宿主細胞に導入し、変更されたＰＳＭＡポリペプチドを発現させそして本明細書中に開示するＰＳＭＡポリペプチドの機能的能力を試験することによって試験され得る。

【０１９５】

本明細書中に記載するＰＳＭＡタンパク質マルチマーは、多くの用途を有し、幾つかは本明細書中に記載される。マルチマーは、ＰＳＭＡ酵素活性またはＰＳＭＡマルチマー形成（ｍｕｌｔｉｍｅｒｉｚａｔｉｏｎ）を調節する化合物を試験するために有効である。マルチマーは、ＰＳＭＡを選択的に結合する抗体（コンフォメーショナルエピトープに選択的な抗体、ＰＳＭＡモノマーではなくＰＳＭＡマルチマー結合に選択的な抗体、およびＰＳＭＡ酵素活性を選択的に調節する抗体）を単離するために使用され得る。マルチマーは、特にダイマーのＰＳＭＡは、ワクチン組成物として、ＰＳＭＡへの免疫応答を誘導または増加するためにも、使用され得る。

【０１９６】

ＰＳＭＡの酵素活性を選択的に調節する薬剤は、少なくとも１つのＰＳＭＡの酵素活性を阻害または増大する薬剤（ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性、フォレートヒドロラーゼ活性、ジペプチジルジペプチダーゼＩＶ活性、γ－グルタミルヒドロラーゼ活性、またはこれらの組み合わせのような薬剤）を含む。

【０１９７】

少なくとも１つのＰＳＭＡ酵素の酵素活性を調節する薬剤の候補をスクリーニングする方法が、本発明に従って提供される。この方法は、候補薬剤を単離されたＰＳＭＡタンパク質マルチマーと混合して反応混合物を形成する工程、これによってＰＳＭＡ酵素を候補薬剤と接触させる工程を、包含し得る。この方法は、ＰＳＭＡ酵素の基質を反応混合物に添加する工程、およびＰＳＭＡ酵素により基質から形成された産物の量を決定する工程も、包含する。このような方法は、化合物の自動化された、高処理スクリーニング（ｈｉｇｈ－ｔｈｒｏｕｇｈｐｕｔ ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ ｏｆ ｃｏｍｐｏｕｎｄ）に適応し得る。コントロールとの比較における、形成された産物量の減少は、ＰＳＭＡ酵素の少なくとも１つの酵素活性を阻害し得る薬剤を示す。コントロールとの比較における、形成された産物量の増加は、ＰＳＭＡ酵素の少なくとも１つの酵素活性を増大し得る薬剤を示す。ＰＳＭＡ酵素は、ＮＡＡＬＡＤａｓｅ、フォレートヒドロラーゼ、ジペプチジルジペプチ

ダーゼＩＶ、および／またはγ－グルタミルヒドロラーゼであり得る。ＰＳＭＡ酵素は、好ましくは組換え可溶性ＰＳＭＡを含むＰＳＭＡマルチマーであり、最も好ましくは、ネイティブなコンフォメーションにおいて非共有的に結合されたＰＳＭＡのダイマーである。

【０１９８】

反応混合物は、候補薬剤を含む。候補薬剤は、好ましくは、抗体、有機低分子化合物、またはペプチドであり、従って、コンビナトリアル抗体ライブラリー、コンビナトリアルタンパク質ライブラリー、または有機低分子ライブラリーから選択され得る。典型的に、複数の反応混合物が、異なった薬剤濃度で、種々の濃度に対する異なった反応を得るために、平行でアッセイを実行される。典型的には、これらの濃度のうち１つが、ネガティブコントロール（すなわち、薬剤濃度０またはアッセイ検出限界以下の薬剤濃度）を供する。

【０１９９】

候補薬剤は、多数の化学的クラスを含むが、典型的には、有機化合物、タンパク質または抗体（および抗原に結合するそのフラグメント）である。幾つかの好ましい実施形態において、候補薬剤は、有機低分子化合物であり、すなわち、５０より大きく約２５００未満、好ましくは約１０００未満、より好ましくは、約５００未満の分子量を有する。候補薬剤は、ポリペプチドおよび／または核酸との構造的相互作用に不可欠な、機能的化学的基を含む。典型的には、アミン基、カルボニル基、ヒドロキシル基、またはカルボキシル基、好ましくは、少なくとも２つの機能的化学的基、およびより好ましくは少なくとも３つの機能的化学的基を、含む。候補薬剤としては、１つ以上の上で同定された機能的基で置換された、環式炭素構造またはヘテロ環式炭素構造、および／または芳香族構造またはポリ芳香族構造が、挙げられ得る。候補薬剤は、ペプチド、糖類、脂肪酸、ステロール、イソプレノイド、プリン、ピリミジン、上記の誘導体または構造的類似体、またはこれらの組み合わせなどの、生物分子（ｂｉｏｍｏｌｅｃｕｌｅ）であり得る。

【０２００】

候補薬剤は、合成または天然化合物のライブラリーを含む、広い種類に渡る供給源から得られる。例えば、広い種類の有機化合物および生物分子のランダム合成および直接合成のための、以下に挙げられる多数の手段が、利用可能である：無作為化オリゴヌクレオチド、合成有機コンビナトリアルライブラリー、ランダムまたは非ランダムペプチドのファージディスプレイライブラリー、タンパク質または抗体のコンビナトリアルライブラリー、などの発現。あるいは、細菌性、真菌性、植物および動物抽出物の形状の天然化合物のライブラリーが、入手し得るか、または容易に産生される。さらに、天然ライブラリーまたは合成的に産生されたライブラリーおよび化合物は、従来の化学的、物理的、および生化学的手法を通じて、容易に改変され得る。さらに、公知の薬剤は、アシル化、アルキル化、エステル化、アミド化、などの直接のまたはランダムな化学的改変に供され得、その薬剤の構造的類似性が生成される。

【０２０１】

種々の他の試薬も、混合物に含まれ得る。これらとしては、塩、緩衝液、中性タンパク質（例えば、アルブミン）、界面活性剤など、最適なタンパク質－タンパク質結合および／またはタンパク質－薬剤結合を促進するために使用される試薬が、挙げられる。さらにこのような試薬はまた、反応組成物の非特異またはバックグラウンドの相互作用を減少させ得る。アッセイの効率を改善する他の試薬（プロテアーゼインヒビター、ヌクレアーゼインヒビター、抗菌剤など）も、使用し得る。

【０２０２】

上記の反応物質の混合物を、候補薬剤がＰＳＭＡ酵素と相互作用する条件下で、インキュベートする。組成物の添加の順序、インキュベーション温度、インキュベーション時間、および他のアッセイパラメータは、容易に決定され得る。このような実験は、アッセイの基本組成ではなく、単にアッセイの最適化を含むのみである。インキュベーション温度は、典型的には４℃と４０℃との間である。インキュベーション時間は、好ましくは、迅

速な高処理スクリーニングを促進するために最小化され、典型的には０．１時間と１０時間との間である。

【０２０３】

インキュベーション後、ＰＳＭＡ酵素活性の存在または非存在を、使用者に利用可能な任意の簡便な方法により、検出する。例えば、反応混合物は、ＰＳＭＡ酵素の基質を含み得る。好ましい基質および／またはＰＳＭＡ酵素の作用による産物を、検出し得る。基質は、通常、検出可能標識を含むか、または検出可能標識に結合される。直接検出を提供する標識（例えば、放射能、発光、光学密度、または電子密度など）または間接検出を提供する標識（例えば、ＦＬＡＧエピトープのようなエピトープタグ、西洋ワサビペルオキシダーゼのような酵素タグ）のような、広い種類の標識が使用し得る。標識は、基質に結合され得るか、または基質に組み込まれ得る。

【０２０４】

標識の性質または他のアッセイ構成要素に依存して、標識を検出するために、種々の方法が使用し得る。例えば、標識は、基質に結合している時に検出され得、または基質からの分離の後に検出され得る。標識は、光学または電子密度、放射性放出、非放射性エネルギー転移などを通じて直接検出され得、または抗体共役、ストレプトアビジン－ビオチン共役などを通じて間接に検出され得る。種々標識の検出方法は、当該分野で周知である。

【実施例】

【０２０５】

（材料と方法）

ＤＮＡ構造物。全ての選択されたＰＳＭＡ構造物を、Ｄｒ．Ｗ．Ｄ．Ｗ．Ｈｅｓｔｏｎにより提供されたヒトＰＳＭＡクローンｐ５５Ａ（Ｉｓｒａｅｌら，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５３：２２７－２３０（１９９３））から得た。この構成物を、哺乳類細胞においての高レベル発現および分泌のため、発現ベクターＰＰＩ４（Ｔｒｋｏｌａら，Ｎａｔｕｒｅ ３８４：１８４－１８７（１９９６））へサブクローニングした。組換え可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ）は、ＰＳＭＡの細胞外ドメイン全体と一致する（配列番号１（ＧｅｎＢａｎｋ ｐｒｏｔｅｉｎ加入番号ＡＡＡ６０２０９）のアミノ酸４４～７５０）。

【０２０６】

ｐｃＤＮＡプラスミド構造物：抗ＰＳＭＡ抗体１０．３、００６、０２６、０５１、０６９および０７７をコードする核酸分子を、プラスミドｐｃＤＮＡにクローン化した。クローニングプロトコールを、図１０に示す。可変領域増幅に使用したプライマー（配列番号：３３～３６、センスおよびアンチセンス）も、示す。抗ＰＳＭＡ抗体００６、０２６、０５１、０６９，０７７および１０．３のためのプラスミド構造物は、抗体重鎖をコードするヌクレオチド配列（配列番号：２～７；それぞれＰＴＡ－４４０３、ＰＴＡ－４４０５、ＰＴＡ－４４０７、ＰＴＡ－４４０９、ＰＴＡ－４４１１、ＰＴＡ－４４１３）または抗体軽鎖をコードするヌクレオチド配列（配列番号：８～１３；それぞれＰＴＡ－４４０４、ＰＴＡ－４４０６、ＰＴＡ－４４０８、ＰＴＡ－４４１０、ＰＴＡ－４４１２、ＰＴＡ－４４１４）を含む。プラスミド地図を、図１１～図２２に示す。

【０２０７】

ウェスタンブロット。細胞を、１ｍＭ ＥＤＴＡ、１％ ＮＰ－４０、１％ ＴｒｉｔｏｎＸ－１００、および５ｍｇ／ｍｌ アプロチニンを含有するＰＢＳ中で溶解し、細胞の残屑を、４℃で３０００ｇで３０分間の遠心分離により、除去した。溶解産物を、事前に５～２０％勾配ゲル上で分離し、ニトロセルロース膜にトランスファーした。得られたブロットを、事前に５％ 乳、０．０２％ ＳＤＳおよび０．１％ ＴｒｉｔｏｎＸ－１００を含有するＰＢＳ中でブロックし、ＭＡＢ５４４一次抗体（Ｍａｉｎｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）（２ｍｇ／ｍｌの濃度）と共にインキュベートした。３回の洗浄の後、ブロットを、ヤギ抗マウスＨＲＰ結合二次抗体（０．２ｍｇ／ｍｌの濃度）と共にインキュベートした。ブロットを、Ｒｅｎａｉｓｓａｎｃｅ ｃｈｅｍｉｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｃｅ ｓｙｓｔｅｍ（Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ）を使用して、可視化した。

【０２０８】
ＥＬＩＳＡ。細胞を、１ｍＭ　ＥＤＴＡ、１％　ＮＰ－４０、１％　ＴｒｉｔｏｎＸ－１００、および５ｍｇ／ｍｌ　アプロチニンを含有するＰＢＳ中で溶解した。得られた細胞膜を、９６ウェルプレート上にプレートし、滅菌フード中で一晩乾燥させた。それからプレートを、事前にカゼインおよびＴｗｅｅｎ－２０を含有するＰＢＳでブロックし、マウス血清またはハイブリドーマ上清を添加した（精製ＭＡＢ５４４（Ｍａｉｎｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）または標準として７Ｅ１１（Ｃｙｔｏｇｅｎ）を使用した）。ＰＢＳ中で洗浄した後、アルカリホスファターゼ結合二次抗体（サブクラス特異的）を、インキュベートし、その後ＰＢＳで洗浄した。それから、４０５ｎｍの波長の比色定量検出のために、ｐＮＰＰ基質を加えた。
【０２０９】
フローサイトメトリー。野生型３Ｔ３細胞またはＰＳＭＡ発現３Ｔ３細胞（条件ごとに10^6細胞）を、０．１％　NaN_3を含有するＰＢＳ中で洗浄した。それから、抗体または血清を加え（ＰＢＳ中１：１００希釈）、そして氷上で３０分間インキュベートした。ＰＢＳ＋０．１％　NaN_3中で洗浄後、細胞を、抗マウスＩｇＧ＋ＩｇＭ（Ｃａｌｂｉｏｔｅｃｈ）と共に、氷上で３０分間インキュベートした。細胞を、再びＰＢＳ＋０．１％　NaN_3中で洗浄し、フローサイトメトリーで分析した。
【０２１０】
（実施例１）
（ＰＳＭＡ上のコンフォメーショナルエピトープに対する一群のモノクローナル抗体（ｍＡｂｓ）の生成）
治療のための有力な候補を代表する一群の抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂを、作製した。簡潔には、ｍＡｂを以下のように生成した：ＢＡＬＢ／ｃマウスを、およそ３週間の間隔で、組換えＰＳＭＡで皮下的に免疫した。計４回の注射の後マウスを屠殺し、そして脾臓細胞を、ハイブリドーマを作製するための標準的技術を使用して、骨髄腫細胞株と融合させた。個々のハイブリドーマ上清を、ＥＬＩＳＡにより、ＬＮＣａＰヒト前立腺腫瘍細胞または全長ヒトＰＳＭＡを発現するように操作された３Ｔ３細胞（３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞）のいずれかに由来のＰＳＭＡとの反応性について、スクリーニングした。陽性クローンを、完全な３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞およびＬＮＣａＰ細胞との特異的反応性について、フローサイトメトリーにより、二次的にスクリーニングし、これにより、ネイティブの細胞表面ＰＳＭＡを認識し、従って、最大の治療可能性を有する抗体を選択した。
【０２１１】
ヒト抗体を産生する能力を有するマウス（ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ、Ａｂｇｅｎｉｘ；Ｍｅｎｄｅｚら，Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　１５：１４６（１９９７））を、週に１回または２回、5×10^6　ＬＮＣａＰ細胞（ミョウバンまたはＴｉｔｅｒｍａｘ　Ｇｏｌｄ（Ｓｉｇｍａ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏ．，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）で補強した）で、皮下的に免疫した。動物を、１０μｇの組換えＰＳＭＡタンパク質（タンパク質Ｇ磁気微小ビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ，Ａｕｂｕｒｎ，ＣＡ）上で免疫親和性捕捉した）で、２回追加免疫した。ＰＳＭＡ　ｍＡｂ　３．１１を、捕捉のために使用した。脾臓細胞を、ＮＳＯ骨髄腫細胞と融合させ、生じたハイブリドーマを、上のようにフローサイトメトリーによってスクリーニングし、ＰＳＭＡの細胞外部分と反応性である抗体を産生するクローンを検出した。あるクローン（１０．３（ＰＴＡ－３３４７））が、このような抗体を産生した。
【０２１２】
これらの方法は、細胞表面ＰＳＭＡ上のコンフォメーション特異的エピトープだけに反応するｍＡｂを、高い割合で生じさせた。図１に示すように、幾つかのｍＡｂ（ｍＡｂ　３．７、ｍＡｂ　３．９、ｍＡｂ　３．１１、ｍＡｂ　５．４およびｍＡｂ　１０．３）は、生きたＰＳＭＡ発現細胞に特異的に結合する（しかし、全てではない（ｍＡｂ　３．１２））。チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞株において発現された組換え可溶ＰＳＭＡタンパク質を使用して、さらに、これらのｍＡｂが、ＰＳＭＡの細胞外領域にお

けるエピトープに結合することを証明した。３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞溶解産物由来のネイティブＰＳＭＡを免疫沈降する能力についても、ｍＡｂを、試験した。フローサイトメトリ（図１）において陽性のｍＡｂは、免疫沈降（図２）においても効果的である一方、ｍＡｂ　３．１２は無反応であった。図３は、ＰＳＭＡコンフォメーションを認識する幾つかのＰＳＭＡ抗体による、非変性の全長ＰＳＭＡおよび組換え可溶ＰＳＭＡの認識を示す。これは、これらの方法が、ネイティブＰＳＭＡを効果的に認識するｍＡｂの優勢をもたらすことをさらに確認する。

【０２１３】

ｍＡｂを、変性ＰＳＭＡへの反応性について、ウェスタンブロット分析により、試験した（図４）。示した細胞およびサンプル（コントロール：３Ｔ３細胞、ＰＳＭＡ陰性ヒト前立腺細胞株ＰＣ－３およびＤＵ１４５、擬上清；ＰＳＭＡ陽性サンプル：ＰＳＭＡ発現３Ｔ３細胞、ＰＳＭＡ陽性ヒト前立腺細胞株ＬＮＣａＰ、ｒｓＰＳＭＡ陽性上清）由来の溶解産物を、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより分析し、電気ブロット（ｅｌｅｃｔｒｏ　ｂｌｏｔ）し、そして抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂ　３．１および抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂ　３．１２（それぞれ、ＡＴＣＣ特許寄託指定ＰＴＡ－３６３９およびＰＴＡ－３６４０）とプローブ結合させた。平行に試験した４つのｍＡｂ（３．７、３．８、３．９、３．１１）は、全長ｒｓＰＳＭＡタンパク質または分泌ｒｓＰＳＭＡタンパク質のどちらにも反応性を示さなかった。７Ｅ１１　ｍＡｂは、全長ｒｓＰＳＭＡを免疫沈降したが、分泌ｒｓＰＳＭＡは沈降しなかった。

【０２１４】

フローサイトメトリーおよび免疫沈降に反応性のｍＡｂ（ｍＡｂ　３．７、ｍＡｂ　３．９、ｍＡｂ　３．１１、ｍＡｂ　５．４およびｍＡｂ　１０．３）は、全て、ウェスタンブロット分析において無反応だった。これは、ｍＡｂは直鎖エピトープを認識しないことを示す。まとめると、このデータは、これらの５つのｍＡｂが、ＰＳＭＡの細胞外ドメインに存在するコンフォメーション特異的エピトープを認識することを、強く示唆する。コンフォメーショナルエピトープに対するｍＡｂは、代表的に、抗原についての最大の親和性および特異性を有するため、それらは、治療のための好ましい候補を代表する。

【０２１５】

特定の抗ＰＳＭＡ抗体の反応性を、表２に記載する：

【０２１６】

【表２－１】

表2: 抗PSMA抗体の特徴

mAb	反応性				エピトープ
	ELISA	フローサイトメトリ	IP	ウェスタン	
3.1	+	+	+	+	直鎖状、細胞外、ネイティブPSMA上に露出
3.7	+	+	+	-	コンフォメーショナル、細胞外
3.8	+	+	+	-	コンフォメーショナル、細胞外
3.9	+	+	+	-	コンフォメーショナル、細胞外
3.11	+	+	+	-	コンフォメーショナル、細胞外
3.12	+	-	-	+	直鎖状、細胞外、ネイティブPSMA上に露出せず
5.4	+	+	+	-	コンフォメーショナル、細胞外
7.1	+	-	-	+	直鎖状、細胞外、

【０２１７】

【表２－２】

					ネイティブPSMA上に露出せず
7.3	+	+	+	-	コンフォメーショナル、細胞外
10.3	+	+	+	-	コンフォメーショナル、細胞外
1.8.3	+	+		-	細胞外
A3.1.3	+	+		-	細胞外
A3.3.1	+	+		-	細胞外

これらのｍＡｂは、主にマウスＩｇＧ２ａアイソタイプ、マウスＩｇＧ２ｂアイソタイプおよびヒトＩｇＧ１アイソタイプ（強力なエフェクター機能を仲介するアイソタイプ）であることを、ＥＬＩＳＡにより決定した。多くの抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂが、何年にもわたって記載され、治療能力を評価されてきた（例えば、Ｌｉｕ，Ｈ．ら　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５７：３６２９－３６３４（１９９７）；Ｃｈａｎｇ，Ｓ．Ｓ．ら　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５９：３１９２－３１９８（１９９９）；Ｍｕｒｐｈｙ，Ｇ．Ｐ．ら　Ｊ　Ｕｒｏｌｏｇｙ　１６０：２３９６－２４０１（１９９８）を参照のこと）が、ＰＳＭＡの酵素活性を阻害したｍＡｂはなく、ＰＳＭＡ上のコンフォメーショナル抗原決定基を認識したｍＡｂは殆どなかった。

【０２１８】

（実施例２）

（抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂの産生）

これらのｍＡｂの治療能力を正確かつ量的に査定するため、ｍＡｂを、広範囲のインビトロおよびインビボでの特徴付けに適する量および質で、産生させる。簡潔には、ｍＡｂ分泌ハイブリドーマを、ローラー瓶（ｒｏｌｌｅｒ　ｂｏｔｔｌｅ）内で、ウシＩｇＧを除去した１０％　ＦＢＳ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を加えたＤＭＥＭ／Ｆ１２培地中で培養する。培養の産生期の間、週に２回の培地交換により、細胞を、約５×

10^6細胞／ｍｌに保つ。回収した培地を０．２２ミクロンフィルターを通した濾過により浄化し、そして精製まで－９５℃で保存した。約２５ｍｇ／Ｌの平均抗体発現レベルを与えるには、精製における損失を許容するため、抗体それぞれにおよそ３Ｌのローラー瓶上清が必要である。

【０２１９】

与えられたハイブリドーマ由来の培養上清を、プールし、プロテインＡセファロースアフィニティカラム（Ｐｒｏｔｅｉｎ Ａ Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ ａｆｆｉｎｉｔｙ ｃｏｌｕｍｎ）上にロードする。マウスＩｇＧ２ａ抗体、マウスＩｇＧ２ｂ抗体およびヒトＩｇＧ１抗体は、直接ロードするが、マウスＩｇＧ１抗体を含む上清は、結合を促進するため、ローディングの前に、ｐＨ８．５および１Ｍ ＮａＣｌに調整する。カラムの洗浄後、ｍＡｂを、低ｐＨ緩衝液で、１Ｍ Ｔｒｉｓ ｐＨ８．０を使用した画分に溶出する。溶出ピーク画分をプールし、ＰＢＳ緩衝液に対して透析し、５ｍｇ／ｍＬに濃縮し、そして滅菌アリコートにおいて－９５℃で保存する。全ての精製手順を、内毒素非含有緩衝液および衛生化クロマトグラフィーカラムを使用して実行する。精製ｍＡｂを、還元および非還元ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより純度について試験し、ＥＬＩＳＡによりＰＳＭＡ結合親和性について試験し、そしてｌｉｍｕｌｕｓアメーバ様細胞溶解産物アッセイ（ａｍｅｂｏｃｙｔｅ ｌｙｓａｔｅ ａｓｓａｙ）により内毒素レベルについて試験する。これらの手順は、慣用的に、「動物グレード」抗体を、＞９５％の純度で、および＜０．５内毒素単位／タンパク質ｍｇで、生じる。

【０２２０】

（実施例３）

（インビトロにおける非標識ｍＡｂの治療能力の評価）

精製ｍＡｂを、治療学的に関連した特徴（親和性、特異性、酵素阻害活性およびエフェクター機能を含む）について、一連のアッセイにおいて試験する。理想的な産物候補は、ナノモル濃度以下の濃度で、ＰＳＭＡに結合してＰＳＭＡ活性を阻害し、そしてＦｃ関連エフェクター機能を通して、強力な細胞殺傷を媒介する。

【０２２１】

最初に、ＰＳＭＡの細胞表面形態および分泌形態についてのｍＡｂの親和性を、それぞれフローサイトメトリーおよびＥＬＩＳＡによって測定する。フローサイトメトリアッセイにおいて、種々の量のｍＡｂを、ＦＡＣＳ緩衝液（１％ ＦＢＳおよび０．１％ NaN_3を含有するＰＢＳ）中の5×10^5 ３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞と共に２時間インキュベートし、結合を飽和させる。細胞を洗浄し、フローサイトメトリーによる結合ｍＡｂの検出のため、マウスＩｇＧに対するフィコエリトリン（ｐｈｙｃｏｅｒｙｔｈｒｉｎ）結合ヤギ抗体（ＩＣＮ／Ｃａｐｐｅｌ）と、共にインキュベートする。特異的結合は、親３Ｔ３細胞で観察される蛍光強度の減算により、算出される。

【０２２２】

ＥＬＩＳＡのために、ＣＨＯ細胞由来組換え可溶ＰＳＭＡタンパク質（ｒｓＰＳＭＡ，Ｐｒｏｇｅｎｉｃｓ，Ｔａｒｒｙｔｏｗｎ，ＮＹ）を、５０ｍＭ炭酸緩衝液（ｐＨ９．４）中で１μｇ／ｍｌに希釈し、そして９６ウェルＩｍｍｕｌｏｎ ＩＩマイクロタイタープレート上を１００μｌ／ウェルで、一晩４℃でコートする。それから、プレートを、５％ ＢＳＡ含有ＰＢＳ緩衝液で２時間ブロックする。ｍＡｂを、ＥＬＩＳＡ緩衝液（２％ ＢＳＡ、１％ ＦＢＳおよび０．５％ Ｔｗｅｅｎ２０を含有するＰＢＳ緩衝液）において、濃度の範囲で、室温で二時間加えた。プレートを洗浄し、マウスＩｇＧに対する西洋ワサビペルオキシダーゼ結合ヤギ抗体を、室温で１時間加える。再びプレートを洗浄し、そして、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン ジヒドロクロリド（ＴＭＢ）基質（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）を、ＥＬＩＳＡプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ，Ｓｕｎｎｙｖａｌｅ，ＣＡ）を使用した４５０ｎｍにおける比色定量の読み出しのために加える。

【０２２３】

（実施例４）

（ｍＡｂ交叉競合結合アッセイ）
与えられた群のｍＡｂが、ＰＳＭＡ上の別個のエピトープを認識するか、あるいは重複したエピトープを認識するかを同定するため、交叉競合結合アッセイを行う（Ｌｉｕ，Ｈ．ら　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　５７：３６２９－３６３４（１９９７））。このフローサイトメトリアッセイにおいて、ビオチン化試験ｍＡｂを、種々の濃度の非標識競合ｍＡｂの存在下および非存在下で、上に記載したように、３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞と共にインキュベートする。洗浄工程に続き、結合ビオチン化ｍＡｂの量を決定するために、フィコエリトリン結合ストレプトアビジンを加える。阻害の百分率は、非関連特異性のアイソタイプ適合ｍＡｂ存在下で観察される阻害に対して（０％阻害）および過剰の非標識試験ｍＡｂを使用して観察される阻害に対して（１００％阻害）、規定される。

【０２２４】
（実施例５）
（ＰＳＭＡ酵素活性におけるｍＡｂの効果）
ＰＳＭＡは、フォレートヒドロラーゼおよびＮ－アセチル化α結合酸性ジペプチダーゼ（ＮＡＡＬＡＤａｓｅ）の両方の酵素活性（腫瘍細胞の増殖と悪性化に影響し得る）を保有することが示されている（Ｈｅｓｔｏｎ，Ｗ．Ｄ．Ｗ．Ｐｒｏｓｔａｔｅ：Ｂａｓｉｃ　ａｎｄ　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ａｓｐｅｃｔｓ（Ｒ．Ｋ．Ｎａｚ，ｅｄ．）．ＣＲＣ　Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ：２１９－２４３（１９９７））。上で記載したｍＡｂの幾つか（ｍＡｂ　３．９、ｍＡｂ　５．４およびｍＡｂ　７．３）およびｍＡｂ　Ｊ５９１（ＡＴＣＣ＃ＨＢ－１２１２６）を、ＰＳＭＡ酵素活性を測定するための以前記載したアッセイを使用して、フォレートヒドロラーゼ調節活性について試験した（Ｐｉｎｔｏ，Ｊ．Ｔ．ら　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　２：１４４５－１４５１（１９９６））。

【０２２５】
簡潔には、フォレートヒドロラーゼ活性を、以下のように測定した。５０μＭ　メトトレキサートジ－γグルタメートおよび１０μｇ／ｍｌ　ｒｓＰＳＭＡ（抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂまたは非関連ｍＡｂと事前に混合したもの）を、１００μｌの容量のｐＨ４．５酢酸緩衝液中で２時間、３７℃でインキュベートした。Ｓｐｅｃｔｒａ　Ｐｈｏｒｅｓｉｓ　１０００（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｅｐａｒａｔｉｏｎ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＣＡ）上のキャピラリー電気泳動による、遊離のメトトレキサートのモノ－およびジ－γグルタメート形状の分離に先立ち、反応を、５分間の煮沸により停止した。種々のメトトレキサート誘導体を、その保持時間および３００ｎｍにおける吸光度に基づき、定量した。

【０２２６】
このデータは、ｍＡｂ　５．４が、精製ｒｓＰＳＭＡタンパク質の酵素活性およびＣ４－２細胞の溶解産物における酵素活性を、強力にブロックすることを示す。Ｃ４－２は、内在性ＰＳＭＡを発現するＬＮａＣＰ細胞株（ヒト前立腺癌株）のアンドロゲン非依存性誘導体である。Ｃ４－２細胞株に関するより詳説は、Ｏ’Ｋｅｅｆｅ　Ｄ．Ｓ．ら　Ｐｒｏｓｔａｔｅ　４５：１４９－１５７（２０００）において見出され得る。図７および図８は、ｒｓＰＳＭＡの２つの産生ロット（ｒｓＰＳＭＡ＃７およびｒｓＰＳＭＡ＃８）についての結果を提供する。Ｃ４－２細胞溶解産物についての結果を、図９に示す。これらの図は、４つの抗体（ｍＡｂ　３．９、ｍＡｂ　５．４、ｍＡｂ　７．３およびｍＡｂ　Ｊ５９１）のフォレートヒドロラーゼの酵素活性における効果を、ｒｓＰＳＭＡの２つの産生ロット中およびＣ４－２細胞溶解産物中に存在するフォレートヒドロラーゼによる、メトトレキサートジ－γグルタメート（ＭＴＸＧｌｕ２）からのグルタメートの切断の速度によって、図示する。ｍＡｂ　５．４の阻害効果に加え、ｍＡｂ　３．９も、フォレートヒドロラーゼ活性を阻害することが見出された。

【０２２７】
ＮＡＡＬＡＤａｓｅ活性アッセイのために、ｒｓＰＳＭＡタンパク質を、種々の量の抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂまたはコントロールｍＡｂと共に、５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ（ｐＨ７．４）、１ｍＭ　$CoCl_2$中で、１０分間３７℃でインキュベートし、その後、５０μｌの０

．６μＭ　Ｎ－アセチルアスパルチル－［^{3}Ｈ］グルタメートを添加する。１５分後、反応を、１ｍｌの１００ｍＭ　ＮａＰＯ$_{4}$の添加により、停止させる。開裂されたグルタメートを、イオン交換クロマトグラフィーにより基質から分離し、シンチレーション計数により検出する。それぞれの測定を、３連で行う。

【０２２８】

（実施例６）

（免疫組織化学による正常ヒト組織および悪性のヒト組織との反応性）

抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂを、免疫組織化学により、アビジン－ビオチンペルオキシダーゼ方法（Ｓｉｌｖｅｒ，Ｄ．Ａ．ら，Ｃｌｉｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　３：８１－８５（１９９７））を使用して、正常ヒト組織および悪性のヒト組織との反応性について、試験する。凍結組織またはパラフィン包埋組織を、使用し得る。パラフィン包埋組織切片を、脱パラフィンし、そして１％　Ｈ$_{2}$Ｏ$_{2}$との１５分間のインキュベーションにより、内在性ペルオキシダーゼ活性を、ブロックする。切片を、２％　ＰＢＳ－ＢＳＡ（Ｓｉｇｍａ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ，Ｓｔ　Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）中の１：１０希釈ウマ血清で、３０分ブロックし、その後、２％　ＰＢＳ－ＢＳＡ中の２μｇ／ｍｌ抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂと一晩インキュベーションする。洗浄後、切片をビオチン化二次抗体と共にインキュベートし、洗浄し、そしてアビジン：ビオチンペルオキシダーゼ複合体（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ，ＣＡ）（ＰＢＳ中１：２５希釈）と共に３０分間インキュベートする。洗浄後、切片を、０．０５％　ジアミノベンジジンテトラクロライド、０．０１％　Ｈ$_{2}$Ｏ$_{2}$、および０．５％　Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００を含有するＰＢＳにおける液浸により可視化する。ネガティブコントロール切片を、非関連特異性のアイソタイプ適合ｍＡｂと共にインキュベートする。ポジティブコントロールとして、７Ｅ１１（Ｃｙｔｏｇｅｎ、Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ，ＮＪ）（よく特徴付けられた抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂ）を使用する。

【０２２９】

（実施例７）

（抗体依存性細胞性細胞傷害性（ＡＤＣＣ））

ＡＤＣＣアッセイにおいて、ｍＡｂを、連続希釈し、^{51}Ｃｒ標識３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞またはヒトＰＳＭＡを発現するように操作されたヒト前立腺ＰＣ－３細胞（ＰＣ－３－ＰＳＭＡ細胞）と合わせる。ＮＫエフェクター細胞を、ＮＫ微小ビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃ）を使用して、リンパ節または脾臓から精製する。血清、ＮＫエフェクター細胞、および^{51}Ｃｒ荷標的細胞（^{51}Ｃｒ－ｌｏａｄｅｄ　ｔａｒｇｅｔ　ｃｅｌｌ）を、エフェクター細胞：標的細胞が１０：１、２０：１、および４０：１であるような比率で、共インキュベーションする。これをそれぞれの条件について、３連で行う。細胞を４～５時間、３７℃でインキュベートし、その後、上清を回収し、γ計数により^{51}Ｃｒ放出の測定を行う。特異的溶解の百分率は、アイソタイプ適合非特異的ｍＡｂの存在下で観察される阻害に対して（０％溶解）および１０％のドデシル硫酸ナトリウムを使用して観察される阻害に対して（１００％溶解）、決定される。

【０２３０】

（実施例８）

（補体媒介溶解（ＣＭＬ））

ＣＭＬのために、^{51}Ｃｒ荷３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞またはＰＣ－３－ＰＳＭＡ細胞を、標的細胞として供する。ｍＡｂの連続希釈を、ウサギ補体および標的細胞と、４～５時間３７℃で共インキュベートし、それぞれの条件を３連で行う。次に、上清を、回収し、そしてγカウンターで計数する。特異的溶解を、以前にＡＳＣＣアッセイデータについて行ったように、電算処理する。

【０２３１】

（実施例９）

（抗増殖効果）

これらの抗体の抗増殖効果を試験するため、抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂを、連続希釈し、ＬＮ

ＣａＰ、ＰＣ－３－ＰＳＭＡおよび親ＰＣ－３細胞と共に、対数増殖期において、インキュベートする。４時間、２４時間、および７２時間の間隔で、細胞を、除去し、そして密度および生存率（トリパンブルー染色およびＷＳＴ－１アッセイ（Ｒｏｃｈｅ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌｓ）により）について、分析する。

【０２３２】

（実施例１０）

（キレート化および放射性標識手順の最適化）

上の実施例において記載した手順を使用して同定した最も有望なｍＡｂを、動物における評価の前の標識後に、生化学的および生物学的な安定性および活性について最適化する。インビトロ実験における成功は、非標識のまたは同様に標識したアイソタイプコントロールｍＡｂよりも＞１０倍低い濃度で、ＰＳＭＡ発現腫瘍細胞を特異的に殺傷する、放射性標識ｍＡｂの同定として、定義される。

【０２３３】

好ましいα線放射同位体およびβ線放射同位体が、全て放射性金属であるため、それぞれのｍＡｂを、まず適切な金属キレート剤と結合体化させる。有望なインビボの安定性データおよびヒトの臨床試験における証明された使用に基づき、二官能性のキレート剤であるＣ－官能化トランスシクロヘキシルジエチレントリアミンペンタ酢酸（Ｃ－ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌｉｚｅｄ　ｔｒａｎｓ　ｃｙｃｌｏｈｅｘｙｌｄｉｅｔｈｙｌｅｎｅｔｒｉａｍｉｎｅｐｅｎｔａａｃｅｔｉｃ　ａｃｉｄ）（ｐ－ＳＣＮ－ＣＨＸ－Ａ”－ＤＴＰＡ）が、^{90}Ｙまたは^{213}Ｂｉのどちらかを抗体に結合させるために、好ましい薬剤である（Ｂｒｅｃｈｂｉｅｌ，Ｍ．Ｗ．ら　Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．１１６９－１１７０（１１９１））。このキレートの形態は、以前、Ｍｅｍｏｒｉａｌ－Ｓｌｏａｎ　Ｋｅｔｔｅｒｉｎｇ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｃｅｎｔｅｒにおいて進行中の試験で、ヒトにおいて７０用量より多くで試験されている（ＭｃＤｅｖｉｔｔ，Ｍ．Ｒ．ら，Ｊ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．４０：１７２２－１７２７（１９９９））。^{225}Ａｃのために、我々の初期の研究は、ｐ－ＳＣＮ－Ｂｚ－ＨＥＨＡ（１，４，７，１０，１３，１６－ヘキサアザシクロオクタデカン－Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’，Ｎ’’’’，Ｎ’’’’’－ヘキサ酢酸）と呼ばれる新規の二官能性キレート剤を試験する（Ｄｅａｌ，Ｋ．Ａ．ら　Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．４２：２９８８－２９９２（１９９９））。目的は、抗体結合体化およびキレート化比率を、収量および活性の標識を最大にする一方で、インビボ利用のために適した安定性を保持するように最適化することである。さらなるキレート剤も、Ｎ．Ｉ．Ｈおよび他の供給源から入手可能になるため、使用し得る。

【０２３４】

最初に、抗体を、大モル過剰のＥＤＴＡとの、ｐＨ＝５でのインキュベーションにより、金属非含有にする。ＥＤＴＡ、および抗体調製物から除かれた任意の金属を、連続的な緩衝液交換／透析を経由して除去し、ｐＨ＝５緩衝液を結合緩衝液と置換する（Ｎｉｋｕｌａ，Ｔ．Ｋ．ら　Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．２２：３８７－３９０（１９９５））。最適なキレート剤対抗体の比率を生じるが、免疫反応性を残す条件は、ＨＥＰＥＳ緩衝液（ｐＨ８．５）中の、抗体に対して４０倍モル過剰のキレート剤を使用する初期条件に関して、キレート剤：抗体比率、反応時間、温度、および／または緩衝化系を系統的に多様化することにより、同定される。抗体あたりのキレート結合数は、確立された分光光度方法（Ｐｉｐｉｎ，Ｃ．Ｇ．ら，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　３：３４２－３４５（１９９２））を使用して、決定される。

【０２３５】

^{90}Ｙおよび^{225}Ａｃ構築物については、標識効率を、直接測定する。^{213}Ｂｉについては、初期抗体構築物を、^{111}Ｉｎを使用して、キレート効率について試験し、この^{111}Ｉｎは、^{213}Ｂｉと同様のキレート化学的性質を有するが、より長い半減期（$t_{1/2}$＝３日）、即時利用可能性、および追跡可能γ線放射の有利性を有する。^{111}Ｉｎを使用して一旦最適化されると、^{213}Ｂｉについて、標識効率が決定される。

【０２３６】

放射性標識ｍＡｂを、１％ＨＳＡを可動相として使用するＢｉｏＲａｄ　１０ＤＧ塩除去カラムを通して精製し、そして、即時薄層液体クロマトグラフィー（ＩＴＬＣ）および／または高速液体クロマトグラフィ（ＨＰＬＣ）により、放射性核種の組み込み率を決定するために評価する（Ｚａｍｏｒａ，Ｐ．Ｏ．ら，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１６：３０６－３１１（１９９４））。ＩＴＬＣおよびＨＰＬＣは、純度の確立手段および低分子量の放射化学的不純度（すなわち、キレート化金属、コロイド、および遊離金属）の割合の同定手段を提供する。それぞれの可動相についての複製ＩＴＬＣ片を、展開し、乾燥させ、そして０．５マークのR_fで切断し、そしてγカウンターにおいて計数する。ＨＰＬＣ系は、オンラインのＵＶ吸収検出器および放射能検出器の両方を備える。ＨＰＬＣ溶出プロフィールは、放射能とタンパク質および低分子量種とを、溶出時間の関数として、直接的に相関させる。ＴＳＫ　ＳＷ３０００$_{XL}$カラム（ＴｏｓｏＨａａｓ，Ｍｏｎｔｇｏｍｅｒｙｖｉｌｌｅ，ＰＡ）を、使用し、タンパク質分子量標準の範囲を使用して計算する。

【０２３７】

（実施例１１：放射性標識したｍＡｂの親和性および免疫反応性）

いったん放射性標識した構築物を得、精製し、そして生化学的純度および放射化学的純度をアッセイするならば、生物学的活性が決定される。放射性構築物（ｒａｄｉｏｃｏｎｓｔｒｕｃｔ）の結合活性を、以前に記載されたような（Ｓｃｈｅｉｎｂｅｒｇ，Ｄ．Ａ．ら　Ｌｅｕｋｅｍｉａ　３：４４０～４４５（１９９１））全ＬＮＣａＰおよび３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞および／または膜分画を使用して得られた結合データのスキャッチャード分析によって実行する。

【０２３８】

キレート：抗体モル比と生物学的活性とを相関させるために、合成構築物の免疫反応性を評価する。簡単には、２ｎｇの標識したｍＡｂを３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞上で発現するような約２５倍の過剰のＰＳＭＡと共に培養する。０°Ｃでの３０分の培養後、細胞を遠心分離によって回収し、そして未結合のｍＡｂを含む上清を、さらに０°Ｃで３０分間新鮮な３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞に添加する。両セットの細胞を遠心分離し、そして２回冷ＰＢＳで洗浄する。細胞ペレット、上清および洗浄分画を、放射能について計数する。免疫反応性を、細胞ペレットにおける放射能を細胞ペレット、上清および洗浄分画における総放射能で割った量として定義する。

【０２３９】

（実施例１２：ｍＡｂの内在化）

放射性標識したｍＡｂの活性を、その内在率によって有意に調節し得る。細胞表面抗体抗原複合体の内在化を、^{111}Ｉｎ放射性標識した抗体構築物（Ｃａｒｏｎ，Ｐ．Ｃ．ら、Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　５２：６７６１～６７６７，１９９２）を使用して測定する。簡単には、５×10^5の３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞を様々な時間で３７°Ｃで^{111}Ｉｎ放射性標識した抗体と共に培養する。細胞をＰＢＳで洗浄し、そして細胞表面に結合した放射性標識構築物を１ｍｌの５０ｍＭグリシン／１５０ｍＭ　ＮａＣｌ（ｐＨ＝２．８）で除去する。総細胞関連放射能および酸耐性（内在化した）放射能を、内在化の速度を確認するためにγ計数によって決定する。ＰＳＭＡを発現しない親の３Ｔ３細胞を、非特異的な結合を決定するためのコントロールとして使用する。他の群（Ｓｍｉｔｈ－Ｊｏｎｅｓ　Ｐ．Ｍ．ら　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　６０：５２３７～５２４３，２０００）による以前の結果を基にして、１つ以上のｍＡｂ構築物との結合後のＰＳＭＡの有意な内在化を予想する。

【０２４０】

（実施例１３：インビトロ細胞傷害性研究）

いったん放射性免疫結合体の免疫反応性が確立されたならば、α標識したｍＡｂのインビトロ細胞傷害性の評価にとりかかった。およそ５０，０００の標的細胞（ＬＮＣａＰまたは３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞のいずれか）を９６ウェルプレート中で処理し、そして２４～９６時間後に分析した。^{225}Ａｃ標識した構築物（または^{213}Ｂｉ）に起因する細胞

死の定量化は、生存細胞による^{3}Ｈ－チミジンの取り込みを決定（Ｎｉｋｕｌａ，Ｔ．Ｋ．ら　Ｊ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．４０：１６６～１７６，１９９９）によって達成した。特異性を、コントロール細胞（ＰＳＭＡ陰性ヒト前立腺細胞株ＰＣ－３およびＤＵ－１４５、ならびにコントロール３Ｔ３細胞）、過剰な非標識抗体でのブロッキング、およびコントロール放射性結合体の使用によって決定した。

【０２４１】

次いで、抗体結合体濃度、特異的活性、および曝露時間の細胞傷害性効果を評価した。細胞傷害性を、１Ｍ　ＨＣｌ（１００％細胞死）および培地（バックグラウンド細胞死）で見出されるものに関して示した。$ＬＤ_{５０}$値を、細胞に結合した^{２２５}Ａｃ原子数の関数として細胞生存力をプロットすることによって計算した（ＭｃＤｅｖｉｔｔ，Ｍ．Ｒ．ら（１９９８）Ｅｕｒ．Ｊ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．２５：１３４１～１３５１（１９９８））。

【０２４２】

ＬＮＣａＰ－ＦＧＣ細胞の多細胞球を確立し、そしてインビトロで最小限の疾患を根絶するための放射性免疫治療（ＲＩＴ）の可能性を調査するために使用した。これらの３次元の球は、単層培養よりもより正確に組織構造を模倣し、従って固形腫瘍のより適切なモデル（Ｏ’Ｃｏｎｎｏｒ，Ｋ．Ｃ．Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．１６：４８６～４９３，１９９９）を提供する。ＬＮＣａＰ－ＦＧＣは、本来のＬＮＣａＰ細胞株のうちの急速に成長するクローンであり、そしてこの細胞を、液体重畳技術（ｌｉｑｕｉｄ　ｏｖｅｒｌａｙ　ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ）を使用して２００～６００μｍのサイズまで成長させた（Ｂａｌｌａｎｇｒｕｄ，Ａ．Ｍ．ら　Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５：３１７１ｓ～３１７６ｓ，１９９９）。より大きい球では、細胞の内部塊が壊死性になる一方で、外部縁は増殖性腫瘍細胞からなる。抗体の貫入性を、共焦点顕微鏡によって測定し、そして事前の結果は、抗ＰＳＭＡ抗体が４０～５０μｍの深さまで貫入すべきであることを示唆した（Ｂａｌｌａｎｇｒｕｄ，Ａ．Ｍ．ら　第７回　Ｃｏｎｆｅｒｅｎｃｅ　ｏｎ　Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｄｅｔｅｃｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ　ｏｆ　Ｃａｎｃｅｒ，Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ　ＮＪ，１９９８）。ＬＮＣａＰ標的細胞に対する^{２２５}Ａｃ－３．９のインビトロ細胞傷害性を、図２３中で示す。生存可能な$ＰＳＭＡ^{+}$ＬＮＣａＰ細胞のパーセンテージを、放射性結合体の活性の関数としてプロットした。非標識抗体の１００倍過剰量の添加を、特異性のついてのコントロールとして使用した。

【０２４３】

（実施例１４：ヒト前立腺癌のマウス異種移植片モデルにおける、非標識ｍＡｂおよび放射性標識したｍＡｂのインビボの効力の評価）

前述のアッセイにおいて試験に成功した抗体は、それらが治療用途に関して有用であることを示唆する有意な特異性および機能的特性を証明する。これらの放射性標識したｍＡｂ構築物および「裸の」ｍＡｂ構築物のうちで最も有望なものを、前立腺癌の最も利用可能なマウスモデルにおいて評価する。この研究では、確立された異種移植片モデルを使用し、ＬＮＣａＰヒト前立腺腫瘍細胞株を免疫無防備状態にあるヌードマウスに注射し、そして固形腫瘍を形成させ（Ｅｌｌｉｓ，Ｗ．Ｊ．ら　Ｃｌｉｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　２：１０３９～１０４８（１９９６））、次いでこの固形腫瘍を、放射性標識および非標識の抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂ構築物の両方で処置する。フォローオン研究でもまた、マウス異種移植片モデル、ＣＷＲ２２（ヒト前立腺癌の多くの重要な生物学的特徴を再産生する）を利用する。

【０２４４】

（ＬＮＣａＰ腫瘍細胞異種移植片モデル）

高親和性および高特異性を示す構築物を、生体分布分析および薬物動態分析のために、ＬＮＣａＰ腫瘍細胞異種移植片インビボモデル内へ取り込む。その好都合なキレート化学、放射能の半減期および追跡可能なγ放出に起因して、^{１１１}Ｉｎ標識された抗ＰＳＭＡ抗体をこれらの研究のために使用する。^{２１３}Ｂｉ、^{２２５}Ａｃ、^{１７７}Ｌｕおよび^{９０}Ｙ（治療的に関心のある核種である）の半減期に適切なように、時間点を評価する。標識

された放射性構築物（１～５μｇ）をヌードマウス（正常および腫瘍を有する）に静脈注射し、そしてこのマウスを、注射から５分後、１５分後、３０分後、６０分後、２時間後、４時間後、１８時間後、および２４時間後に屠殺する。血液および主要な器官を動物から取り出し、重量を測定し、そして組織１グラムあたりに注射されたパーセント放射能を決定する（Ｎｉｋｕｌａ，Ｔ．Ｋ．ら，Ｊ．Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．４０：１６６～１７６，１９９９）。過剰な非標識構築物の前注射によって、特異性を扱う。肉眼で見える腫瘍の容量および動物の生存率を実験の間中記録する。

【０２４５】

正常マウスおよび腫瘍を有するマウスに静脈内注射または腹腔内注射を介して投与する場合、投薬量範囲研究をまた、構築物の傷害性を決定するために実行する。これらの動物を、研究過程の間の傷害性副作用に関して、血液化学および理学的検査によって慣用的に試験する。さらなる評価のための血液および体組織を回収するために、研究の間および最後で、動物を屠殺する。以前のデータは、２５０μＣｉ／マウスの最大限近くまで許容された投薬量を証明し、そして総投薬量はそのレベル未満で維持される。

【０２４６】

いったん静脈内の生体分布および傷害性を証明するならば、腫瘍の放射線治療を評価する。抗腫瘍活性を評価するために、５頭のマウスの群に、１μｇ未満の放射性標識された抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂ構築物を腫瘍チャレンジ前およびチャレンジ後の両方で注射する。抗原陰性（ＲＡＪＩまたはＲＡＭＯＳ）異種移植片腫瘍もまた、コントロールとして使用する。他のコントロールは、（１）非標識の抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂ単独での処置および（２）過剰な非標識抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂ前処置の後、^{213}Ｂｉ、^{225}Ａｃ、^{177}Ｌｕおよび／または^{90}Ｙ標識した抗ＰＳＭＡで処置し、特異的な標的化をブロックする処置、を含む。

【０２４７】

腫瘍を有するマウスの群に、非標識の抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂ（等モル濃度で）および放射性標識した抗ＰＳＭＡのいくつかの用量レベルまたは同様に標識したアイソタイプコントロール抗体を注射した。腫瘍成長に対する効果を、経時的に評価する。治療群の間の統計的違いを、分散分析（ＡＮＯＶＡ）法を使用して決定し、そして動物の生存をカプラン－マイヤープロットを使用して示す。^{213}Ｂｉ、^{225}Ａｃ、^{177}Ｌｕおよび／または^{90}Ｙ標識した抗ＰＳＭＡ構築物の効能は、インビトロで得られたデータと相関係する。これらの実験の成功を、放射性標識したアイソタイプコントロールｍＡｂと比較した場合、有意（ｐ＜０．０５）に寿命を増加させそして／または腫瘍容量を減少させる能力として定義する。

【０２４８】

さらに、この腫瘍モデルを、放射性標識した抗体の注射前に非標識抗体とともに前投薬することが、放射性標識した抗体の腫瘍への送達を改善するか否かを試験するために使用する。５～１００μｇの非標識抗体の事前の単回の注射のありまたはなしで、腫瘍を有するマウスに１μｇ未満の放射性標識した抗ＰＳＭＡ抗体を注射する。数日後、腫瘍、正常組織、および血液における放射能分布の評価のために動物を屠殺する。非標識抗体との前投薬が、放射性標識した抗体の腫瘍への送達および標的化を改善する場合、このアプローチを応用し、そして傷害性および治療研究において最適化する。

【０２４９】

全生存に加えて、腫瘍移植後（１日目　対　３日目　対　７日目）の注射のタイミングの役割、投薬量（３～４用量レベルを使用する用量反応曲線）の役割、スケジュール（１回　対　１日あたりの注射で分割した複数回）の役割および処置（非標識抗ＰＳＭＡで前処置し、標的化をブロックする）の特異性を試験する。

【０２５０】

放射性標識した抗体の最大限許容用量、抗体活性、最適の投薬スケジュール（１回または複数回の注射）、および腫瘍サイズへの効果を扱うために、これらのインビボ研究を設計する。この研究の首尾よい完了によって、前立腺癌のＰＳＭＡ標的化α粒子放射性免疫

治療（ＲＩＴ）の実行可能性を決定が可能にされ、そして臨床的な発達に入るために最適な^{213}Ｂｉおよび／または^{225}Ａｃ標識した構築物を同定される。

【０２５１】

（ＣＷＲ２２マウス異種移植片モデル）

非標識形態、毒素標識した形態および／または放射性同位元素標識した形態において最も有望な抗ＰＳＭＡｍＡｂｓを、ＣＷＲ２２ヒト前立腺癌異種移植片マウスモデルにおいて試験する（Ｗａｉｎｓｔｅｉｎ，Ｍ．Ａ．ら，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５４：６０４９～６０５２（１９９４）；Ｎａｇａｂｈｕｓｈａｎ，Ｍ．ら Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５６：３０４２～３０４６（１９９６）；Ｐｒｅｔｌｏｗ，Ｔ．Ｇ．ら Ｊ Ｎａｔｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ ８５：３９４～３９８（１９９３））。このモデルは、アンドロゲン依存性、血清中のＰＳＡの測定レベルと腫瘍サイズとの間の関係、およびＰＳＭＡの高レベル発現を含むヒトの状態における多くの特徴を有する。アンドロゲンの中止に引き続いて、ＰＳＡレベルは、検出限界レベル近くまで減少し、そして腫瘍容量が減少する。後に、腫瘍は、アンドロゲン非依存性の新生物として再成長し、初期にはＰＳＡ中での上昇によって、そして後には測定可能な腫瘍成長によって顕在化する。アンドロゲン中止後、腫瘍は、種々の時間で再成長する。

【０２５２】

４週齢～６週齢のヌード無胸腺ＢＡＬＢ／ｃ雌マウスを、国立癌研究所（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ）－フレドリック癌センター（Ｆｒｅｄｅｒｉｃｋ Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｎｔｅｒ）から得、そして加圧して換気したケージングにおいて維持する。多くの側面で免疫不全である一方、これらのマウスは、ＡＤＣＣおよびＣＭＬの野生型レベルを媒介する。確立された腫瘍由来の細かく切り刻まれた腫瘍組織を再構成された基底膜と共に無胸腺マウスの側部の皮下組織へ注射することによって、ＣＷＲ２２腫瘍株を、動物において増殖させる（Ｍａｔｒｉｇｅｌ，Ｃｏｌｌａｂｏｒａｔｉｖｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｂｅｄｆｏｒｄ，ＭＡ）。血清アンドロゲンレベルを維持するために、腫瘍を受け入れる前に、マウスに１２．５ｍｇの徐放性テストロンステロンペレット（Ｉｎｎｏｖａｔｉｖｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａ，Ｓａｒａｓｏｔａ，ＦＬ）を経皮投与する。接種から３～４週間後に、およそ１．５×１．０×１．０ｃｍの腫瘍を測定する。アンドロゲンをペントバルビタール麻酔および徐放性テストロンステロンペレットの除去下での外科的去勢によって除去する。腫瘍サイズを、高さ、幅および深さのカリパス測定によって決定する。ＰＳＡ値を、尾採血後、マウスの血清についてＴａｎｄｅｍ－Ｒ ＰＳＡ免疫放射性測定アッセイ（Ｈｙｂｒｉｔｅｃｈ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）を使用して測定する。

【０２５３】

抗腫瘍活性を評価するために、５匹のマウス群に抗ＰＳＭＡ ｍＡｂまたは類似のアイソタイプコントロールｍＡｂを、５～１００μｇからの投薬量で注射する。単回用量 対１日あたりの分割した注射で複数回、をスケジュールする効果をまた、試験する。肉眼で見える腫瘍容量および動物の生存率を、実験の全体を通して記録する。治療群との間の統計学的差異を、分散分析（ＡＮＯＶＡ）方法を使用して決定し、そして動物の生存を、$p<0.05$の差異として規定した成功例の、カプラン－マイヤープロットを使用して示す。同様に、「裸」のｍＡｂの効果を^{90}Ｙ、^{177}Ｌｕ、^{213}Ｂｉおよび／または^{225}Ａｃ標識化抗ＰＳＭＡ構築物で見出されるものと比較する。

【０２５４】

ｍＡｂの最大耐性用量、抗体の活性、最適投薬量および投薬スケジュール（１回または複数回に分割した注射）、ならびに腫瘍サイズにおける処置の効果にとりかかるために、これらのインビボ研究を設計する。本研究の首尾よい完了によって、前立腺癌のＰＳＭＡ標的化免疫治療の実行可能性および臨床的発達に入るための最適構築物の同定を決定し得る。

【０２５５】

（実施例１５：ネイティブＰＳＭＡタンパク質コンフォメーションの研究）

（ＬＮＣａＰおよび３Ｔ３細胞の細胞表面からのＰＳＭＡの抽出）
ＬＮＣａＰおよび３Ｔ３細胞を、コンフルエントまでＴ１５０細胞培養フラスコにおいて増殖させ、細胞解離液（Ｍｅｄｉａｔｅｃｈ，Ｈｅｒｎｄｏｎ，ＶＡ）を使用して剥離し、そして１５ｍｌの円錐形チューブに移した。この細胞を、ＰＢＳで２回洗浄し、そして２ｍｌのＭ－Ｐｅｒ^{TM}哺乳動物タンパク質抽出試薬（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）で再懸濁した。１０分間４°Ｃでインキュベートした後、細胞破片および不溶性の凝集塊を１５，０００ｒｐｍで３０分間４°Ｃでの遠心分離によって除去した。上清を低温バイアルに移し、そしてさらなる使用まで－８０°Ｃで保存した。

【０２５６】

（組み換え、可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ）の産生および精製）
ＰＳＭＡの細胞外ドメイン（全長タンパク質（配列番号１）のアミノ酸４４～７５０））を、ＤＸＢ１１チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞株（ｒｓＰＳＭＡ発現ベクターで安定にトランスフェクトした）から分泌されたタンパク質として回収した。この細胞を、タンパク質を含まない培地中でＣｅｌｌｉｇｅｎ Ｐｌｕｓ ２．２Ｌ Ｐａｃｋｅｄ Ｂｅｄ Ｂｉｏｒｅａｃｔｏｒ（Ｎｅｗ Ｂｒｕｎｓｗｉｃｋ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｅｄｉｓｏｎ，ＮＪ）において増殖させた。Ｂｉｏｒｅａｃｔｏｒを、灌流モードで運転し、そして上清を、４°Ｃに維持された回収バック内に無菌的に回収した。プロテアーゼインヒビター、アプロチニンを回収した上清（－９０°Ｃでの保存前に２５倍に濃縮した）に添加した。精製のために、この濃縮物を解凍し、そしてコンカナバリンＡレクチンアフィニティクロマトグラフィーおよびブチルセファロース疎水的相互作用クロマトグラフィーの引き続く工程を使用して精製した。精製したタンパク質を、１０ｍＭリン酸カリウム（ｐＨ７．０）に対して透析した。精製したｒｓＰＳＭＡタンパク質はダイマーであり、そして公開された手順（Ｐｉｎｔｏら，Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２：１４４５，１９９６）に従って試験される場合、フォレートヒドロラーゼ活性を有し、そしてコンフォメーション特異的モノクローナル抗体のパネルの各々と反応し、これはｒｓＰＳＭＡがネイティブコンフォメーションを採用することを示す。

【０２５７】

（異なるＰＳＭＡタンパク質のポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＰＡＧＥ）およびウエスタンブロッティング）
各個々のＰＡＧＥ分析のために、１５μｌの各細胞溶解物および５μｌの精製したｒｓＰＳＭＡを使用した。

【０２５８】

ＳＤＳ－ＰＡＧＥを、標準的な手順を使用して実行した。サンプルをＬａｅｍｍｌｉサンプル緩衝液（還元剤ジチオトレイトール［ＤＴＴ］を含むまたは含まない）の存在下で５分間煮沸することで調製した。次いで、サンプルを、４～１５％Ｔｒｉｓ－グリシンゲル（ＢｉｏＲａｄ，Ｈｅｒｃｕｌｅｓ，ＣＡ）に適用した。１時間２００Ｖでの泳動後、タンパク質をニトロセルロース（ＢｉｏＲａｄ）上に移し、そしてウエスタンブロッティングによって分析した。

【０２５９】

異なるＰＳＭＡタンパク質のオリゴマーの性質を、ブルーネイティブＰＡＧＥ（ＢＮ－ＰＡＧＥ）を使用して分析した。各サンプルを、ゲル上にロードする前に、等量の２×ＢＮ－ＰＡＧＥサンプル緩衝液（０．１Ｍ ＭＯＰＳ／０．１ＭＴｒｉｓ／４０％グリセロール／０．１％クマシーＧ－２５０）で希釈した。ＢＮ－ＰＡＧＥを、４～１２％Ｂｉｓ Ｔｒｉｓゲル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）および泳動緩衝液として５０ｍＭ ＭＯＰＳ／５０ｍＭ Ｔｒｉｓ（ｐＨ７．７）を使用して実行した。クマシーブルーは、タンパク質をニトロセルロースに移す間に、結合したタンパク質との干渉を避けるために、カソード緩衝液から除外した。２．５時間の１２５Ｖでの泳動に引き続いて、タンパク質をニトロセルロース膜（ＢｉｏＲａｄ）に移し、そしてウエスタンブロッティングによって分析した。

【０２６０】

ウエスタンブロッティングを以下のように実行した：転移に続いて、ニトロセルロース膜を、ＰＢＳ／０．１％Ｔｒｉｔｏｎ Ｘ－１００／０．０２％ ＳＤＳ中の５％ミルク（これは、後に続く洗浄および抗体インキュベート工程に関してもまた使用される）でブロックした。ＰＳＭＡタンパク質を、１次抗体として抗ＰＳＭＡ mＡｂ３．１または３．９（Ｐｒｏｇｅｎｉｃｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）および２次抗体としてＨＲＰ標識化抗マウスＩｇＧを使用し、そして１時間室温でインキュベートすることで検出した。膜を、化学発光（ＮＥＮ Ｐｌｕｓ，Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ）を使用して比色定量的に現像した。

【０２６１】

（結果）

全長ＰＳＭＡおよび組み換えの可溶性ＰＳＭＡ（ｒｓＰＳＭＡ）の両方が、約１００ｋＤａの分子量を有して還元性ＳＤＳ－ＰＡＧＥおよび非還元性ＳＤＳ－ＰＡＧＥ上を移動する（図５）。全長ＰＳＭＡについての結果は、以前の観察（Ｉｓｒａｅｌｉら，米国特許第５，５３８，８６６号；Ｍｕｒｐｈｙら，米国特許第６，１５８，５０８号；Ｉｓｒａｅｌｉ，ら，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５４：１８０７，１９９４；Ｔｒｏｙｅｒら，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ６２：５５２，１９９５；Ｔｒｏｙｅｒら，Ｔｈｅ Ｐｒｏｓｔａｔｅ ３０：２３３，１９９７：Ｇｒａｕｅｒら，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５８：４７８７，１９９８）と一致する。これらの報告の各々において、全長のＰＳＭＡは、報告（米国特許第６，１５８，５０８号；Ｔｒｏｙｅｒら，１９９５；Ｔｒｏｙｅｒら，１９９７）のサブセットにおいて観察される重要でない１８０～２００ｋＤａのバンド（代表的には総ＰＳＭＡタンパク質の５％未満）を伴って、１００～１２０ｋＤａの主要なバンドとして移動した。Ｔｒｏｙｅｒら（１９９５）は、ＳＤＳ界面活性剤の濃度の増加で粉砕され得るＰＳＭＡダイマーと非共有結合的に関連するとして、１８０～２００ｋＤａの種について記載する。

【０２６２】

ｒｓＰＳＭＡは、全長ＰＳＭＡに存在するアミノ酸の９４％（７５０のうちの７０７）を含み、そして２つのタンパク質は、予想されるように、この分析において明らかに分離されない。

【０２６３】

ＳＤＳ－ＰＡＧＥは、変性したタンパク質のみの分析を可能にする。ネイティブな状態におけるネイティブなタンパク質を試験するために、ブルーネイティブＰＡＧＥ（ＢＮ－ＰＡＧＥ）のような他の技術を実行しなければならない。ＢＮ－ＰＡＧＥを、タンパク質のネイティブな分子量およびその非共有結合的な複合体（Ｓｃｈａｅｇｇｅｒおよびｖ．Ｊａｇｏｗ，Ａｎａｌ Ｂｉｏｃｈｅｍ．１９９：２２３～２３１，１９９１；Ｓｃｈａｅｇｇｅｒら，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２１７：２２０～２３０，１９９４）を決定するために使用する。色素クマシーブルーＧ－２５０は、ほとんどのタンパク質の表面上の疎水性ドメインに結合し、可溶性を増強し、そしてネイティブタンパク質に関して電荷シフト（タンパク質の等電点に関係なくｐＨ７．５での正極方向への移動を生じる）を導入する。ＢＮ－ＰＡＧＥ中でのタンパク質の移動速度は多少変更するが、タンパク質の分子質量を、ゲル中に存在するアクリルアミド勾配の孔サイズの減少に起因して、それぞれ移動の終点によって決定し得る。

【０２６４】

ＢＮ－ＰＡＧＥで分析した場合、全長ＰＳＭＡ（ＬＮＣａＰまたは３Ｔ３細胞から抽出される）および精製されたｒｓＰＳＭＡは、約１９０ｋＤａの分子量を有して移動する（図６）。全長ＰＳＭＡに関してこの驚くべき観察は、細胞表面ＰＳＭＡの優勢な形態が、ダイマーと非共有的な結合に関連することを示す。この予想外の結果は、以前の報告（米国特許第６，１５８，５０８号；Ｔｒｏｙｅｒら １９９５；Ｔｒｏｙｅｒら，１９９７）（ＰＳＭＡダイマーがＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析における重要でない種を示す）のものとは対比され得る。おそらく、非共有結合的なＰＳＭＡダイマーを、変性界面活性剤ＳＤＳの存在下での煮沸によって大部分を解離させる。

【０２６５】
さらに、精製したｒｓＰＳＭＡタンパク質についての結果は、ｒｓＰＳＭＡに存在しないこのダイマーが、膜貫通セグメントまたは細胞内セグメントにおけるアミノ酸に加えて、またはこれらを除いて、細胞外アミノ酸間の相互作用を介して安定化されることを示す。

【０２６６】
（実施例１６：ＰＳＭＡマルチマーの解離）
ＰＳＭＡは、推定の亜鉛メタロプロテアーゼ（ｍｅｔａｌｌｏｐｒｏｔｅａｓｅ）であり、そして亜鉛結合に関係するアミノ酸の部位特異的変異誘発は、酵素活性の著しい消失を生じる（Ｓｐｅｎｏら，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，５５：１７９，１９９９）。これらのアミノ酸としては、Ｈｉｓ－３７７、Ａｓｐ－３８７、Ｇｌｕ－４２５、Ａｓｐ－４５３およびＨｉｓ－５５３が挙げられる。エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）は、Zn^{2+}および他の２価陽イオンに対する強キレート剤であり、従ってＰＳＭＡからZn^{2+}または他の同等な２価陽イオンを除去する可能性を有する。本発明者らは、ＥＤＴＡ処理がＰＳＭＡホモダイマーにモノマーサブユニットへの解離を引き起こさせることを決定づける。類似の結果が、エチレングリコールビス（β－アミノエチルエーテル）（ＥＧＴＡ）のような類似のキレート特性を有する他の薬剤について予測され得る。

【０２６７】
精製したｒｓＰＳＭＡタンパク質を、１０ｍＭＥＤＴＡを含むかまたは含まないで、１６時間４℃でインキュベートし、次いでＢＮ－ＰＡＧＥによって分析した。これらの条件下で、ｒｓＰＳＭＡが、ＥＤＴＡの非存在下でダイマーのままであったのに対して、ＥＤＴＡ処理したタンパク質は、モノマーであった。ＰＳＭＡダイマーのモノマーへの解離は、本質的に完了したが、所望される場合、任意の残存ダイマータンパク質を、ゲル濾過、超遠心分離または当業者に周知の他のサイズベースの分離方法によって除去し得る。

【０２６８】
（実施例１７：ＰＳＭＡ解離の促進物を同定するための方法）
以下の工程を包含する方法を使用してＰＳＭＡダイマーの解離を促進する能力について、化合物をスクリーニングする：
（ａ）ＰＳＭＡダイマーと化合物とを、この化合物の非存在下でＰＳＭＡダイマーの解離を促進させない条件下で、接触させる工程；
（ｂ）ＰＳＭＡモノマーの量を測定する工程；および
（ｃ）この化合物の存在下で測定したＰＳＭＡモノマーの量とこの化合物の非存在下で観察したＰＳＭＡモノマーの量とを比較する工程。

【０２６９】
化合物の存在下で測定したＰＳＭＡモノマーの量の増加は、この化合物がＰＳＭＡダイマーの解離を促進し得ることを示す。

【０２７０】
さらなる実施形態において、以下の工程を包含する方法を使用してＰＳＭＡダイマーの解離を促進する能力について、化合物をスクリーニングする：
（ａ）ＰＳＭＡダイマーと化合物とを、この化合物の非存在下で、ＰＳＭＡダイマーの解離を促進させない条件下で、接触させる工程；
（ｂ）ＰＳＭＡダイマーの量を測定する工程；および
（ｃ）この化合物の存在下で測定されたＰＳＭＡダイマーの量とこの化合物の非存在下で観察したＰＳＭＡダイマーの量とを比較する工程。

【０２７１】
化合物の存在下で測定したＰＳＭＡダイマーの量の減少は、この化合物がＰＳＭＡダイマーの解離を促進し得ることを示す。

【０２７２】
さらなる実施形態において、以下の工程を包含する方法を使用して、ＰＳＭＡダイマー

の解離を促進する能力について、化合物をスクリーニングする：
（ａ）ＰＳＭＡダイマーと化合物とを、この化合物の非存在下で、ＰＳＭＡダイマーの解離を促進させない条件下で、接触させる工程；
（ｂ）ＰＳＭＡモノマーおよびＰＳＭＡダイマーの量を測定する工程；
（ｃ）ＰＳＭＡモノマー　対　ＰＳＭＡダイマーの比を計算する工程；および
（ｄ）（ｃ）で得た比とこの化合物の非存在下で得た比とを比較する工程。
【０２７３】
この化合物の存在下で測定した比の増加は、この化合物がＰＳＭＡダイマーの解離を促進し得ることを示す。
【０２７４】
（実施例１８：細胞表面へのＰＳＭＡ結合研究）
（フローサイトメトリー）
親の３Ｔ３細胞またはＰＳＭＡ発現３Ｔ３細胞（１条件あたり２×１０^{5}細胞）を、ＰＢＳ中で洗浄し、そして非特異的な結合部位をブロックするためにヤギ血清（１０％　ｖ／ｖ）を含むＰＢＳとともに２０分間氷上でインキュベートした。抗ＰＳＭＡモノクローナル抗体（上清中の未精製形態または精製したｍＡｂ）を、１００μｌ　ＰＢＳ中の細胞に段階希釈して添加し、そして氷上で３０分間インキュベートした。コントロールの抗ヒトＩｇＧ（Ｃａｌｔａｇ，Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ，ＣＡ）を、バックグラウンド結合を確立するために使用した。ＰＢＳ中での２回の洗浄後、細胞を、抗ヒトＩｇＧ（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）とともに３０分間氷上でインキュベートした。細胞を、ＰＢＳ中で２回洗浄し、２５０μｌのＰＢＳにおいて再懸濁し、そしてＦＡＣＳｃａｎ装置（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ，Ｆｒａｎｋｌｉｎ　Ｌａｋｅｓ，ＮＪ）およびＣｅｌｌＱｕｅｓｔソフトウエアを使用するフローサイトメトリによって分析した。生存細胞を、前方散乱パラメータおよび側方散乱パラメータによってゲートし、そして結合を、平均蛍光強度（ＭＦＩ）レベルのヒストグラムプロットを使用して定量化した。
【０２７５】
抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂｓ　ＸＧ－００６（ＰＴＡ－４４０３およびＰＴＡ－４４０４、重鎖プラスミドおよび軽鎖プラスミド）、ＸＧ－０５１（ＰＴＡ－４４０７およびＰＴＡ－４４０８）、４．４０．１（ＰＴＡ－４３６０；４．４０、４．４０．１および４．４０．２は、ハイブリドーマをサブクローニングする異なる段階を示す、同じ抗体である）、４．４９．１、４．２９２．１（ＰＴＡ－４３９０）および４．３０４．１は、細胞表面ＰＳＭＡに強く結合することが見出された（図２４）。
【０２７６】
（最大結合）
フローサイトメトリデータ（平均蛍光強度　対　抗体濃度）を移し、そしてＥｘｃｅｌソフトウエア（Ｍｉｃｒｏｓｏｆｔ，Ｒｅｄｍｏｎｄ，ＷＡ）を使用してプロットした。少なくとも３回の測定の典型的な実験からの結果を、図２５Ａ～２５Ｃに示す。結合を、Ｅｘｃｅｌ中のＦｏｒｅｃａｓｔ機能を使用して、５０％有効濃度（ＥＣ５０）の計算によって比較した。ＥＣ５０値は、最大値の半分の結合に必要とされる抗体濃度を示す。
【０２７７】
抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂ　１０．３（ＰＳＭＡ　１０．３）およびＸＧ－００６が、３Ｔ３－ＰＳＭＡ細胞に結合し、そして３Ｔ３細胞に結合しないことを見出した（図２５Ａ）。抗体（２６ｍＭ）を細胞に添加し、これをフローサイトメトリーによって分析した。抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂを含むＸＧ－００６、４．３０４．１，ＸＧ－０２６（ＰＴＡ－４４０５およびＰＴＡ－４４０６）および４．４９．１の培養上清の段階希釈を使用する細胞表面ＰＳＭＡへの結合をまた、証明した（図２５Ｂ）。精製した抗ＰＳＭＡ　ｍＡｂ　ＸＧ－００６および１０．３の段階希釈を使用する細胞表面ＰＳＭＡへの結合を、図２５Ｃによって示す。
【０２７８】

（実施例１９：毒素標識した抗体の細胞傷害性）

ＰＳＭＡ－３Ｔ３、ＬＮＣａＰ、および／またはＣ４－２細胞（ならびに、ＰＳＭＡを発現しないコントロール細胞株３Ｔ３およびＰＣ３）を、９６ウエルマイクロプレート（Ｆａｌｃｏｎ）中で２，５００細胞／１００μＬ／ウエルでプレートし、そして一晩３７℃で５％CO_2存在下でインキュベートした。ＰＳＭＡ３Ｔ３（および３Ｔ３）ならびにＬＮＣａＰ（およびＣ４－２およびＰＣ３）のために使用する培地は、それぞれ２ｍＭＬ－グルタミン、１０％　ＦＢＳ、および１％ペニシリン－ストレプトマイシンを含むＤＭＥＭまたはＲＰＭＩ１６４０であった。培地中の５０ｎｇ（５０μＬにおける）のＭａｂ－ＺａｐまたはＨｕｍ－ＺＡＰ（Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）を各ウェルに添加した。Ｍａｂ－ＺａｐおよびＨｕｍ－Ｚａｐは、サポリン（ｓａｐｏｒｉｎ）（植物Ｓａｐｏｎａｒｉａ　ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓの種子由来の植物リボソーム不活性化タンパク質（ＲＩＰ）のうちで最も効力のある）に共有結合したヤギ抗マウスＩｇＧ抗体またはヤギ抗ヒトＩｇＧ抗体である。サポリンはアポトーシスによる細胞死を誘導する（Ｂｅｒｇａｍａｓｃｈｉ，Ｇ．，Ｐｅｒｆｅｔｔｉ，Ｖ．，Ｔｏｎｏｎ，Ｌ．，Ｎｏｖｅｌｌａ，Ａ．，Ｌｕｃｏｔｔｉ，Ｃ．，Ｄａｎｏｖａ，Ｍ．，Ｇｌｅｎｎｉｅ，Ｍ．Ｊ．，Ｍｅｒｌｉｎｉ，Ｇ．，Ｃａｚｚｏｌａ，Ｍ．　Ｓａｐｏｒｉｎ，ａ　ｒｉｂｏｓｏｍｅ－ｉｎａｃｔｉｖａｔｉｎｇ　ｐｒｏｔｅｉｎ　ｕｓｅｄ　ｔｏ　ｐｒｅｐａｒｅ　ｉｍｍｕｎｏｔｏｘｉｎｓ，ｉｎｄｕｃｅｓ　ｃｅｌｌ　ｄｅａｔｈ　ｖｉａ　ａｐｏｐｔｏｓｉｓ．Ｂｒ　Ｊ　Ｈａｅｍａｔｏｌ　９３，７８９～９４．（１９９６））。このＭａｂ－Ｚａｐは、適切な１次抗体の非存在下で細胞と結合しなかったまたは細胞内に内在しなかった。

【０２７９】

マウス３．９、５．４、ｍＪ５９１（ＡＴＣＣ＃ＨＢ－１２１２６）およびヒト００６、４．４０、４．３０４抗ＰＳＭＡ抗体（ならびにコントロールＩｇＧ抗体）を、合計容量を２００μｌにもってくるために３通りで、異なる濃度でプレートに添加した。内在化する前にＰＳＭＡ抗体へのＭａｐ－ＺａｐまたはＨｕｍ－Ｚａｐの結合を最大限にするために、このプレートを氷上で少なくとも３０分間冷たく維持した。このプレートを２日間インキュベートし、次いで培地を交換し、そしてさらに２日間インキュベートした。４日間のインキュベーション後、培地を抜き取り、そして１０％Ａｌａｍａｒ　Ｂｌｕｅ（２０μＬ，Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，Ｃａｍａｒｉｌｌｏ，ＣＡ）を含む新鮮培地を各ウェルに添加し、そして２時間インキュベートした。ＣｙｔｏＦｌｏｕｒプレートリーダーを、９６ウェルプレートにおける蛍光を５３０ｎｍの励起波長および５９０ｎｍの発光波長で測定するために使用した。毒素の内在化は、抗ＰＳＭＡ抗体によって媒介された。細胞殺傷を、Ｃ４－２細胞に関しては図２６において、ＰＳＭＡ－３Ｔ３細胞に関して図２７において例示した。

【０２８０】

ヒト４．３０４抗ＰＳＭＡ抗体を、サポリン（Ｗｒｅｎｎら，Ｂｒａｉｎ　Ｒｅｓ．７４０：１７５～１８４，１９９６）と直接結合させ、そしてその細胞傷害性を、上述されるような類似のプロトコールを使用して証明した（図２８を参照のこと）。

【０２８１】

（実施例２０：免疫反応性）

ＰＳＭＡ－３Ｔ３、ＬＮＣａＰおよびＣ４－２を、ＰＳＭＡ発現細胞株として使用し、そして３Ｔ３を、ＰＳＭＡを発現しないコントロール細胞株として使用した。この細胞を、本アッセイにおける非特異的な結合を減少させるために、１０％ヤギ血清を用いて氷上でブロックした。

【０２８２】

少量（１～５ｎｇ）の標識したｍＡｂを、１０００万個の細胞の細胞ペレットに添加し、そして穏やかに混合しながら０℃（氷上）でインキュベートした。１時間のインキュベーション後、細胞を遠心分離によって回収し、そして未結合のｍＡｂを含む上清を、新鮮な細胞ペレットに移してさらに１時間０℃で培養した。両セットの細胞を遠心分離して、

そして２回冷ＰＢＳで洗浄した。この細胞ペレット、上清および洗浄分画を放射能について計数した。免疫反応性を細胞ペレットにおける放射能の量を細胞ペレット、上清および洗浄分画における総放射能で割って定義する。これらのデータを以下の表３に示す。

【０２８３】

【表３】

表３．ＰＳＭＡ発現細胞に対するＩｎ－１１１放射性標識した抗体の免疫反応

放射性同位元素標識したｍＡｂ	免疫反応性 (%)	細胞株
In-111 4.304	92.6 (1.4)	PSMA-3T3 (3T3)
	92.6	PSMA-3T3
	91.4 (1.7)	PSMA-3T3 (3T3)
	89.1	LNCaP
	92.4	C4-2
平均 ＝	91.6 ± 1.5	
In-111 4.40	87.7 (0.5)	PSMA-3T3 (3T3)
	86.8	PSMA-3T3
	89.4 (1.5)	PSMA-3T3 (3T3)
平均 ＝	88.0 ± 1.3	
In-111 mJ591	58.5	PSMA-3T3
	54.9 (1.1)	PSMA-3T3 (3T3)
平均 ＝	56.7 ± 2.5	
In-111 3.9	88	LNCaP
	87	C4-2
	89 (2)	PSMA-3T3 (3T3)
	95.3 (0.5)	PSMA-3T3 (3T3)
	88.6	PSMA-3T3
	84.8	C4-2
	89.3	PSMA-3T3
平均 ＝	88.6 ± 3.2	

抗体４．４０、４．３０４およびｍＪ５９１を、二官能性のキレートＣＨＸ－Ａ“－ＤＴＰＡに結合体化し、そして抗体３．９をＣ－ＤＯＴＡに結合体化した。

【０２８４】

（実施例２１：結合エピトープを同定するための競合結合アッセイ）

ｍＡｂの所定の群がＰＳＭＡ上の異なったエピトープまたは重複エピトープを認識するか否かを同定するために、競合結合アッセイを、Ｉｎ－１１１放射性標識した抗体を用いて実行した。２×１０^{5}細胞（１００μＬ）のＰＳＭＡ－３Ｔ３を９６ウェルマイクロプレートでプレーティングし、そして抗体４．４０，４．３０４およびｍＪ５９１（１００μＬ）を異なる濃度（段階希釈）で添加した。この細胞を０°Ｃで３０分間インキュベートした。２０μＬのＩｎ－１１１放射性標識したＣＨＸ－Ａ“－ＤＴＰＡ抗体構築物を各ウェルに添加した。競合結合のための氷上での２時間のインキュベート後、この細胞を５回冷ＰＢＳを使用して洗浄した。Ｉｎ－１１１が結合した抗体を含むこの細胞を、マイクロプレートから試験チューブに回収し、そしてγ計数器で計数した。

【０２８５】
図２９に詳細に示した結果は、ｍＪ５９１が、ＰＳＭＡ－３Ｔ３細胞に結合するＩｎ－１１１　４．４０をブロックし、そしてＩｎ－１１１　４．３０４をブロックしなかったことを示す。さらに、４．４０および４．３０４は、互いにブロックしなかった。非改変抗体４．３０４およびｍＪ５９１をまた、Ｉｎ－１１１放射性標識したｍＪ５９１と競合させるために使用した。ヒト４．３０４は、ＰＳＭＡ－３Ｔ３への結合のためにＩｎ－１１１　ｍＪ５９１と競合しなかった（図３０）。
（実施例２２：Ｂｉａｃｏｒｅ　３０００を使用する結合親和性）
抗体の動態および親和性を測定するために、粗上清中の抗体、精製した形態の抗体および二官能性のキレートで変性した形態の抗体を、Ｂｉａｃｏｒｅ　３０００機器（Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用して分析した。Ｂｉａｃｏｒｅ　３０００は、十分に自動化された表面プラスモン共鳴（ｓｕｒｆａｃｅ　ｐｌａｓｍｏｎ　ｒｅｓｏｎａｎｃｅ）（ＳＰＲ）ベースのバイオセンサーシステム（タグまたは生物分子学的相互作用に関する化合物の標識を必要としないアッセイ形式から、リアルタイムの動態データを提供するために設計される）である。これは、粗上清をスクリーニングするための理想である。
【０２８６】
ストレプトアビジンで被膜されたセンサーチップ（ＳＡチップ、Ｂｉａｃｏｒｅ）を、ビオチン化された抗ヒトＩｇＧ抗体（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）を補足するために使用した。センサーチップの表面全体を、調節液（１Ｍ　ＮａＣｌ、５０ｍＭ　ＮａＯＨ）の５回注入で調節し、そして０．００５％ポリソルベート２０を含むＰＢＳ緩衝剤で平衡化した。ビオチン化された抗ヒトＩｇＧ抗体（Ｓｉｇｍａ）の２～３０００共鳴ユニット（ＲＵ）をＳＡチップ上に固定し、引き続いて再生緩衝剤（グリシン－ＨＣｌ（ｐＨ２．２））を注入した。上清中の抗体を、ＰＢＳ緩衝液中に２μｇ／ｍＬまで希釈し、そして１つの抗ヒトＩｇＧフローセル（ｆｌｏｗ　ｃｅｌｌ）上で補足した一方で、アイソタイプにマッチしたコントロールヒト抗体（Ｓｉｇｍａ）を同様に第２のフローセル上で補足した。ＰＢＳ緩衝液における異なる濃度でのｒｓＰＳＭＡを、３０μＬ／分で「関連段階」においては３分間、引き続く「解離段階」においては１０分間、細胞にわたって流した。ＳＰＲをモニターし、そして時間の関数として示した。１つの濃度でのそれぞれの抗体について、チップを再生し、そして平衡化した。１００ｎＭ～６．２５ｎＭの異なる濃度のｒｓＰＳＭＡの関連段階および解離段階における抗体ＰＲＧＸ１－ＸＧ－００６の分析の例を、図３１に示す。結合の熱力学速度定数および動力学的速度定数を、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｅｖａｌｕｔｉｏｎソフトウエアを使用して計数した。例えば、上清中のＸＧ－００６抗体のｒｓＰＳＭＡに対する親和性は、１．３×１０^{5}　Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$のK_aおよび６．４×１０$^{-5}$ｓ$^{-1}$のK_dを有する４．９２×１０$^{-10}$Ｍであることを決定した。粗上清中のいくつかのヒトＰＳＭＡ抗体、精製した形態のヒトＰＳＭＡ抗体、および二官能性のキレート剤で変性したヒトＰＳＭＡ抗体に関する選択的なデータを、比較のために表４に列挙する。
【０２８７】
Ｉｎ－１１１放射性標識した抗体の結合活性を、ＰＳＭＡ発現細胞（ＬＮＣａＰ，Ｃ４．２，ＰＳＭＡ－３Ｔ３およびコントロールとしての親３Ｔ３）を使用して得た結合データのスキャッチャード分析によって決定した。この実験手順およびデータ分析方法は、以前に記載されている（Ｓｃｈｅｉｎｂｅｒｇ，Ｄ．Ａ．ら　Ｌｅｕｋｅｍｉａ　３：４４０～４４５（１９９１））。
【０２８８】

【表４】

表４．Ｉｎ－１１１放射性標識したスキャッチャード分析して使用して決定された、粗上清中の抗体、精製された形態、二官能性のキレートで改変された形態の動力学的速度定数およびＫＤ

抗体	Ka (M^{-1},s^{-1})	Kd (s^{-1})	KD (M^{-1})	Avg KD
006 上清	1.30E+05	6.40E-05	4.92E-10	4.92E-10
精製 006-1	2.94E+05	1.37E-04	4.66E-10	
精製 006-2	2.26E+05	1.27E-04	5.62E-10	5.14E-10
4.40 上清	2.10E+05	1.25E-04	5.95E-10	5.95E-10
精製 4.40-1	2.54E+05	1.52E-04	5.98E-10	
精製 4.40-2	2.43E+05	2.37E-04	9.75E-10	7.87E-10
CHX-4.40-1	2.57E+05	1.60E-04	6.23E-10	
CHX-4.40-2	2.47E+05	1.55E-04	6.28E-10	6.25E-10
IN-111CHX-4.40-1			4.44E-09	
IN-111CHX-4.40-2			4.95E-09	4.70E-09
4.304 上清	1.40E+05	1.25E-04	8.93E-10	8.93E-10
精製 4.304-1	8.31E+04	1.20E-04	1.44E-09	
精製 4.304-2	1.06E+05	6.33E-05	5.97E-10	1.02E-09
CHX-4.304-1	6.19E+04	1.21E-04	1.95E-09	
CHX-4.304-2	6.79E+04	1.49E-04	2.19E-09	2.07E-09
IN-111CHX-4.304-1			9.63E-09	
IN-111CHX-4.304-2			5.97E-09	7.80E-09
10.3 上清	1.90E+05	3.63E-04	1.91E-09	1.91E-09
精製 10.3-1	3.28E+05	6.32E-05	1.93E-10	
精製 10.3-2	2.96E+05	6.43E-05	2.17E-10	2.05E-10

十分なヒト抗体４．４０．１、４．４９．１、０５１および００６とマウス抗体３．９との比較を、Ｂｉａｃｏｒｅで実行した。比較のためのそれぞれの抗体について、応答を１００ＲＵに規格化した。これらの抗体について時間　対　応答差異のグラフを、図３２に示す。これらの抗体について結合の親和性は、それぞれ６．１、６．７、５．８、４．８および１３．７×１０$^{-10}$Ｍであると決定された。

【０２８９】

（実施例２３：インビトロおよびインビボ研究のための細胞株の特徴付け）

Ｉｎ－１１１標識した抗ＰＳＭＡ抗体３．９を使用するスキャッチャード分析から生じる結果を、図３３に示す。トランスフェクトされたマウス３Ｔ３細胞は、１細胞あたり１００万個より多いＰＳＭＡのコピーを発現し、ＬＮＣＡＰ細胞（アンドロゲン依存性ヒト前立腺癌細胞株）は、６４万個のコピーを発現する一方で、Ｃ４－２細胞（アンドロゲン非依存性）は、１細胞あたり２５万個のコピーを発現する。細胞表面ＰＳＭＡに対する親和性３．９は、ＰＳＭＡ－３Ｔ３に関しては６．４ｎＭ、ＬＮＣＡＰに関しては４．０ｎＭ、およびＣ４－２に関しては３．３ｎＭ（４．６ｎＭがこれらのデータの平均である）である。

【０２９０】

ヒト抗ＰＳＭＡ抗体についての粗上清の分析の要旨を、以下表５において与える。

【０２９１】

【表５】

表５：抗ＰＳＭＡモノクローナル抗体の特徴

	Ab Conc (μg/mL)		３Ｔ３－ＰＳＭＡへの結合（ＦＡＣＳ）					Biacore 研究		
上清	PGNX	溶解産物 EIA	PGNX FACS	AVG 最大結合	AVG EC50	C4.2 FACS	抗ＰＳＭＡ ウエスタン	KD, M-1 (x 10^{-10})	Ka, M-1s-1 (x 10^{5})	Kd, s-1 (x 10-5)
PRGX1-XG1-026	4.7	ND[1]	ND	148	2.4	ND	Conf.[2]	2.0	1.5	2.9
4.4.1	4.7	0.08	7	8	ND	5.2	Conf.	4.2	2.3	9.7
PRGX1-XG1-006	1.8	0.39	114	183	3.4	9.5	Conf.	4.8	1.3	6.4
PRGX1-XG1-051	3.5	0.48	83	202	2.0	9.9	Conf.	5.8	1.4	8.2
4.40.1	4.3	0.33	53	163	2.3	10.8	Conf.	6.1	2.1	12.5
4.49.1	2.6	0.36	362	162	0.9	16.2	Conf.	6.7	3.1	20.7
4.292.1	2.7	0.18	75	195	6.0	9.2	Conf.	6.8	1.2	8.5
4.304.1	4.1	0.39	92	184	9.1	8.4	Conf.	8.7	1.4	12.5
4.232.1	2.4	0.49	97	138	2.7	6.0	Linear[3]	9.4	1.5	13.8
4.153.1	5.9	0.29	279	182	5.3	14.8	Conf.	9.5	1.2	11.8
4.333.1	2.9	0.18	82	168	3.1	6.6	Conf.	11	0.7	8.5
PRGX1-XG1-077	3.9	0.45	392	227	6.0	12.4	Conf.	16	0.6	10.4
10.3	8.5	1.06	ND	ND	ND	ND	ND	19	1.9	36.4
純粋 10.3		0.44	130	181	7.5	ND	Conf.	ND		
						4.7				
4.22.1	2.8	0.08	7	ND	ND	4.7	ND	20	1.7	33
4.248.1	3.5	0.37	7	ND	ND	4.1	Conf.	27	1.0	28
4.54.1	10	0.14	267	162	3.9	13.6	ND	30	1.9	56
4.7.1	5	0.23	156	141	1.6	10.2	Conf.	32	1.7	56
4.78.1	5.3	0.00	205	118	1.0	7.9	Conf.	53	2.4	125
4.48.1	4.9	0.06	14	ND	ND	7.7	ND	62	0.9	59
4.209.1	3.5	0.22	60	ND	ND	6.7	ND	142	0.9	125
4.177.1	1.1	0.15	236	174	2.4	10.6	ND	155	0.6	93
4.152.1	3.4	0.38	81	85	4.0	7.5	ND	163	0.8	126
4.28.1	4.2	0.04	112	155	4.2	11.3	ND	167	1.2	192
4.16.1	5.3	0.00	8	ND	ND	7.8	ND	177	1.8	313
4.360.1	1.5	0.02	112	130	2.2	7.9	ND	197	1.0	201
4.288.1	15.4	0.02	67	141	4.1	6.5	ND	198	1.3	257
4.219.2	0.5	0.34	69	ND	ND	5.9	ND	ND		
PRGX1-XG1-069	6.5	ND	ND	71	7.9	ND	ND	未結合		
マウス 3.9								13.7	0.7	9.7
コントロール								6.34	2.24	14.2

[1] ND=決定されていない
[2] conf.=立体配座エピトープ
[3] linear=線状のエピトープ

（実施例２４：放射性標識した抗体の細胞傷害性）

Ａｃ－２２５標識した抗ＰＳＭＡ抗体のインビトロでの細胞傷害性を、実施例１９において使用したものと類似の方法論を使用して決定した。前立腺癌細胞（２×１０^{4}細胞／ｍＬの濃度での１００μＬのＣ４－２、ＬＮＣａＰ、およびＰＣ３細胞）を、９６ウェルマイクロプレートの分離ウェル中に配置した。一晩のインキュベート後、この細胞を、異なる濃度のＡｃ－２２５標識したヒト抗ＰＳＭＡ　４．４０抗体を用いて４日にわたって処理した。細胞の細胞傷害性を、Ａｌａｍａｒ　Ｂｌｕｅ（Ｂｉｏｓｏｕｒｃｅ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｃａｍａｒｉｌｌｏ，ＣＡ）を使用して定量した。

【０２９２】
図３４は、細胞生存　対　Ａｃ－２２５活性濃度のプロットを示す。ＰＳＭＡ発現細胞（Ｃ４－２およびＬＮＣａＰ）についてのＥＣ５０は、２ｎＣｉ／ｍＬ未満であった。しかし、ＥＣ５０は、細胞表面にＰＳＭＡを発現していないＰＣ３細胞については４２０ｎＣｉ／ｍＬであった。それゆえ、Ａｃ－２２５標識したヒト抗ＰＳＭＡ　４．４０抗体は、ＰＳＭＡ発現前立腺癌細胞（Ｃ４－２およびＬＮＣａＰ）　対　コントロール細胞（ＰＣ３）の殺傷において、２００倍より高い選択力を示す。
【０２９３】
（実施例２５：Ｌｕ－１７７標識した抗体を用いるインビボ放射性免疫治療）
国立癌センター由来の無胸腺症ヌードマウスに、経皮的に2×10^{6}ＰＳＭＡ－３Ｔ３細胞を移植した。測定可能な腫瘍が移植後７日目に出現した後、マウスを単一の２５０μＣｉ用量のヒト抗ＰＳＭＡ抗体４．４０またはＬｕ－１７７（Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｏｆ　Ｍｉｓｓｏｕｒｉ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｒｅａｃｔｏｒ）で標識した４．３０４のいずれかの注射によって処置するか、もしくはコントロールとして緩衝剤のみを注射した。個々の動物の腫瘍サイズを、電子カリパスを使用して測定した。図３５は、経時的にそれぞれの群における平均腫瘍サイズのプロットを示す。腫瘍の成長は、引き続いて、コントロール群と比較してＬｕ－１７７抗体処置した群において減少した。
【０２９４】
（実施例２６：ｒｓＰＳＭＡダイマー調製物での免疫）
（免疫）
ＢＡＬＢ／ｃマウスに、０日目、７日目、１４日目、および４２日目に５μｇの臨床的ｒｓＰＳＭＡロット番号４０１９－Ｃ００１（７５％ダイマー／２５％モノマー）または５μｇのｒｓＰＳＭＡバッチ番号ＴＤ０４５－００３ラン（ｒｕｎ）１／ピーク２（１００％モノマー）のいずれかの皮下注射によって免疫し、そして、単回用量あたり５０μｇのアルヒドロゲル（ａｌｈｙｄｒｏｇｅｌ）で補強した。血清を４回目の免疫から１０日後に採取し、そして酵素結合免疫測定法（ＥＩＡ）およびフローサイトメトリーによって分析した。
【０２９５】
（ＥＩＡ）
ｒｓＰＳＭＡロット番号４０１９－Ｃ００１またはｒｓＰＳＭＡバッチ番号ＴＤ０４５－００３ラン１／ピーク２を、９６ウエルマイクロタイタープレートに受動的に吸着させた。プレート上に残存した結合部位を、ＰＢＳ／カゼイン／Ｔｗｅｅｎ　２０緩衝液でブロックした。段階希釈したマウス血清またはコントロールを添加し、そして結合した抗体を、アルカリホスファターゼに結合体化したヤギ抗マウスＩｇＧ抗体を使用して検出した。このＥＩＡを、結合した抗ＰＳＭＡ抗体の量と正比例する色素変化を産生する基質ｐＮＰＰで発色させた。吸光度を、６２０ｎｍの補正を有する４０５ｎｍで読み込んだ。抗体価を、吸光度を０．１に補正したブランクを生じるマウス血清の最も高い希釈として定義した。公知の抗ＰＳＭＡ価を有する免疫マウス血清または抗ＰＳＭＡ反応性を有さない正常マウス血清を、コントロールとして使用した。
【０２９６】
（フローサイトメトリー分析）
ＰＳＭＡ－３Ｔ３細胞を、２００μＬの免疫血清とともに０．１％アジ化ナトリウムを含むＰＢＳ中での１／５０の希釈で氷上で３０分間インキュベートした。公知の抗ＰＳＭＡ価を有する免疫マウス血清または抗ＰＳＭＡ反応性を有さない正常マウス血清を、コントロールとして使用した。この細胞を、０．１％アジ化ナトリウムを含むＰＢＳで２回洗浄し、そして３０分間氷上でＦＩＴＣ結合体化ヤギ抗マウスＩｇＧとともにインキュベートした。細胞を１回洗浄し、０．１％アジ化ナトリウムを含むＰＢＳ中で再懸濁し、そしてＦＡＣＳｃａｌｉｂｅｒ（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）でフローサイトメトリー分析に供した。
【０２９７】

（結果）
ｒｓＰＳＭＡロット番号４０１９－Ｃ００１を免疫した５／５マウスは、ＥＩＡによって抗ＰＳＭＡ抗体応答を示した。抗体価は、ｒｓＰＳＭＡロット番号４０１９－Ｃ００１（７５％ダイマー／２５％モノマー）で被膜したアッセイプレートおよびｒｓＰＳＭＡバッチ番号ＴＤ０４５－００３ラン１／ピーク２（１００％モノマー）で被膜したアッセイプレートについては類似していた。この群に関する中間の応答は、１／６４００であった。
【０２９８】
ｒｓＰＳＭＡバッチ番号ＴＤ４５－００３ラン１／ピーク２で免疫した４／５マウスは、ＥＩＡによって抗ＰＳＭＡ抗体応答を示した。１頭のマウスは陰性であった。抗体価は、ｒｓＰＳＭＡロット番号４０１９－Ｃ００１（７５％ダイマー／２５％モノマー）で被膜したアッセイプレートおよびｒｓＰＳＭＡバッチ番号ＴＤ０４５－００３ラン１／ピーク２（１００％モノマー）で被膜したアッセイプレートについては類似していた。この群に関する中間の応答は、１／６４００であった。
【０２９９】
ＥＩＡ分析の結果を、表６に提供する。
【０３００】
【表６】

表６：ｒｓＰＳＭＡ５μｇ／用量および５０μｇ／用量アルヒドロゲルを４回ワクチン投与したマウスにおける抗ＰＳＭＡ抗体応答の特異性

マウスＩＤ番号	免疫原	ＥＩＡ価 対 ロット4019-C001	ＥＩＡ価 対 バッチ TD045-003 ラン１／ピーク２	中間 RFI 対 PSMA-3T3 細胞
ABIM151	4019-C001ダイマー	1/3200	1/3200	84
ABIM152	4019-C001ダイマー	1/3200	1/3200	41
ABIM153	4019-C001ダイマー	1/25600	1/25600	76
ABIM154	4019-C001ダイマー	1/12800	1/12800	63
ABIM155	4019-C001ダイマー	1/6400	1/6400	74
ABIM156	モノマー	1/1600	1/1600	5
ABIM157	モノマー	1/6400	1/12800	8
ABIM158	モノマー	0	0	6
ABIM159	モノマー	1/6400	1/6400	6
ABIM160	モノマー	1/6400	1/6400	12

図３６に示すように、ｒｓＰＳＭＡ（ロット番号４０１９－Ｃ００１）のダイマー調製物を免疫したマウス血清中の抗ＰＳＭＡ抗体は、ＰＳＭＡ－３Ｔ３細胞への強い結合を示した。ｒｓＰＳＭＡ（バッチ番号ＴＤ０４５－００３ラン１／ピーク２）の１００％モノマー調製物で免疫したマウスの血清中の抗ＰＳＭＡ抗体は、ＰＳＭＡ－３Ｔ３細胞への結合を示さなかった。
【０３０１】
本発明は、例示の目的のために詳細に示されているが、このような詳細が、目的およびバリエーションが、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の精神および範囲から逸脱することなく当業者によってなされ得るためだけであることが理解される。
【０３０２】
この出願を通して引用される全参考文献、特許および公開された特許出願の内容は、本明細書中で参考として援用される。
【０３０３】
（配列表）

【数１】

SEQUENCE LISTING

<110> PSMA DEVELOPMENT COMPANY, L.L.C.

MADDON, Paul J.

DONOVAN, Gerald P.

OLSON, William C.

SCHÜLKE, Norbert

GARDNER, Jason

MA, Dangshe

<120> PSMA ANTIBODIES AND PROTEIN MULTIMERS

<130> P00453.70005.WO

<150> US 60/335,215

<151> 2001-10-23

<150> US 60/362,747

<151> 2001-03-07

<150> US 60/___,___

<151> 2002-09-20

<160> 33

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 750

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Trp Asn Leu Leu His Glu Thr Asp Ser Ala Val Ala Thr Ala Arg
1 5 10 15

【数２】

```
Arg Pro Arg Trp Leu Cys Ala Gly Ala Leu Val Leu Ala Gly Gly Phe
            20                  25                  30

Phe Leu Leu Gly Phe Leu Phe Gly Trp Phe Ile Lys Ser Ser Asn Glu
        35                  40                  45

Ala Thr Asn Ile Thr Pro Lys His Asn Met Lys Ala Phe Leu Asp Glu
    50                  55                  60

Leu Lys Ala Glu Asn Ile Lys Lys Phe Leu Tyr Asn Phe Thr Gln Ile
65                  70                  75                  80

Pro His Leu Ala Gly Thr Glu Gln Asn Phe Gln Leu Ala Lys Gln Ile
                85                  90                  95

Gln Ser Gln Trp Lys Glu Phe Gly Leu Asp Ser Val Glu Leu Ala His
            100                 105                 110

Tyr Asp Val Leu Leu Ser Tyr Pro Asn Lys Thr His Pro Asn Tyr Ile
        115                 120                 125

Ser Ile Ile Asn Glu Asp Gly Asn Glu Ile Phe Asn Thr Ser Leu Phe
    130                 135                 140

Glu Pro Pro Pro Pro Gly Tyr Glu Asn Val Ser Asp Ile Val Pro Pro
145                 150                 155                 160

Phe Ser Ala Phe Ser Pro Gln Gly Met Pro Glu Gly Asp Leu Val Tyr
                165                 170                 175

Val Asn Tyr Ala Arg Thr Glu Asp Phe Phe Lys Leu Glu Arg Asp Met
            180                 185                 190

Lys Ile Asn Cys Ser Gly Lys Ile Val Ile Ala Arg Tyr Gly Lys Val
        195                 200                 205

Phe Arg Gly Asn Lys Val Lys Asn Ala Gln Leu Ala Gly Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Val Ile Leu Tyr Ser Asp Pro Ala Asp Tyr Phe Ala Pro Gly Val Lys
225                 230                 235                 240

Ser Tyr Pro Asp Gly Trp Asn Leu Pro Gly Gly Gly Val Gln Arg Gly
                245                 250                 255
```

【数３】

```
Asn Ile Leu Asn Leu Asn Gly Ala Gly Asp Pro Leu Thr Pro Gly Tyr
            260                 265                 270

Pro Ala Asn Glu Tyr Ala Tyr Arg Arg Gly Ile Ala Glu Ala Val Gly
        275                 280                 285

Leu Pro Ser Ile Pro Val His Pro Ile Gly Tyr Tyr Asp Ala Gln Lys
    290                 295                 300

Leu Leu Glu Lys Met Gly Gly Ser Ala Pro Pro Asp Ser Ser Trp Arg
305                 310                 315                 320

Gly Ser Leu Lys Val Pro Tyr Asn Val Gly Pro Gly Phe Thr Gly Asn
                325                 330                 335

Phe Ser Thr Gln Lys Val Lys Met His Ile His Ser Thr Asn Glu Val
            340                 345                 350

Thr Arg Ile Tyr Asn Val Ile Gly Thr Leu Arg Gly Ala Val Glu Pro
        355                 360                 365

Asp Arg Tyr Val Ile Leu Gly Gly His Arg Asp Ser Trp Val Phe Gly
    370                 375                 380

Gly Ile Asp Pro Gln Ser Gly Ala Ala Val Val His Glu Ile Val Arg
385                 390                 395                 400

Ser Phe Gly Thr Leu Lys Lys Glu Gly Trp Arg Pro Arg Arg Thr Ile
                405                 410                 415

Leu Phe Ala Ser Trp Asp Ala Glu Glu Phe Gly Leu Leu Gly Ser Thr
            420                 425                 430

Glu Trp Ala Glu Glu Asn Ser Arg Leu Leu Gln Glu Arg Gly Val Ala
        435                 440                 445

Tyr Ile Asn Ala Asp Ser Ser Ile Glu Gly Asn Tyr Thr Leu Arg Val
    450                 455                 460

Asp Cys Thr Pro Leu Met Tyr Ser Leu Val His Asn Leu Thr Lys Glu
465                 470                 475                 480

Leu Lys Ser Pro Asp Glu Gly Phe Glu Gly Lys Ser Leu Tyr Glu Ser
                485                 490                 495

Trp Thr Lys Lys Ser Pro Ser Pro Glu Phe Ser Gly Met Pro Arg Ile
            500                 505                 510
```

【数４】

```
Ser Lys Leu Gly Ser Gly Asn Asp Phe Glu Val Phe Phe Gln Arg Leu
        515                 520                 525

Gly Ile Ala Ser Gly Arg Ala Arg Tyr Thr Lys Asn Trp Glu Thr Asn
    530                 535                 540

Lys Phe Ser Gly Tyr Pro Leu Tyr His Ser Val Tyr Glu Thr Tyr Glu
545                 550                 555                 560

Leu Val Glu Lys Phe Tyr Asp Pro Met Phe Lys Tyr His Leu Thr Val
                565                 570                 575

Ala Gln Val Arg Gly Gly Met Val Phe Glu Leu Ala Asn Ser Ile Val
            580                 585                 590

Leu Pro Phe Asp Cys Arg Asp Tyr Ala Val Val Leu Arg Lys Tyr Ala
        595                 600                 605

Asp Lys Ile Tyr Ser Ile Ser Met Lys His Pro Gln Glu Met Lys Thr
    610                 615                 620

Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu Phe Ser Ala Val Lys Asn Phe Thr
625                 630                 635                 640

Glu Ile Ala Ser Lys Phe Ser Glu Arg Leu Gln Asp Phe Asp Lys Ser
                645                 650                 655

Asn Pro Ile Val Leu Arg Met Met Asn Asp Gln Leu Met Phe Leu Glu
            660                 665                 670

Arg Ala Phe Ile Asp Pro Leu Gly Leu Pro Asp Arg Pro Phe Tyr Arg
        675                 680                 685

His Val Ile Tyr Ala Pro Ser Ser His Asn Lys Tyr Ala Gly Glu Ser
    690                 695                 700

Phe Pro Gly Ile Tyr Asp Ala Leu Phe Asp Ile Glu Ser Lys Val Asp
705                 710                 715                 720

Pro Ser Lys Ala Trp Gly Glu Val Lys Arg Gln Ile Tyr Val Ala Ala
                725                 730                 735

Phe Thr Val Gln Ala Ala Ala Glu Thr Leu Ser Glu Val Ala
            740                 745                 750
```

【数５】

<210> 2

<211> 7570

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 2

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

cccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

ggtaccaagc ttggatctca ccatggagtt gggactgcgc tggggcttcc tcgttgctct 960

tttaagaggt gtccagtgtc aggtgcaatt ggtggagtct gggggaggcg tggtccagcc 1020

tgggaggtcc ctgagactct cctgtgcagc gtctggattc gccttcagta gatatggcat 1080

gcactgggtc cgccaggctc caggcaaggg gctggagtgg gtggcagtta tatggtatga 1140

tggaagtaat aaatactatg cagactccgt gaagggccga ttcaccatct ccagagacaa 1200

ttccaagaac acgcagtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggctgtgta 1260

ttactgtgcg agaggcggtg acttcctcta ctactactat tacggtatgg acgtctgggg 1320

ccaagggacc acggtcaccg tctcctcagc ctccaccaag ggcccatcgg tcttcccccc 1380

ggcaccctct agcaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtcaagga 1440

ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc gccctgacca gcggcgtgca 1500

【数６】

caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctacttcc ctcagcagcg tggtgaccgt 1560

gccctccagc agcttgggca cccagacctа catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa 1620

caccaaggtg gacaagagag ttggtgagag gccagcacag ggagggaggg tgtctgctgg 1680

aagccaggct cagcgctcct gcctggacgc atcccggcta tgcagtccca gtccagggca 1740

gcaaggcagg ccccgtctgc ctcttcaccc ggaggcctct gcccgcccca ctcatgctca 1800

gggagagggt cttctggctt tttccccagg ctctgggcag gcacaggcta ggtgccccta 1860

acccaggccc tgcacacaaa ggggcaggtg ctgggctcag acctgccaag agccatatcc 1920

gggaggaccc tgcccctgac ctaagcccac cccaaaggcc aaactctcca ctccctcagc 1980

tcggacacct tctctcctcc cagattccag taactcccaa tcttctctct gcagagccca 2040

aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagg taagccagcc caggcctcgc 2100

cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gagtagcctg catccaggga caggccccag 2160

ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct cctcagcac ctgaactcct gggggggaccg 2220

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 2280

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 2340

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 2400

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 2460

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 2520

gccaaaggtg ggacccgtgg ggtgcgaggg ccacatggac agaggccggc tcggcccacc 2580

ctctgccctg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct acagggcagc cccgagaacc 2640

acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac 2700

ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca 2760

gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttcct 2820

ctatagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc 2880

cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg 2940

taaatgagaa ttcctcgagt ctagagggcc cgtttaaacc cgctgatcag cctcgactgt 3000

gccttctagt tgccagccat ctgttgtttg cccctccccc gtgccttcct tgaccctgga 3060

aggtgccact cccactgtcc tttcctaata aaatgaggaa attgcatcgc attgtctgag 3120

taggtgtcat tctattctgg ggggtggggt ggggcaggac agcaaggggg aggattggga 3180

agacaatagc aggcatgctg gggatgcggt gggctctatg gcttctgagg cggaaagaac 3240

cagctggggc tctagggggt atccccacgc gccctgtagc ggcgcattaa gcgcggcggg 3300

tgtggtggtt acgcgcagcg tgaccgctac acttgccagc gccctagcgc ccgctccttt 3360

【数７】

cgctttcttc ccttcctttc tcgccacgtt cgccggcttt ccccgtcaag ctctaaatcg 3420

gggcatccct ttagggttcc gatttagtgc tttacggcac ctcgacccca aaaaacttga 3480

ttagggtgat ggttcacgta gtgggccatc gccctgatag acggtttttc gccctttgac 3540

gttggagtcc acgttcttta tagtggact cttgttccaa actggaacaa cactcaaccc 3600

tatctcggtc tattcttttg atttataagg gattttgggg atttcggcct attggttaaa 3660

aaatgagctg atttaacaaa aatttaacgc gaattaattc tgtggaatgt gtgtcagtta 3720

gggtgtggaa agtccccagg ctccccaggc aggcagaagt atgcaaagca tgcatctcaa 3780

ttagtcagca accaggtgtg gaaagtcccc aggctcccca gcaggcagaa gtatgcaaag 3840

catgcatctc aattagtcag caaccatagt cccgccccta actccgccca tcccgccct 3900

aactccgccc agttccgccc attctccgcc ccatggctga ctaatttttt ttatttatgc 3960

agaggccgag gccgcctctg cctctgagct attccagaag tagtgaggag gcttttttgg 4020

aggcctaggc ttttgcaaaa agctcccggg agcttgtata tccattttcg gatctgatca 4080

gcacgtgatg aaaaagcctg aactcaccgc gacgtctgtc gagaagtttc tgatcgaaaa 4140

gttcgacagc gtctccgacc tgatgcagct ctcggagggc gaagaatctc gtgctttcag 4200

cttcgatgta ggagggcgtg gatatgtcct gcgggtaaat agctgcgccg atggtttcta 4260

caaagatcgt tatgtttatc ggcactttgc atcggccgcg ctcccgattc cggaagtgct 4320

tgacattggg gaattcagcg agagcctgac ctattgcatc tcccgccgtg cacagggtgt 4380

cacgttgcaa gacctgcctg aaaccgaact gcccgctgtt ctgcagccgg tcgcggaggc 4440

catggatgcg atcgctgcgg ccgatcttag ccagacgagc gggttcggcc cattcggacc 4500

gcaaggaatc ggtcaataca ctacatggcg tgatttcata tgcgcgattg ctgatcccca 4560

tgtgtatcac tggcaaactg tgatggacga caccgtcagt gcgtccgtcg cgcaggctct 4620

cgatgagctg atgctttggg ccgaggactg ccccgaagtc cggcacctcg tgcacgcgga 4680

tttcggctcc aacaatgtcc tgacggacaa tggccgcata acagcggtca ttgactggag 4740

cgaggcgatg ttcggggatt cccaatacga ggtcgccaac atcttcttct ggaggccgtg 4800

gttggcttgt atggagcagc agacgcgcta cttcgagcgg aggcatccgg agcttgcagg 4860

atcgccgcgg ctccgggcgt atatgctccg cattggtctt gaccaactct atcagagctt 4920

ggttgacggc aatttcgatg atgcagcttg ggcgcagggt cgatgcgacg caatcgtccg 4980

atccggagcc gggactgtcg ggcgtacaca aatcgcccgc agaagcgcgg ccgtctggac 5040

cgatggctgt gtagaagtac tcgccgatag tggaaaccga cgccccagca ctcgtccgag 5100

ggcaaaggaa tagcacgtgc tacgagattt cgattccacc gccgccttct atgaaaggtt 5160

gggcttcgga atcgttttcc gggacgccgg ctggatgatc ctccagcgcg gggatctcat 5220

【数８】

gctggagttc ttcgcccacc ccaacttgtt tattgcagct tataatggtt acaaataaag 5280
caatagcatc acaaatttca caaataaagc attttttttca ctgcattcta gttgtggttt 5340
gtccaaactc atcaatgtat cttatcatgt ctgtataccg tcgacctcta gctagagctt 5400
ggcgtaatca tggtcatagc tgtttcctgt gtgaaattgt tatccgctca caattccaca 5460
caacatacga gccggaagca taaagtgtaa agcctggggt gcctaatgag tgagctaact 5520
cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct 5580
gcattaatga atcggccaac gcgcggggag aggcggtttg cgtattgggc gctcttccgc 5640
ttcctcgctc actgactcgc tgcgctcggt cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca 5700
ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg 5760
agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca 5820
taggctccgc cccctgacg agcatcacaa aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa 5880
cccgacagga ctataaagat accaggcgtt tccccctgga agctccctcg tgcgctctcc 5940
tgttccgacc ctgccgctta ccggatacct gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc 6000
gctttctcaa tgctcacgct gtaggtatct cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct 6060
gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg 6120
tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag 6180
gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta 6240
cggctacact agaaggacag tatttggtat ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg 6300
aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt 6360
tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt 6420
ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga aaactcacgt taagggattt tggtcatgag 6480
attatcaaaa aggatcttca cctagatcct tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat 6540
ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc 6600
tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat 6660
aactacgata cgggagggct taccatctgg ccccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc 6720
acgctcaccg gctccagatt tatcagcaat aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag 6780
aagtggtcct gcaactttat ccgcctccat ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag 6840
agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg caacgttgtt gccattgcta caggcatcgt 6900
ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg 6960
agttacatga tccccccatgt tgtgcaaaaa agcggttagc tccttcggtc ctccgatcgt 7020
tgtcagaagt aagttggccg cagtgttatc actcatggtt atggcagcac tgcataattc 7080

【数９】

tcttactgtc atgccatccg taagatgctt ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc 7140

attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag ttgctcttgc ccggcgtcaa tacgggataa 7200

taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg 7260

aaaactctca aggatcttac cgctgttgag atccagttcg atgtaaccca ctcgtgcacc 7320

caactgatct tcagcatctt ttactttcac cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag 7380

gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt 7440

cctttttcaa tattattgaa gcatttatca gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt 7500

tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc 7560

acctgacgtc 7570

<210> 3

<211> 7597

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 3

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

ccccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgaccttа tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

【数１０】

```
ggtaccaagc ttggatctca ccatggggtc aaccgccatc ctcaccatgg agttggggct   960
gcgctgggtt ctcctcgttg ctcttttaag aggtgtccag tgtcaggtgc agctggtgga  1020
gtctgggggg ggcgtggtcc agcctgggag gtccctgaga ctctcctgtg cagcgtctgg  1080
attcaccttc agtaactatg tcatgcactg ggtccgccag gctccaggca aggggctgga  1140
gtgggtggca attatatggt atgatggaag taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg  1200
ccgattcacc atctccagag acaattccaa gaacacgctg tatctgcaaa tgaacagcct  1260
gagagccgag gacacggctg tgtattactg tgcgggtgga tataactgga actacgagta  1320
ccactactac ggtatggacg tctggggcca agggaccacg gtcaccgtct cctcagcctc  1380
caccaagggc ccatcggtct tccccctggc accctctagc aagagcacct ctgggggcac  1440
agcggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa  1500
ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact  1560
ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat  1620
ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg gtgagaggcc  1680
agcacaggga gggagggtgt ctgctggaag ccaggctcag cgctcctgcc tggacgcatc  1740
ccggctatgc agtcccagtc cagggcagca aggcaggccc cgtctgcctc ttcacccgga  1800
ggcctctgcc cgccccactc atgctcaggg agagggtctt ctggcttttt ccccaggctc  1860
tgggcaggca caggctaggt gcccctaacc caggccctgc acacaaaggg gcaggtgctg  1920
ggctcagacc tgccaagagc catatccggg aggaccctgc ccctgaccta agcccacccc  1980
aaaggccaaa ctctccactc cctcagctcg gacaccttct ctcctcccag attccagtaa  2040
ctcccaatct tctctctgca gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt  2100
gcccaggtaa gccagcccag gcctcgccct ccagctcaag gcgggacagg tgccctagag  2160
tagcctgcat ccagggacag gccccagccg ggtgctgaca cgtccacctc catctcttcc  2220
tcagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac  2280
accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa  2340
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca  2400
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg  2460
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca  2520
gcccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaaggtggga cccgtggggt gcgagggcca  2580
catggacaga ggccggctcg gcccaccctc tgccctgaga gtgaccgctg taccaacctc  2640
tgtccctaca gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccccat cccgggagga  2700
gatgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat  2760
```

【数１１】

cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt 2820

gctggactcc gacggctcct tcttcctcta tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg 2880

gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac 2940

gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa atgagaattc ctcgagtcta gagggcccgt 3000

ttaaacccgc tgatcagcct cgactgtgcc ttctagttgc cagccatctg ttgtttgccc 3060

ctcccccgtg ccttccttga ccctggaagg tgccactccc actgtccttt cctaataaaa 3120

tgaggaaatt gcatcgcatt gtctgagtag gtgtcattct attctggggg gtggggtggg 3180

gcaggacagc aagggggagg attgggaaga caatagcagg catgctgggg atgcggtggg 3240

ctctatggct tctgaggcgg aaagaaccag ctggggctct aggggtatc cccacgcgcc 3300

ctgtagcggc gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg cgcagcgtga ccgctacact 3360

tgccagcgcc ctagcgcccg ctcctttcgc tttcttccct tcctttctcg ccacgttcgc 3420

cggctttccc cgtcaagctc taaatcgggg catcccttta gggttccgat ttagtgcttt 3480

acggcacctc gaccccaaaa aacttgatta gggtgatggt tcacgtagtg ggccatcgcc 3540

ctgatagacg gtttttcgcc ctttgacgtt ggagtccacg ttctttaata gtggactctt 3600

gttccaaact ggaacaacac tcaaccctat ctcggtctat tcttttgatt tataagggat 3660

tttggggatt tcggcctatt ggttaaaaaa tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa 3720

ttaattctgt ggaatgtgtg tcagttaggg tgtggaaagt ccccaggctc cccaggcagg 3780

cagaagtatg caaagcatgc atctcaatta gtcagcaacc aggtgtggaa agtccccagg 3840

ctccccagca ggcagaagta tgcaaagcat gcatctcaat tagtcagcaa ccatagtccc 3900

gcccctaact ccgcccatcc cgcccctaac tccgcccagt tccgcccatt ctccgccccа 3960

tggctgacta attttttta tttatgcaga ggccgaggcc gcctctgcct ctgagctatt 4020

ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg cctaggcttt tgcaaaaagc tcccgggagc 4080

ttgtatatcc attttcggat ctgatcagca cgtgatgaaa aagcctgaac tcaccgcgac 4140

gtctgtcgag aagtttctga tcgaaaagtt cgacagcgtc tccgacctga tgcagctctc 4200

ggagggcgaa gaatctcgtg ctttcagctt cgatgtagga gggcgtggat atgtcctgcg 4260

ggtaaatagc tgcgccgatg gtttctacaa agatcgttat gtttatcggc actttgcatc 4320

ggccgcgctc ccgattccgg aagtgcttga cattggggaa ttcagcgaga gcctgaccta 4380

ttgcatctcc cgccgtgcac agggtgtcac gttgcaagac ctgcctgaaa ccgaactgcc 4440

cgctgttctg cagccggtcg cggaggccat ggatgcgatc gctgcggccg atcttagcca 4500

gacgagcggg ttcggcccat tcggaccgca aggaatcggt caatacacta catggcgtga 4560

tttcatatgc gcgattgctg atccccatgt gtatcactgg caaactgtga tggacgacac 4620

【数１２】

cgtcagtgcg tccgtcgcgc aggctctcga tgagctgatg ctttgggccg aggactgccc 4680

cgaagtccgg cacctcgtgc acgcggattt cggctccaac aatgtcctga cggacaatgg 4740

ccgcataaca gcggtcattg actggagcga ggcgatgttc ggggattccc aatacgaggt 4800

cgccaacatc ttcttctgga ggccgtggtt ggcttgtatg gagcagcaga cgcgctactt 4860

cgagcggagg catccggagc ttgcaggatc gccgcggctc cgggcgtata tgctccgcat 4920

tggtcttgac caactctatc agagcttggt tgacggcaat ttcgatgatg cagcttgggc 4980

gcagggtcga tgcgacgcaa tcgtccgatc cggagccggg actgtcgggc gtacacaaat 5040

cgcccgcaga agcgcggccg tctggaccga tggctgtgta gaagtactcg ccgatagtgg 5100

aaaccgacgc cccagcactc gtccgagggc aaaggaatag cacgtgctac gagatttcga 5160

ttccaccgcc gccttctatg aaaggttggg cttcggaatc gttttccggg acgccggctg 5220

gatgatcctc cagcgcgggg atctcatgct ggagttcttc gcccacccca acttgtttat 5280

tgcagcttat aatggttaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt 5340

tttttcactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt atcatgtctg 5400

tataccgtcg accctctagct agagcttggc gtaatcatgg tcatagctgt ttcctgtgtg 5460

aaattgttat ccgctcacaa ttccacacaa catacgagcc ggaagcataa agtgtaaagc 5520

ctggggtgcc taatgagtga gctaactcac attaattgcg ttgcgctcac tgcccgcttt 5580

ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg 5640

cggtttgcgt attgggcgct cttccgcttc ctcgctcact gactcgctgc gctcggtcgt 5700

tcggctgcgg cgagcggtat cagctcactc aaaggcggta atacggttat ccacagaatc 5760

aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa 5820

aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa 5880

tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc 5940

ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg ccgcttaccg gatacctgtc 6000

cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcaatgc tcacgctgta ggtatctcag 6060

ttcggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaacccccgc ttcagcccga 6120

ccgctgcgcc ttatccggta actatcgtct tgagtccaac ccggtaagac acgacttatc 6180

gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac 6240

agagttcttg aagtggtggc ctaactacgg ctacactaga aggacagtat ttggtatctg 6300

cgctctgctg aagccagtta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat ccggcaaaca 6360

aaccaccgct ggtagcggtg gttttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa 6420

aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa 6480

【数１３】

ctcacgttaa gggattttgg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt 6540

aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag 6600

ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat 6660

agttgcctga ctccccgtcg tgtagataac tacgatacgg gagggcttac catctggccc 6720

cagtgctgca atgataccgc gagacccacg ctcaccggct ccagatttat cagcaataaa 6780

ccagccagcc ggaagggccg agcgcagaag tggtcctgca actttatccg cctccatcca 6840

gtctattaat tgttgccggg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa 6900

cgttgttgcc attgctacag gcatcgtggt gtcacgctcg tcgtttggta tggcttcatt 6960

cagctccggt tcccaacgat caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc 7020

ggttagctcc ttcggtcctc cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgcag tgttatcact 7080

catggttatg gcagcactgc ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa gatgcttttc 7140

tgtgactggt gagtactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc gaccgagttg 7200

ctcttgcccg gcgtcaatac gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgct 7260

catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc 7320

cagttcgatg taacccactc gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta ctttcaccag 7380

cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca aaatgccgca aaaaagggaa taagggcgac 7440

acggaaatgt tgaatactca tactcttcct ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg 7500

ttattgtctc atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt 7560

tccgcgcaca tttccccgaa aagtgccacc tgacgtc 7597

<210> 4

<211> 7579

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 4

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

【数１４】

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

cccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgaccttа tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

ggtaccaagc ttggatctca ccatggagtt gggacttagc tgggttttcc tcgttgctct 960

tttaagaggt gtccagtgtc aggtccagct ggtggagtct gggggaggcg tggtccagcc 1020

tgggaggtcc ctgagactct cctgtgcagc gtctggattc accttcagta gctatggcat 1080

gcactgggtc cgccaggctc caggcaaggg gctggactgg gtggcaatta tttggcatga 1140

tggaagtaat aaatactatg cagactccgt gaagggccga ttcaccatct ccagagacaa 1200

ttccaagaag acgctgtacc tgcaaatgaa cagtttgaga gccgaggaca cggctgtgta 1260

ttactgtgcg agagcttggg cctatgacta cggtgactat gaatactact tcggtatgga 1320

cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctcctcagcc tccaccaagg gcccatcggt 1380

cttccccctg gcaccctcta gcaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct 1440

ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag 1500

cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt 1560

ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacaa 1620

gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tggtgagagg ccagcacagg gagggagggt 1680

gtctgctgga agccaggctc agcgctcctg cctggacgca tcccggctat gcagtcccag 1740

tccagggcag caaggcaggc cccgtctgcc tcttcacccg gaggcctctg cccgccccac 1800

tcatgctcag ggagagggtc ttctggcttt ttccccaggc tctgggcagg cacaggctag 1860

gtgcccctaa cccaggccct gcacacaaag gggcaggtgc tgggctcaga cctgccaaga 1920

gccatatccg ggaggaccct gcccctgacc taagcccacc ccaaaggcca aactctccac 1980

tccctcagct cggacacctt ctctcctccc agattccagt aactcccaat cttctctctg 2040

cagagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcccacc gtgcccaggt aagccagccc 2100

aggcctcgcc ctccagctca aggcgggaca ggtgccctag agtagcctgc atccagggac 2160

【数１５】

aggccccagc cgggtgctga cacgtccacc tccatctctt cctcagcacc tgaactcctg 2220

gggggaccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 2280

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 2340

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 2400

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 2460

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 2520

atctccaaag ccaaaggtgg gacccgtggg gtgcgagggc cacatggaca gaggccggct 2580

cggcccaccc tctgccctga gagtgaccgc tgtaccaacc tctgtcccta cagggcagcc 2640

ccgagaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag gagatgacca agaaccaggt 2700

cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag 2760

caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc gtgctggact ccgacggctc 2820

cttcttcctc tatagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt 2880

ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct 2940

gtctccgggt aaatgagaat tcctcgagtc tagagggccc gtttaaaccc gctgatcagc 3000

ctcgactgtg ccttctagtt gccagccatc tgttgtttgc ccctcccccg tgccttcctt 3060

gaccctggaa ggtgccactc ccactgtcct ttcctaataa aatgaggaaa ttgcatcgca 3120

ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg gggtggggtg gggcaggaca gcaaggggga 3180

ggattgggaa gacaatagca ggcatgctgg ggatgcggtg ggctctatgg cttctgaggc 3240

ggaaagaacc agctggggct ctagggggta tccccacgcg ccctgtagcg gcgcattaag 3300

cgcggcgggt gtggtggtta cgcgcagcgt gaccgctaca cttgccagcg ccctagcgcc 3360

cgctcctttc gctttcttcc cttcctttct cgccacgttc gccggctttc cccgtcaagc 3420

tctaaatcgg ggcatccctt tagggttccg atttagtgct ttacggcacc tcgaccccaa 3480

aaaacttgat tagggtgatg gttcacgtag tgggccatcg ccctgataga cggtttttcg 3540

ccctttgacg ttggagtcca cgttctttaa tagtggactc ttgttccaaa ctggaacaac 3600

actcaaccct atctcggtct attcttttga tttataaggg attttgggga tttcggccta 3660

ttggttaaaa aatgagctga tttaacaaaa atttaacgcg aattaattct gtggaatgtg 3720

tgtcagttag ggtgtggaaa gtccccaggc tccccaggca ggcagaagta tgcaaagcat 3780

gcatctcaat tagtcagcaa ccaggtgtgg aaagtcccca ggctccccag caggcagaag 3840

tatgcaaagc atgcatctca attagtcagc aaccatagtc ccgcccctaa ctccgcccat 3900

cccgccccta actccgccca gttccgccca ttctccgccc catggctgac taatttttt 3960

tatttatgca gaggccgagg ccgcctctgc ctctgagcta ttccagaagt agtgaggagg 4020

【数１６】

ctttttgga ggcctaggct tttgcaaaaa gctcccggga gcttgtatat ccattttcgg 4080
atctgatcag cacgtgatga aaaagcctga actcaccgcg acgtctgtcg agaagtttct 4140
gatcgaaaag ttcgacagcg tctccgacct gatgcagctc tcggagggcg aagaatctcg 4200
tgctttcagc ttcgatgtag gagggcgtgg atatgtcctg cgggtaaata gctgcgccga 4260
tggtttctac aaagatcgtt atgtttatcg gcactttgca tcggccgcgc tcccgattcc 4320
ggaagtgctt gacattgggg aattcagcga gagcctgacc tattgcatct cccgccgtgc 4380
acagggtgtc acgttgcaag acctgcctga aaccgaactg cccgctgttc tgcagccggt 4440
cgcggaggcc atggatgcga tcgctgcggc cgatcttagc cagacgagcg ggttcggccc 4500
attcggaccg caaggaatcg gtcaatacac tacatggcgt gatttcatat gcgcgattgc 4560
tgatccccat gtgtatcact ggcaaactgt gatggacgac accgtcagtg cgtccgtcgc 4620
gcaggctctc gatgagctga tgctttgggc cgaggactgc cccgaagtcc ggcacctcgt 4680
gcacgcggat ttcggctcca acaatgtcct gacggacaat ggccgcataa cagcggtcat 4740
tgactggagc gaggcgatgt tcggggattc ccaatacgag gtcgccaaca tcttcttctg 4800
gaggccgtgg ttggcttgta tggagcagca gacgcgctac ttcgagcgga ggcatccgga 4860
gcttgcagga tcgccgcggc tccgggcgta tatgctccgc attggtcttg accaactcta 4920
tcagagcttg gttgacggca atttcgatga tgcagcttgg gcgcagggtc gatgcgacgc 4980
aatcgtccga tccggagccg ggactgtcgg gcgtacacaa atcgcccgca gaagcgcggc 5040
cgtctggacc gatggctgtg tagaagtact cgccgatagt ggaaaccgac gccccagcac 5100
tcgtccgagg gcaaaggaat agcacgtgct acgagatttc gattccaccg ccgccttcta 5160
tgaaaggttg ggcttcggaa tcgttttccg ggacgccggc tggatgatcc tccagcgcgg 5220
ggatctcatg ctggagttct tcgcccaccc caacttgttt attgcagctt ataatggtta 5280
caaataaagc aatagcatca caaatttcac aaataaagca ttttttcac tgcattctag 5340
ttgtggtttg tccaaactca tcaatgtatc ttatcatgtc tgtataccgt cgacctctag 5400
ctagagcttg gcgtaatcat ggtcatagct gtttcctgtg tgaaattgtt atccgctcac 5460
aattccacac aacatacgag ccggaagcat aaagtgtaaa gcctggggtg cctaatgagt 5520
gagctaactc acattaattg cgttgcgctc actgcccgct ttccagtcgg gaaacctgtc 5580
gtgccagctg cattaatgaa tcggccaacg cgcggggaga ggcggtttgc gtattgggcg 5640
ctcttccgct tcctcgctca ctgactcgct gcgctcggtc gttcggctgc ggcgagcggt 5700
atcagctcac tcaaaggcgg taatacggtt atccacagaa tcaggggata acgcaggaaa 5760
gaacatgtga gcaaaaggcc agcaaaaggc caggaaccgt aaaaaggccg cgttgctggc 5820
gtttttccat aggctccgcc cccctgacga gcatcacaaa aatcgacgct caagtcagag 5880

【数１７】

gtggcgaaac ccgacaggac tataaagata ccaggcgttt cccccctggaa gctccctcgt 5940

gcgctctcct gttccgaccc tgccgcttac cggatacctg tccgcctttc tcccttcggg 6000

aagcgtggcg ctttctcaat gctcacgctg taggtatctc agttcggtgt aggtcgttcg 6060

ctccaagctg ggctgtgtgc acgaaccccc cgttcagccc gaccgctgcg ccttatccgg 6120

taactatcgt cttgagtcca acccggtaag acacgactta tcgccactgg cagcagccac 6180

tggtaacagg attagcagag cgaggtatgt aggcggtgct acagagttct tgaagtggtg 6240

gcctaactac ggctacacta gaaggacagt atttggtatc tgcgctctgc tgaagccagt 6300

taccttcgga aaaagagttg gtagctcttg atccggcaaa caaaccaccg ctggtagcgg 6360

tggtttttt gtttgcaagc agcagattac gcgcagaaaa aaaggatctc aagaagatcc 6420

tttgatcttt tctacggggt ctgacgctca gtggaacgaa aactcacgtt aagggatttt 6480

ggtcatgaga ttatcaaaaa ggatcttcac ctagatcctt ttaaattaaa aatgaagttt 6540

taaatcaatc taaagtatat atgagtaaac ttggtctgac agttaccaat gcttaatcag 6600

tgaggcacct atctcagcga tctgtctatt tcgttcatcc atagttgcct gactccccgt 6660

cgtgtagata actacgatac gggagggctt accatctggc cccagtgctg caatgatacc 6720

gcgagaccca cgctcaccgg ctccagattt atcagcaata aaccagccag ccggaagggc 6780

cgagcgcaga agtggtcctg caactttatc cgcctccatc cagtctatta attgttgccg 6840

ggaagctaga gtaagtagtt cgccagttaa tagtttgcgc aacgttgttg ccattgctac 6900

aggcatcgtg gtgtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg 6960

atcaaggcga gttacatgat cccccatgtt gtgcaaaaaa gcggttagct ccttcggtcc 7020

tccgatcgtt gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctcatggtta tggcagcact 7080

gcataattct cttactgtca tgccatccgt aagatgcttt tctgtgactg gtgagtactc 7140

aaccaagtca ttctgagaat agtgtatgcg gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtcaat 7200

acgggataat accgcgccac atagcagaac tttaaaagtg ctcatcattg gaaaacgttc 7260

ttcggggcga aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tgtaacccac 7320

tcgtgcaccc aactgatctt cagcatcttt tactttcacc agcgtttctg ggtgagcaaa 7380

aacaggaagg caaaatgccg caaaaaaggg aataagggcg acacggaaat gttgaatact 7440

catactcttc cttttcaat attattgaag catttatcag ggttattgtc tcatgagcgg 7500

atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgca catttccccg 7560

aaaagtgcca cctgacgtc 7579

<210> 5

【数１８】

<211> 7558

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 5

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

cccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

ggtaccaagc ttggatccca ccatggggtc aaccgtcatc ctcgccctcc tcctggctgt 960

tctccaagga gtctgtgccg aggtgcagct ggtgcagtct ggagcagagg tgaaaaagcc 1020

cggggagtct ctgaagatct cctgtaaggg ttctggatac agctttacca gttactggat 1080

cggctgggtg cgccagatgc ccgggaaagg cctggagtgg atggggatca tctatcctgg 1140

tgactctgat accagataca gccccgtcct ccaaggccag gtcaccatct cagccgacaa 1200

gtccatcagc accgcctacc tgcagtggag cagcctgaag gcctcggaca ccgccatgta 1260

ttactgtgcg agacggatgg cagcagctgg ccgctttgac tactggggcc agggaaccct 1320

ggtcaccgtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctctag 1380

caagagcacc tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga 1440

accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc 1500

tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag 1560

【数１９】

cttgggcacc cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga 1620
caagagagtt ggtgagaggc cagcacaggg agggagggtg tctgctggaa gccaggctca 1680
gcgctcctgc ctggacgcat cccggctatg cagtcccagt ccagggcagc aaggcaggcc 1740
ccgtctgcct cttcacccgg aggcctctgc ccgccccact catgctcagg gagagggtct 1800
tctggctttt tccccaggct ctgggcaggc acaggctagg tgcccctaac ccaggccctg 1860
cacacaaagg ggcaggtgct gggctcagac ctgccaagag ccatatccgg gaggaccctg 1920
ccccctgacct aagcccaccc caaaggccaa actctccact ccctcagctc ggacaccttc 1980
tctcctccca gattccagta actcccaatc ttctctctgc agagcccaaa tcttgtgaca 2040
aaactcacac atgcccaccg tgcccaggta agccagccca ggcctcgccc tccagctcaa 2100
ggcgggacag gtgccctaga gtagcctgca tccagggaca ggccccagcc gggtgctgac 2160
acgtccacct ccatctcttc ctcagcacct gaactcctgg ggggaccgtc agtcttcctc 2220
ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga ccctgaggt cacatgcgtg 2280
gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 2340
gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 2400
gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 2460
gtctccaaca aagccctccc agcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaaggtggg 2520
acccgtgggg tgcgagggcc acatggacag aggccggctc ggcccaccct ctgccctgag 2580
agtgaccgct gtaccaacct ctgtccctac agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac 2640
cctgccccca tcccgggagg agatgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa 2700
aggcttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa 2760
ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct atagcaagct 2820
caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga 2880
ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aatgagaatt 2940
cctcgagtct agagggcccg tttaaacccg ctgatcagcc tcgactgtgc cttctagttg 3000
ccagccatct gttgtttgcc cctccccgt gccttccttg accctggaag gtgccactcc 3060
cactgtcctt tcctaataaa atgaggaaat tgcatcgcat tgtctgagta ggtgtcattc 3120
tattctgggg ggtggggtgg ggcaggacag caaggggggag gattgggaag acaatagcag 3180
gcatgctggg gatgcggtgg gctctatggc ttctgaggcg gaaagaacca gctggggctc 3240
taggggtat ccccacgcgc cctgtagcgg cgcattaagc gcggcgggtg tggtggttac 3300
gcgcagcgtg accgctacac ttgccagcgc cctagcgccc gctcctttcg ctttcttccc 3360
ttcctttctc gccacgttcg ccggctttcc ccgtcaagct ctaaatcggg gcatcccttt 3420

【数２０】

agggttccga tttagtgctt tacggcacct cgaccccaaa aaacttgatt agggtgatgg 3480

ttcacgtagt gggccatcgc cctgatagac ggtttttcgc cctttgacgt tggagtccac 3540

gttctttaat agtggactct tgttccaaac tggaacaaca ctcaacccta tctcggtcta 3600

ttcttttgat ttataaggga ttttggggat ttcggcctat tggttaaaaa atgagctgat 3660

ttaacaaaaa tttaacgcga attaattctg tggaatgtgt gtcagttagg gtgtggaaag 3720

tccccaggct ccccaggcag gcagaagtat gcaaagcatg catctcaatt agtcagcaac 3780

caggtgtgga aagtccccag gctccccagc aggcagaagt atgcaaagca tgcatctcaa 3840

ttagtcagca accatagtcc cgcccctaac tccgcccatc ccgcccctaa ctccgcccag 3900

ttccgcccat tctccgcccc atggctgact aatttttttt atttatgcag aggccgaggc 3960

cgcctctgcc tctgagctat tccagaagta gtgaggaggc ttttttggag gcctaggctt 4020

ttgcaaaaag ctcccgggag cttgtatatc cattttcgga tctgatcagc acgtgatgaa 4080

aaagcctgaa ctcaccgcga cgtctgtcga gaagtttctg atcgaaaagt tcgacagcgt 4140

ctccgacctg atgcagctct cggagggcga agaatctcgt gctttcagct tcgatgtagg 4200

agggcgtgga tatgtcctgc gggtaaatag ctgcgccgat ggtttctaca aagatcgtta 4260

tgtttatcgg cactttgcat cggccgcgct cccgattccg gaagtgcttg acattgggga 4320

attcagcgag agcctgacct attgcatctc ccgccgtgca cagggtgtca cgttgcaaga 4380

cctgcctgaa accgaactgc ccgctgttct gcagccggtc gcggaggcca tggatgcgat 4440

cgctgcggcc gatcttagcc agacgagcgg gttcggccca ttcggaccgc aaggaatcgg 4500

tcaatacact acatggcgtg atttcatatg cgcgattgct gatccccatg tgtatcactg 4560

gcaaactgtg atggacgaca ccgtcagtgc gtccgtcgcg caggctctcg atgagctgat 4620

gctttgggcc gaggactgcc ccgaagtccg gcacctcgtg cacgcggatt tcggctccaa 4680

caatgtcctg acggacaatg ccgcataac agcggtcatt gactggagcg aggcgatgtt 4740

cggggattcc caatacgagg tcgccaacat cttcttctgg aggccgtggt tggcttgtat 4800

ggagcagcag acgcgctact tcgagcggag gcatccggag cttgcaggat cgccgcggct 4860

ccgggcgtat atgctccgca ttggtcttga ccaactctat cagagcttgg ttgacggcaa 4920

tttcgatgat gcagcttggg cgcagggtcg atgcgacgca atcgtccgat ccggagccgg 4980

gactgtcggg cgtacacaaa tcgcccgcag aagcgcggcc gtctggaccg atggctgtgt 5040

agaagtactc gccgatagtg gaaaccgacg ccccagcact cgtccgaggg caaaggaata 5100

gcacgtgcta cgagatttcg attccaccgc cgccttctat gaaaggttgg gcttcggaat 5160

cgttttccgg gacgccggct ggatgatcct ccagcgcggg gatctcatgc tggagttctt 5220

cgcccacccc aacttgttta ttgcagctta taatggttac aaataaagca atagcatcac 5280

【数２１】

aaatttcaca aataaagcat ttttttcact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat 5340
caatgtatct tatcatgtct gtataccgtc gacctctagc tagagcttgg cgtaatcatg 5400
gtcatagctg tttcctgtgt gaaattgtta tccgctcaca attccacaca acatacgagc 5460
cggaagcata aagtgtaaag cctggggtgc ctaatgagtg agctaactca cattaattgc 5520
gttgcgctca ctgcccgctt tccagtcggg aaacctgtcg tgccagctgc attaatgaat 5580
cggccaacgc gcggggagag gcggtttgcg tattgggcgc tcttccgctt cctcgctcac 5640
tgactcgctg cgctcggtcg ttcggctgcg gcgagcggta tcagctcact caaaggcggt 5700
aatacggtta tccacagaat caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca 5760
gcaaaaggcc aggaaccgta aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgccc 5820
ccctgacgag catcacaaaa atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact 5880
ataaagatac caggcgtttc cccctggaag ctccctcgtg cgctctcctg ttccgaccct 5940
gccgcttacc ggatacctgt ccgcctttct cccttcggga agcgtggcgc tttctcaatg 6000
ctcacgctgt aggtatctca gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca 6060
cgaacccccc gttcagcccg accgctgcgc cttatccggt aactatcgtc ttgagtccaa 6120
cccggtaaga cacgacttat cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc 6180
gaggtatgta ggcggtgcta cagagttctt gaagtggtgg cctaactacg gctacactag 6240
aaggacagta tttggtatct gcgctctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttgg 6300
tagctcttga tccggcaaac aaaccaccgc tggtagcggt ggtttttttg tttgcaagca 6360
gcagattacg cgcagaaaaa aaggatctca agaagatcct ttgatctttt ctacggggtc 6420
tgacgctcag tggaacgaaa actcacgtta agggattttg gtcatgagat tatcaaaaag 6480
gatcttcacc tagatccttt taaattaaaa atgaagtttt aaatcaatct aaagtatata 6540
tgagtaaact tggtctgaca gttaccaatg cttaatcagt gaggcacctа tctcagcgat 6600
ctgtctattt cgttcatcca tagttgcctg actccccgtc gtgtagataa ctacgatacg 6660
ggagggctta ccatctggcc ccagtgctgc aatgataccg cgagacccac gctcaccggc 6720
tccagattta tcagcaataa accagccagc cggaagggcc gagcgcagaa gtggtcctgc 6780
aactttatcc gcctccatcc agtctattaa ttgttgccgg gaagctagag taagtagttc 6840
gccagttaat agtttgcgca acgttgttgc cattgctaca ggcatcgtgg tgtcacgctc 6900
gtcgtttggt atggcttcat tcagctccgg ttcccaacga tcaaggcgag ttacatgatc 6960
ccccatgttg tgcaaaaaag cggttagctc cttcggtcct ccgatcgttg tcagaagtaa 7020
gttggccgca gtgttatcac tcatggttat ggcagcactg cataattctc ttactgtcat 7080
gccatccgta agatgctttt ctgtgactgg tgagtactca accaagtcat tctgagaata 7140

【数２２】

gtgtatgcgg cgaccgagtt gctcttgccc ggcgtcaata cgggataata ccgcgccaca 7200

tagcagaact ttaaaagtgc tcatcattgg aaaacgttct tcggggcgaa aactctcaag 7260

gatcttaccg ctgttgagat ccagttcgat gtaacccact cgtgcaccca actgatcttc 7320

agcatctttt actttcacca gcgtttctgg gtgagcaaaa acaggaaggc aaaatgccgc 7380

aaaaaaggga ataagggcga cacggaaatg ttgaatactc atactcttcc tttttcaata 7440

ttattgaagc atttatcagg gttattgtct catgagcgga tacatatttg aatgtattta 7500

gaaaaataaa caaatagggg ttccgcgcac atttccccga aaagtgccac ctgacgtc 7558

<210> 6

<211> 7576

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 6

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

cccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

ggtaccaagc ttggatctca ccatggagtt tgggctgtgc tggattttcc tcgttgctct 960

tttaagaggt gtccagtgtc aggtgcagct ggtggagtct gggggaggcg tggtccagcc 1020

【数２３】

tgggaggtcc ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcatta gctatggcat 1080
gcactgggtc cgccaggctc caggcaaggg gctggagtgg gtggcagtta tatcatatga 1140
tggaagtaat aaatactatg cagactccgt gaagggccga ttcaccatct ccagagacaa 1200
ttccaagaac acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gctgaggaca cggctgtgta 1260
ttactgtgcg agagtattag tgggagcttt atattattat aactactacg ggatggacgt 1320
ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctcagcctcc accaagggcc catcggtctt 1380
cccctggca ccctctagca agagcacctc tgggggcaca gcggccctgg gctgcctggt 1440
caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac tcaggcgccc tgaccagcgg 1500
cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtggt 1560
gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc tgcaacgtga atcacaagcc 1620
cagcaacacc aaggtggaca agagagttgg tgagaggcca gcacagggag ggagggtgtc 1680
tgctggaagc caggctcagc gctcctgcct ggacgcatcc cggctatgca gtcccagtcc 1740
agggcagcaa ggcaggcccc gtctgcctct tcacccggag gcctctgccc gccccactca 1800
tgctcaggga gagggtcttc tggctttttc cccaggctct gggcaggcac aggctaggtg 1860
cccctaaccc aggccctgca cacaaagggg caggtgctgg gctcagacct gccaagagcc 1920
atatccggga ggaccctgcc cctgacctaa gcccaccccа aaggccaaac tctccactcc 1980
ctcagctcgg acaccttctc tcctcccaga ttccagtaac tcccaatctt ctctctgcag 2040
agcccaaatc ttgtgacaaa actcacacat gcccaccgtg cccaggtaag ccagcccagg 2100
cctcgccctc cagctcaagg cgggacaggt gccctagagt agcctgcatc cagggacagg 2160
ccccagccgg gtgctgacac gtccacctcc atctcttcct cagcacctga actcctgggg 2220
ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc 2280
cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 2340
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtac 2400
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 2460
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag ccccatcga gaaaaccatc 2520
tccaaagcca aaggtgggac ccgtggggtg cgagggccac atggacagag gccggctcgg 2580
cccaccctct gccctgagag tgaccgctgt accaacctct gtccctacag ggcagccccg 2640
agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag atgaccaaga accaggtcag 2700
cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa 2760
tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggctcctt 2820
cttcctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcaggggа acgtcttctc 2880

【数２４】

atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc 2940

tccgggtaaa tgagaattcc tcgagtctag agggcccgtt taaacccgct gatcagcctc 3000

gactgtgcct tctagttgcc agccatctgt tgtttgcccc tcccccgtgc cttccttgac 3060

cctggaaggt gccactccca ctgtcctttc ctaataaaat gaggaaattg catcgcattg 3120

tctgagtagg tgtcattcta ttctgggggg tggggtgggg caggacagca agggggagga 3180

ttgggaagac aatagcaggc atgctgggga tgcggtgggc tctatggctt ctgaggcgga 3240

aagaaccagc tggggctcta gggggtatcc ccacgcgccc tgtagcggcg cattaagcgc 3300

ggcgggtgtg gtggttacgc gcagcgtgac cgctacactt gccagcgccc tagcgcccgc 3360

tcctttcgct ttcttccctt cctttctcgc cacgttcgcc ggctttcccc gtcaagctct 3420

aaatcggggc atcccttag ggttccgatt tagtgcttta cggcacctcg accccaaaaa 3480

acttgattag ggtgatggtt cacgtagtgg gccatcgccc tgatagacgg tttttcgccc 3540

tttgacgttg gagtccacgt tctttaatag tggactcttg ttccaaactg gaacaacact 3600

caaccctatc tcggtctatt cttttgattt ataagggatt ttggggattt cggcctattg 3660

gttaaaaaat gagctgattt aacaaaaatt taacgcgaat taattctgtg gaatgtgtgt 3720

cagttagggt gtggaaagtc cccaggctcc ccaggcaggc agaagtatgc aaagcatgca 3780

tctcaattag tcagcaacca ggtgtggaaa gtccccaggc tccccagcag gcagaagtat 3840

gcaaagcatg catctcaatt agtcagcaac catagtcccg cccctaactc cgcccatccc 3900

gcccctaact ccgcccagtt ccgcccattc tccgccccat ggctgactaa ttttttttat 3960

ttatgcagag gccgaggccg cctctgcctc tgagctattc cagaagtagt gaggaggctt 4020

ttttggaggc ctaggctttt gcaaaaagct cccgggagct tgtatatcca ttttcggatc 4080

tgatcagcac gtgatgaaaa agcctgaact caccgcgacg tctgtcgaga agtttctgat 4140

cgaaaagttc gacagcgtct ccgacctgat gcagctctcg gagggcgaag aatctcgtgc 4200

tttcagcttc gatgtaggag ggcgtggata tgtcctgcgg gtaaatagct gcgccgatgg 4260

tttctacaaa gatcgttatg tttatcggca ctttgcatcg gccgcgctcc cgattccgga 4320

agtgcttgac attggggaat tcagcgagag cctgacctat tgcatctccc gccgtgcaca 4380

gggtgtcacg ttgcaagacc tgcctgaaac cgaactgccc gctgttctgc agccggtcgc 4440

ggaggccatg gatgcgatcg ctgcggccga tcttagccag acgagcgggt tcggcccatt 4500

cggaccgcaa ggaatcggtc aatacactac atggcgtgat ttcatatgcg cgattgctga 4560

tccccatgtg tatcactggc aaactgtgat ggacgacacc gtcagtgcgt ccgtcgcgca 4620

ggctctcgat gagctgatgc tttgggccga ggactgcccc gaagtccggc acctcgtgca 4680

cgcggatttc ggctccaaca atgtcctgac ggacaatggc cgcataacag cggtcattga 4740

【数２５】

ctggagcgag gcgatgttcg gggattccca atacgaggtc gccaacatct tcttctggag 4800

gccgtggttg gcttgtatgg agcagcagac gcgctacttc gagcggaggc atccggagct 4860

tgcaggatcg ccgcggctcc gggcgtatat gctccgcatt ggtcttgacc aactctatca 4920

gagcttggtt gacggcaatt tcgatgatgc agcttgggcg cagggtcgat gcgacgcaat 4980

cgtccgatcc ggagccggga ctgtcgggcg tacacaaatc gcccgcagaa gcgcggccgt 5040

ctggaccgat ggctgtgtag aagtactcgc cgatagtgga aaccgacgcc ccagcactcg 5100

tccgagggca aaggaatagc acgtgctacg agatttcgat tccaccgccg ccttctatga 5160

aaggttgggc ttcggaatcg ttttccggga cgccggctgg atgatcctcc agcgcgggga 5220

tctcatgctg gagttcttcg cccaccccaa cttgtttatt gcagcttata atggttacaa 5280

ataaagcaat agcatcacaa atttcacaaa taaagcattt ttttcactgc attctagttg 5340

tggtttgtcc aaactcatca atgtatctta tcatgtctgt ataccgtcga cctctagcta 5400

gagcttggcg taatcatggt catagctgtt tcctgtgtga aattgttatc cgctcacaat 5460

tccacacaac atacgagccg gaagcataaa gtgtaaagcc tggggtgcct aatgagtgag 5520

ctaactcaca ttaattgcgt tgcgctcact gcccgctttc cagtcgggaa acctgtcgtg 5580

ccagctgcat taatgaatcg gccaacgcgc ggggagaggc ggtttgcgta ttgggcgctc 5640

ttccgcttcc tcgctcactg actcgctgcg ctcggtcgtt cggctgcggc gagcggtatc 5700

agctcactca aaggcggtaa tacggttatc cacagaatca ggggataacg caggaaagaa 5760

catgtgagca aaaggccagc aaaaggccag gaaccgtaaa aaggccgcgt tgctggcgtt 5820

tttccatagg ctccgccccc ctgacgagca tcacaaaaat cgacgctcaa gtcagaggtg 5880

gcgaaacccg acaggactat aaagatacca ggcgtttccc cctggaagct ccctcgtgcg 5940

ctctcctgtt ccgaccctgc cgcttaccgg atacctgtcc gcctttctcc cttcgggaag 6000

cgtggcgctt tctcaatgct cacgctgtag gtatctcagt tcggtgtagg tcgttcgctc 6060

caagctgggc tgtgtgcacg aaccccccgt tcagcccgac cgctgcgcct tatccggtaa 6120

ctatcgtctt gagtccaacc cggtaagaca cgacttatcg ccactggcag cagccactgg 6180

taacaggatt agcagagcga ggtatgtagg cggtgctaca gagttcttga agtggtggcc 6240

taactacggc tacactagaa ggacagtatt tggtatctgc gctctgctga agccagttac 6300

cttcggaaaa agagttggta gctcttgatc cggcaaacaa accaccgctg gtagcggtgg 6360

ttttttgtt tgcaagcagc agattacgcg cagaaaaaaa ggatctcaag aagatccttt 6420

gatcttttct acggggtctg acgctcagtg gaacgaaaac tcacgttaag ggattttggt 6480

catgagatta tcaaaaagga tcttcaccta gatccttta aattaaaaat gaagttttaa 6540

atcaatctaa agtatatatg agtaaacttg gtctgacagt taccaatgct taatcagtga 6600

【数２６】

ggcacctatc tcagcgatct gtctatttcg ttcatccata gttgcctgac tccccgtcgt 6660

gtagataact acgatacggg agggcttacc atctggcccc agtgctgcaa tgataccgcg 6720

agacccacgc tcaccggctc cagatttatc agcaataaac cagccagccg gaagggccga 6780

gcgcagaagt ggtcctgcaa ctttatccgc ctccatccag tctattaatt gttgccggga 6840

agctagagta agtagttcgc cagttaatag tttgcgcaac gttgttgcca ttgctacagg 6900

catcgtggtg tcacgctcgt cgtttggtat ggcttcattc agctccggtt cccaacgatc 6960

aaggcgagtt acatgatccc ccatgttgtg caaaaaagcg gttagctcct tcggtcctcc 7020

gatcgttgtc agaagtaagt tggccgcagt gttatcactc atggttatgg cagcactgca 7080

taattctctt actgtcatgc catccgtaag atgcttttct gtgactggtg agtactcaac 7140

caagtcattc tgagaatagt gtatgcggcg accgagttgc tcttgcccgg cgtcaatacg 7200

ggataatacc gcgccacata gcagaacttt aaaagtgctc atcattggaa aacgttcttc 7260

ggggcgaaaa ctctcaagga tcttaccgct gttgagatcc agttcgatgt aacccactcg 7320

tgcacccaac tgatcttcag catcttttac tttcaccagc gtttctgggt gagcaaaaac 7380

aggaaggcaa aatgccgcaa aaaagggaat aagggcgaca cggaaatgtt gaatactcat 7440

actcttcctt tttcaatatt attgaagcat ttatcagggt tattgtctca tgagcggata 7500

catatttgaa tgtatttaga aaaataaaca aatagggggtt ccgcgcacat ttccccgaaa 7560

agtgccacct gacgtc 7576

<210> 7

<211> 7561

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 7

gacggatcgg gagatctccc gatccccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

cccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

【数２７】

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgaccttа tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

ggtaccggat ctcaccatgg agttggggct gagctgggtt ttcctcgttg ctcttttaag 960

aggtgtccag tgtcaggagc agctggtgga gtctgggggа ggcgtggtcc agcctgggag 1020

gtccctgaga ctctcctgtg cagcgtctgg attcaccttc agtacctatg gcatgcactg 1080

ggtccgccag gctccaggca aggggctgga gtgggtggca gttacatggc atgatggaag 1140

taataaatac tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaactccaa 1200

gaacacgctg tatctgcaaa tgaacagcct gagagccgag gacacggctg tgtattactg 1260

tgcgagagga ggagtgggag caacttacta ctactactac ggtatggacg tctggggcca 1320

agggaccacg gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggc ccatcggtct tccccctggc 1380

accctctagc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg ggctgcctgg tcaaggacta 1440

cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac 1500

cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc 1560

ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac 1620

caaggtggac aagagagttg gtgagaggcc agcacaggga gggagggtgt ctgctggaag 1680

ccaggctcag cgctcctgcc tggacgcatc ccggctatgc agtcccagtc cagggcagca 1740

aggcaggccc cgtctgcctc ttcacccgga ggcctctgcc cgccccactc atgctcaggg 1800

agagggtctt ctggcttttt ccccaggctc tgggcaggca caggctaggt gccectaacc 1860

caggccctgc acacaaaggg gcaggtgctg ggctcagacc tgccaagagc catatccggg 1920

aggaccctgc ccctgaccta agcccacccc aaaggccaaa ctctccactc cctcagctcg 1980

gacaccttct ctcctcccag attccagtaa ctcccaatct tctctctgca gagcccaaat 2040

cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccaggtaa gccagcccag gcctcgccct 2100

ccagctcaag gcgggacagg tgccctagag tagcctgcat ccagggacag gccccagccg 2160

ggtgctgaca cgtccacctc catctcttcc tcagcacctg aactcctggg gggaccgtca 2220

gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 2280

【数２８】

acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 2340

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 2400

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 2460

aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 2520

aaaggtggga cccgtggggt gcgagggcca catggacaga ggccggctcg gcccaccctc 2580

tgccctgaga gtgaccgctg taccaacctc tgtccctaca gggcagcccc gagaaccaca 2640

ggtgtacacc ctgccccccat cccgggagga gatgaccaag aaccaggtca gcctgacctg 2700

cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc 2760

ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttcctcta 2820

tagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt 2880

gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ctccgggtaa 2940

atgactcgag tctagagggc ccgtttaaac ccgctgatca gcctcgactg tgccttctag 3000

ttgccagcca tctgttgttt gcccctcccc cgtgccttcc ttgaccctgg aaggtgccac 3060

tcccactgtc ctttcctaat aaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtaggtgtca 3120

ttctattctg gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag 3180

caggcatgct ggggatgcgg tgggctctat ggcttctgag gcggaaagaa ccagctgggg 3240

ctctaggggg tatccccacg cgccctgtag cggcgcatta agcgcggcgg gtgtggtggt 3300

tacgcgcagc gtgaccgcta cacttgccag cgccctagcg cccgctcctt tcgctttctt 3360

cccttcctttctcgccacgt tcgccggctt tccccgtcaa gctctaaatc ggggcatccc 3420

tttagggttc cgatttagtg ctttacggca cctcgacccc aaaaaacttg attagggtga 3480

tggttcacgt agtgggccat cgccctgata gacggttttt cgccctttga cgttggagtc 3540

cacgttcttt aatagtggac tcttgttcca aactggaaca acactcaacc ctatctcggt 3600

ctattctttt gatttataag ggattttggg gatttcggcc tattggttaa aaaatgagct 3660

gatttaacaa aaatttaacg cgaattaatt ctgtggaatg tgtgtcagtt agggtgtgga 3720

aagtccccag gctccccagg caggcagaag tatgcaaagc atgcatctca attagtcagc 3780

aaccaggtgt ggaaagtccc caggctcccc agcaggcaga agtatgcaaa gcatgcatct 3840

caattagtca gcaaccatag tcccgccccc aactccgccc atcccgcccc taactccgcc 3900

cagttccgcc cattctccgc cccatggctg actaattttt tttatttatg cagaggccga 3960

ggccgcctct gcctctgagc tattccagaa gtagtgagga ggcttttttg gaggcctagg 4020

cttttgcaaa aagctcccgg gagcttgtat atccattttc ggatctgatc agcacgtgat 4080

gaaaaagcct gaactcaccg cgacgtctgt cgagaagttt ctgatcgaaa agttcgacag 4140

【数２９】

cgtctccgac ctgatgcagc tctcggaggg cgaagaatct cgtgctttca gcttcgatgt 4200
aggagggcgt ggatatgtcc tgcgggtaaa tagctgcgcc gatggtttct acaaagatcg 4260
ttatgtttat cggcactttg catcggccgc gctcccgatt ccggaagtgc ttgacattgg 4320
ggaattcagc gagagcctga cctattgcat ctcccgccgt gcacagggtg tcacgttgca 4380
agacctgcct gaaaccgaac tgcccgctgt tctgcagccg gtcgcggagg ccatggatgc 4440
gatcgctgcg gccgatctta gccagacgag cgggttcggc ccattcggac cgcaaggaat 4500
cggtcaatac actacatggc gtgatttcat atgcgcgatt gctgatcccc atgtgtatca 4560
ctggcaaact gtgatggacg acaccgtcag tgcgtccgtc gcgcaggctc tcgatgagct 4620
gatgctttgg gccgaggact gccccgaagt ccggcacctc gtgcacgcgg atttcggctc 4680
caacaatgtc ctgacggaca atggccgcat aacagcggtc attgactgga gcgaggcgat 4740
gttcggggat tcccaatacg aggtcgccaa catcttcttc tggaggccgt ggttggcttg 4800
tatggagcag cagacgcgct acttcgagcg gaggcatccg gagcttgcag gatcgccgcg 4860
gctccgggcg tatatgctcc gcattggtct tgaccaactc tatcagagct tggttgacgg 4920
caatttcgat gatgcagctt gggcgcaggg tcgatgcgac gcaatcgtcc gatccggagc 4980
cgggactgtc gggcgtacac aaatcgcccg cagaagcgcg gccgtctgga ccgatggctg 5040
tgtagaagta ctcgccgata gtggaaaccg acgccccagc actcgtccga gggcaaagga 5100
atagcacgtg ctacgagatt tcgattccac cgccgccttc tatgaaaggt tgggcttcgg 5160
aatcgttttc cgggacgccg gctggatgat cctccagcgc ggggatctca tgctggagtt 5220
cttcgcccac cccaacttgt ttattgcagc ttataatggt tacaaataaa gcaatagcat 5280
cacaaatttc acaaataaag catttttttc actgcattct agttgtggtt tgtccaaact 5340
catcaatgta tcttatcatg tctgtatacc gtcgacctct agctagagct tggcgtaatc 5400
atggtcatag ctgtttcctg tgtgaaattg ttatccgctc acaattccac acaacatacg 5460
agccggaagc ataaagtgta aagcctgggg tgcctaatga gtgagctaac tcacattaat 5520
tgcgttgcgc tcactgcccg ctttccagtc gggaaacctg tcgtgccagc tgcattaatg 5580
aatcggccaa cgcgcgggga gaggcggttt gcgtattggg cgctcttccg cttcctcgct 5640
cactgactcg ctgcgctcgg tcgttcggct gcggcgagcg gtatcagctc actcaaaggc 5700
ggtaatacgg ttatccacag aatcagggga taacgcagga aagaacatgt gagcaaaagg 5760
ccagcaaaag gccaggaacc gtaaaaaggc cgcgttgctg gcgtttttcc ataggctccg 5820
ccccccctgac gagcatcaca aaaatcgacg ctcaagtcag aggtggcgaa acccgacagg 5880
actataaaga taccaggcgt ttcccccctgg aagctccctc gtgcgctctc ctgttccgac 5940
cctgccgctt accggatacc tgtccgcctt tctcccttcg ggaagcgtgg cgctttctca 6000

【数３０】

atgctcacgc tgtaggtatc tcagttcggt gtaggtcgtt cgctccaagc tgggctgtgt 6060
gcacgaaccc cccgttcagc ccgaccgctg cgccttatcc ggtaactatc gtcttgagtc 6120
caacccggta agacacgact tatcgccact ggcagcagcc actggtaaca ggattagcag 6180
agcgaggtat gtaggcggtg ctacagagtt cttgaagtgg tggcctaact acggctacac 6240
tagaaggaca gtatttggta tctgcgctct gctgaagcca gttaccttcg gaaaaagagt 6300
tggtagctct tgatccggca aacaaaccac cgctggtagc ggtggttttt ttgtttgcaa 6360
gcagcagatt acgcgcagaa aaaaaggatc tcaagaagat cctttgatct tttctacggg 6420
gtctgacgct cagtggaacg aaaactcacg ttaagggatt ttggtcatga gattatcaaa 6480
aaggatcttc acctagatcc ttttaaatta aaaatgaagt tttaaatcaa tctaaagtat 6540
atatgagtaa acttggtctg acagttacca atgcttaatc agtgaggcac ctatctcagc 6600
gatctgtcta tttcgttcat ccatagttgc ctgactcccc gtcgtgtaga taactacgat 6660
acgggagggc ttaccatctg gccccagtgc tgcaatgata ccgcgagacc cacgctcacc 6720
ggctccagat ttatcagcaa taaaccagcc agccggaagg gccgagcgca gaagtggtcc 6780
tgcaactttа tccgcctcca tccagtctat taattgttgc cgggaagcta gagtaagtag 6840
ttcgccagtt aatagtttgc gcaacgttgt tgccattgct acaggcatcg tggtgtcacg 6900
ctcgtcgttt ggtatggctt cattcagctc cggttcccaa cgatcaaggc gagttacatg 6960
atcccccatg ttgtgcaaaa aagcggttag ctccttcggt cctccgatcg ttgtcagaag 7020
taagttggcc gcagtgttat cactcatggt tatggcagca ctgcataatt ctcttactgt 7080
catgccatcc gtaagatgct tttctgtgac tggtgagtac tcaaccaagt cattctgaga 7140
atagtgtatg cggcgaccga gttgctcttg cccggcgtca atacgggata taccgcgcc 7200
acatagcaga actttaaaag tgctcatcat tggaaaacgt tcttcggggc gaaaactctc 7260
aaggatctta ccgctgttga gatccagttc gatgtaaccc actcgtgcac ccaactgatc 7320
ttcagcatct tttactttca ccagcgtttc tgggtgagca aaaacaggaa ggcaaaatgc 7380
cgcaaaaaag ggaataaggg cgacacggaa atgttgaata ctcatactct tccttttтca 7440
atattattga agcatttatc agggttattg tctcatgagc ggatacatat ttgaatgtat 7500
ttagaaaaat aaacaaatag gggttccgcg cacatttccc cgaaaagtgc cacctgacgt 7560
c 7561

<210> 8

<211> 6082

<212> DNA

【数３１】

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 8

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

ccccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgaccttа tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

aagcttggat ctcaccatga gggtcctgc tcagctcctg ggactcctgc tgctctggct 960

cccagatacc agatgtgaca tccagatgac ccagtctcca tcctccctgt ctgcatctgt 1020

aggagacaga gtcaccatca cttgccgggc gagtcagggc attagcaatt atttagcctg 1080

gtatcagcag aaaacaggga aagttcctaa gttcctgatc tatgaagcat ccactttgca 1140

atcaggggtc ccatctcggt tcagtggcgg tggatctggg acagatttca ctctcaccat 1200

cagcagcctg cagcctgaag atgttgcaac ttattactgt caaaattata acagtgcccc 1260

attcactttc ggccctggga ccaaagtgga tatcaaacga actgtggctg caccctctgt 1320

cttcatcttc ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgctagcg ttgtgtgcct 1380

gctgaataac ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca 1440

atcgggtaac tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct 1500

cagcagcacc ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga 1560

agtcacccat cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgtta 1620

ggaattcgcg gccgctcgag tctagagggc ccgtttaaac ccgctgatca gcctcgactg 1680

【数３２】

tgccttctag ttgccagcca tctgttgttt gcccctcccc cgtgccttcc ttgaccctgg 1740

aaggtgccac tcccactgtc ctttcctaat aaaatgagga aattgcatcg cattgtctga 1800

gtaggtgtca ttctattctg gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg 1860

aagacaatag caggcatgct ggggatgcgg tgggctctat ggcttctgag gcggaaagaa 1920

ccagctgggg ctctaggggg tatccccacg cgccctgtag cggcgcatta agcgcggcgg 1980

gtgtggtggt tacgcgcagc gtgaccgcta cacttgccag cgccctagcg cccgctcctt 2040

tcgctttctt cccttcctit ctcgccacgt tcgccggctt tccccgtcaa gctctaaatc 2100

ggggcatccc tttagggttc cgatttagtg ctttacggca cctcgacccc aaaaaacttg 2160

attagggtga tggttcacgt agtgggccat cgccctgata gacggttttt cgccctttga 2220

cgttggagtc cacgttcttt aatagtggac tcttgttcca aactggaaca acactcaacc 2280

ctatctcggt ctattctttt gatttataag ggattttggg gatttcggcc tattggttaa 2340

aaaatgagct gatttaacaa aaatttaacg cgaattaatt ctgtggaatg tgtgtcagtt 2400

agggtgtgga aagtccccag gctccccagg caggcagaag tatgcaaagc atgcatctca 2460

attagtcagc aaccaggtgt ggaaagtccc caggctcccc agcaggcaga agtatgcaaa 2520

gcatgcatct caattagtca gcaaccatag tcccgccccc aactccgccc atcccgcccc 2580

taactccgcc cagttccgcc cattctccgc cccatggctg actaattttt tttatttatg 2640

cagaggccga ggccgcctct gcctctgagc tattccagaa gtagtgagga ggcttttttg 2700

gaggcctagg cttttgcaaa aagctcccgg gagcttgtat atccattttc ggatctgatc 2760

aagagacagg atgaggatcg tttcgcatga ttgaacaaga tggattgcac gcaggttctc 2820

cggccgcttg ggtggagagg ctattcggct atgactgggc acaacagaca atcggctgct 2880

ctgatgccgc cgtgttccgg ctgtcagcgc aggggcgccc ggttcttttt gtcaagaccg 2940

acctgtccgg tgccctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca 3000

cgacgggcgt tccttgcgca gctgtgctcg acgttgtcac tgaagcggga agggactggc 3060

tgctattggg cgaagtgccg gggcaggatc tcctgtcatc tcaccttgct cctgccgaga 3120

aagtatccat catggctgat gcaatgcggc ggctgcatac gcttgatccg gctacctgcc 3180

cattcgacca ccaagcgaaa catcgcatcg agcgagcacg tactcggatg gaagccggtc 3240

ttgtcgatca ggatgatctg gacgaagagc atcaggggct cgcgccagcc gaactgttcg 3300

ccaggctcaa ggcgcgcatg cccgacggcg aggatctcgt cgtgacccat ggcgatgcct 3360

gcttgccgaa tatcatggtg gaaaatggcc gcttttctgg attcatcgac tgtggccggc 3420

tgggtgtggc ggaccgctat caggacatag cgttggctac ccgtgatatt gctgaagagc 3480

ttggcggcga atgggctgac cgcttcctcg tgctttacgg tatcgccgct cccgattcgc 3540

【数３３】

agcgcatcgc cttctatcgc cttcttgacg agttcttctg agcgggactc tggggttcga 3600
aatgaccgac caagcgacgc ccaacctgcc atcacgagat ttcgattcca ccgccgcctt 3660
ctatgaaagg ttgggcttcg gaatcgtttt ccgggacgcc ggctggatga tcctccagcg 3720
cggggatctc atgctggagt tcttcgccca ccccaacttg tttattgcag cttataatgg 3780
ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcatttttt cactgcattc 3840
tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctgtatac cgtcgacctc 3900
tagctagagc ttggcgtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt gttatccgct 3960
cacaattcca cacaacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg gtgcctaatg 4020
agtgagctaa ctcacattaa ttgcgttgcg ctcactgccc gctttccagt cgggaaacct 4080
gtcgtgccag ctgcattaat gaatcggcca acgcgcgggg agaggcggtt tgcgtattgg 4140
gcgctcttcc gcttcctcgc tcactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc tgcggcgagc 4200
ggtatcagct cactcaaagg cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg 4260
aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct 4320
ggcgtttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca 4380
gaggtggcga aacccgacag gactataaag ataccaggcg tttccccctg gaagctccct 4440
cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct taccggatac ctgtccgcct ttctcccttc 4500
gggaagcgtg gcgctttctc aatgctcacg ctgtaggtat ctcagttcgg tgtaggtcgt 4560
tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag cccgaccgct gcgccttatc 4620
cggtaactat cgtcttgagt ccaacccggt aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc 4680
cactggtaac aggattagca gagcgaggta tgtaggcggt gctacagagt tcttgaagtg 4740
gtggcctaac tacggctaca ctagaaggac agtatttggt atctgcgctc tgctgaagcc 4800
agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag 4860
cggtggtttt tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga 4920
tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac gttaagggat 4980
tttggtcatg agattatcaa aaaggatctt cacctagatc cttttaaatt aaaaatgaag 5040
ttttaaatca atctaaagta tatatgagta aacttggtct gacagttacc aatgcttaat 5100
cagtgaggca cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg cctgactccc 5160
cgtcgtgtag ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg ctgcaatgat 5220
accgcgagac ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccagc cagccggaag 5280
ggccgagcgc agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta ttaattgttg 5340
ccgggaagct agagtaagta gttcgccagt taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgc 5400

【数３４】

tacaggcatc gtggtgtcac gctcgtcgtt tggtatggct tcattcagct ccggttccca 5460

acgatcaagg cgagttacat gatcccccat gttgtgcaaa aaagcggtta gctccttcgg 5520

tcctccgatc gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtgtta tcactcatgg ttatggcagc 5580

actgcataat tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga ctggtgagta 5640

ctcaaccaag tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt gcccggcgtc 5700

aatacgggat aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca ttggaaaacg 5760

ttcttcgggg cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc 5820

cactcgtgca cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt ctgggtgagc 5880

aaaaacagga aggcaaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga aatgttgaat 5940

actcatactc ttcctttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt gtctcatgag 6000

cggatacata tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc 6060

ccgaaaagtg ccacctgacg tc 6082

<210> 9

<211> 6082

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 9

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

ccccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

【数３５】

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

aagcttggat ctcaccatga gggtccccgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctgttt 960

cccaggtgcc agatgtgaca tccagatgac ccagtctcca tcctcactgt ctgcatctgt 1020

aggagacaga gtcaccatca cttgtcgggc gagtcagggc attaccaatt atttagcctg 1080

gtttcagcag aaaccaggga aagcccctaa gtcccttatc tatgctgcat ccagtttgca 1140

aagtggggtc ccatcaaagt tcagcggcag tggatctggg acagatttca gtctcaccat 1200

cagcagcctg cagcctgaag attttgcaac ttattactgc caacagtata atagttaccc 1260

gatcaccttc ggccaaggga cacgactgga gattaaacga actgtggctg caccatctgt 1320

cttcatcttc ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgctagcg ttgtgtgcct 1380

gctgaataac ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca 1440

atcgggtaac tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct 1500

cagcagcacc ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga 1560

agtcacccat cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgtta 1620

ggaattcgcg gccgctcgag tctagagggc ccgtttaaac ccgctgatca gcctcgactg 1680

tgccttctag ttgccagcca tctgttgttt gcccctcccc cgtgccttcc ttgaccctgg 1740

aaggtgccac tcccactgtc ctttcctaat aaaatgagga aattgcatcg cattgtctga 1800

gtaggtgtca ttctattctg gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg 1860

aagacaatag caggcatgct ggggatgcgg tgggctctat ggcttctgag gcggaaagaa 1920

ccagctgggg ctctaggggg tatccccacg cgccctgtag cggcgcatta agcgcggcgg 1980

gtgtggtggt tacgcgcagc gtgaccgcta cacttgccag cgccctagcg cccgctcctt 2040

tcgctttctt cccttccttt ctcgccacgt tcgccggctt tccccgtcaa gctctaaatc 2100

ggggcatccc tttagggttc cgatttagtg ctttacggca cctcgacccc aaaaaacttg 2160

attagggtga tggttcacgt agtgggccat cgccctgata gacggttttt cgccctttga 2220

cgttggagtc cacgttcttt aatagtggac tcttgttcca aactggaaca acactcaacc 2280

ctatctcggt ctattctttt gatttataag ggattttggg gatttcggcc tattggttaa 2340

aaaatgagct gatttaacaa aaatttaacg cgaattaatt ctgtggaatg tgtgtcagtt 2400

agggtgtgga aagtccccag gctccccagg caggcagaag tatgcaaagc atgcatctca 2460

attagtcagc aaccaggtgt ggaaagtccc caggctcccc agcaggcaga agtatgcaaa 2520

gcatgcatct caattagtca gcaaccatag tcccgccccc aactccgccc atcccgcccc 2580

【数３６】

taactccgcc cagttccgcc cattctccgc cccatggctg actaattttt tttatttatg 2640
cagaggccga ggccgcctct gcctctgagc tattccagaa gtagtgagga ggcttttttg 2700
gaggcctagg cttttgcaaa aagctcccgg gagcttgtat atccattttc ggatctgatc 2760
aagagacagg atgaggatcg tttcgcatga ttgaacaaga tggattgcac gcaggttctc 2820
cggccgcttg ggtggagagg ctattcggct atgactgggc acaacagaca atcggctgct 2880
ctgatgccgc cgtgttccgg ctgtcagcgc aggggcgccc ggttcttttt gtcaagaccg 2940
acctgtccgg tgccctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca 3000
cgacgggcgt tccttgcgca gctgtgctcg acgttgtcac tgaagcggga agggactggc 3060
tgctattggg cgaagtgccg gggcaggatc tcctgtcatc tcaccttgct cctgccgaga 3120
aagtatccat catggctgat gcaatgcggc ggctgcatac gcttgatccg gctacctgcc 3180
cattcgacca ccaagcgaaa catcgcatcg agcgagcacg tactcggatg gaagccggtc 3240
ttgtcgatca ggatgatctg gacgaagagc atcaggggct cgcgccagcc gaactgttcg 3300
ccaggctcaa ggcgcgcatg cccgacggcg aggatctcgt cgtgacccat ggcgatgcct 3360
gcttgccgaa tatcatggtg gaaaatggcc gcttttctgg attcatcgac tgtggccggc 3420
tgggtgtggc ggaccgctat caggacatag cgttggctac ccgtgatatt gctgaagagc 3480
ttggcggcga atgggctgac cgcttcctcg tgctttacgg tatcgccgct cccgattcgc 3540
agcgcatcgc cttctatcgc cttcttgacg agttcttctg agcgggactc tggggttcga 3600
aatgaccgac caagcgacgc ccaacctgcc atcacgagat ttcgattcca ccgccgcctt 3660
ctatgaaagg ttgggcttcg gaatcgtttt ccgggacgcc ggctggatga tcctccagcg 3720
cggggatctc atgctggagt tcttcgccca ccccaacttg tttattgcag cttataatgg 3780
ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcatttttct cactgcattc 3840
tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctgtatac cgtcgacctc 3900
tagctagagc ttggcgtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt gttatccgct 3960
cacaattcca cacaacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg gtgcctaatg 4020
agtgagctaa ctcacattaa ttgcgttgcg ctcactgccc gctttccagt cgggaaacct 4080
gtcgtgccag ctgcattaat gaatcggcca acgcgcgggg agaggcggtt tgcgtattgg 4140
gcgctcttcc gcttcctcgc tcactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc tgcggcgagc 4200
ggtatcagct cactcaaagg cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg 4260
aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct 4320
ggcgtttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca 4380
gaggtggcga aacccgacag gactataaag ataccaggcg tttccccctg gaagctccct 4440

【数３７】

cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct taccggatac ctgtccgcct ttctcccttc 4500
gggaagcgtg gcgctttctc aatgctcacg ctgtaggtat ctcagttcgg tgtaggtcgt 4560
tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag cccgaccgct gcgccttatc 4620
cggtaactat cgtcttgagt ccaacccggt aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc 4680
cactggtaac aggattagca gagcgaggta tgtaggcggt gctacagagt tcttgaagtg 4740
gtggcctaac tacggctaca ctagaaggac agtatttggt atctgcgctc tgctgaagcc 4800
agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag 4860
cggtggtttt tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga 4920
tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac gttaagggat 4980
tttggtcatg agattatcaa aaaggatctt cacctagatc cttttaaatt aaaaatgaag 5040
ttttaaatca atctaaagta tatatgagta aacttggtct gacagttacc aatgcttaat 5100
cagtgaggca cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg cctgactccc 5160
cgtcgtgtag ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg ctgcaatgat 5220
accgcgagac ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccagc cagccggaag 5280
ggccgagcgc agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta ttaattgttg 5340
ccgggaagct agagtaagta gttcgccagt taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgc 5400
tacaggcatc gtggtgtcac gctcgtcgtt tggtatggct tcattcagct ccggttccca 5460
acgatcaagg cgagttacat gatcccccat gttgtgcaaa aaagcggtta gctccttcgg 5520
tcctccgatc gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtgtta tcactcatgg ttatggcagc 5580
actgcataat tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga ctggtgagta 5640
ctcaaccaag tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt gcccggcgtc 5700
aatacgggat aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca ttggaaaacg 5760
ttcttcgggg cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc 5820
cactcgtgca cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt ctgggtgagc 5880
aaaaacagga aggcaaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga aatgttgaat 5940
actcatactc ttcctttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt gtctcatgag 6000
cggatacata tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc 6060
ccgaaaagtg ccacctgacg tc 6082

<210> 10

<211> 6082

【数３８】

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 10

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

cccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

aagcttggat ctcaccatga gggtccctgc tcagctcctg gggctcctgc tgctctgttt 960

cccaggtgcc agatgtgaca tccagatgac ccagtctcca tcctcactgt ctgcatctgt 1020

aggagacaga gtcaccatca cttgtcgggc gagtcagggc attagccatt atttagcctg 1080

gtttcagcag aaaccaggga aagccctaa gtccctgatc tatgctgcat ccagtttgca 1140

aagtggggtc ccatcaaagt tcagcggcag tggatctggg acagatttca ctctcaccat 1200

cagcagccta cagcctgaag attttgcaac ttattactgc caacagtata atagtttccc 1260

gctcactttc ggcggaggga ccaaggtgga gatcaaacga actgtggctg caccatctgt 1320

cttcatcttc ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgctagcg ttgtgtgcct 1380

gctgaataac ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgccctcca 1440

atcgggtaac tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct 1500

cagcagcacc ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga 1560

agtcacccat cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc ttcaacaggg gagagtgtta 1620

【数３９】

ggaattcgcg gccgctcgag tctagagggc ccgtttaaac ccgctgatca gcctcgactg 1680

tgccttctag ttgccagcca tctgttgttt gcccctcccc cgtgccttcc ttgaccctgg 1740

aaggtgccac tcccactgtc ctttcctaat aaaatgagga attgcatcg cattgtctga 1800

gtaggtgtca ttctattctg gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg 1860

aagacaatag caggcatgct ggggatgcgg tgggctctat ggcttctgag gcggaaagaa 1920

ccagctgggg ctctaggggg tatccccacg cgccctgtag cggcgcatta agcgcggcgg 1980

gtgtggtggt tacgcgcagc gtgaccgcta cacttgccag cgccctagcg cccgctcctt 2040

tcgctttctt cccttccttt ctcgccacgt tcgccggctt tccccgtcaa gctctaaatc 2100

ggggcatccc tttagggttc cgatttagtg ctttacggca cctcgacccc aaaaaacttg 2160

attagggtga tggttcacgt agtgggccat cgccctgata gacggttttt cgccctttga 2220

cgttggagtc cacgttcttt aatagtggac tcttgttcca aactggaaca acactcaacc 2280

ctatctcggt ctattctttt gatttataag ggattttggg gatttcggcc tattggttaa 2340

aaaatgagct gatttaacaa aaatttaacg cgaattaatt ctgtggaatg tgtgtcagtt 2400

agggtgtgga aagtccccag gctccccagg caggcagaag tatgcaaagc atgcatctca 2460

attagtcagc aaccaggtgt ggaaagtccc caggctcccc agcaggcaga agtatgcaaa 2520

gcatgcatct caattagtca gcaaccatag tcccgccccc aactccgccc atcccgcccc 2580

taactccgcc cagttccgcc cattctccgc cccatggctg actaattttt tttatttatg 2640

cagaggccga ggccgcctct gcctctgagc tattccagaa gtagtgagga ggcttttttg 2700

gaggcctagg cttttgcaaa aagctcccgg gagcttgtat atccattttc ggatctgatc 2760

aagagacagg atgaggatcg tttcgcatga ttgaacaaga tggattgcac gcaggttctc 2820

cggccgcttg ggtggagagg ctattcggct atgactgggc acaacagaca atcggctgct 2880

ctgatgccgc cgtgttccgg ctgtcagcgc aggggcgccc ggttcttttt gtcaagaccg 2940

acctgtccgg tgccctgaat gaactgcagg acgaggcagc gcggctatcg tggctggcca 3000

cgacgggcgt tccttgcgca gctgtgctcg acgttgtcac tgaagcggga agggactggc 3060

tgctattggg cgaagtgccg gggcaggatc tcctgtcatc tcaccttgct cctgccgaga 3120

aagtatccat catggctgat gcaatgcggc ggctgcatac gcttgatccg gctacctgcc 3180

cattcgacca ccaagcgaaa catcgcatcg agcgagcacg tactcggatg gaagccggtc 3240

ttgtcgatca ggatgatctg gacgaagagc atcaggggct cgcgccagcc gaactgttcg 3300

ccaggctcaa ggcgcgcatg cccgacggcg aggatctcgt cgtgacccat ggcgatgcct 3360

gcttgccgaa tatcatggtg gaaaatggcc gcttttctgg attcatcgac tgtggccggc 3420

tgggtgtggc ggaccgctat caggacatag cgttggctac ccgtgatatt gctgaagagc 3480

【数４０】

ttggcggcga atgggctgac cgcttcctcg tgctttacgg tatcgccgct cccgattcgc 3540

agcgcatcgc cttctatcgc cttcttgacg agttcttctg agcgggactc tggggttcga 3600

aatgaccgac caagcgacgc ccaacctgcc atcacgagat ttcgattcca ccgccgcctt 3660

ctatgaaagg ttgggcttcg gaatcgtttt ccgggacgcc ggctggatga tcctccagcg 3720

cggggatctc atgctggagt tcttcgccca ccccaacttg tttattgcag cttataatgg 3780

ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcatttttt cactgcattc 3840

tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctgtatac cgtcgacctc 3900

tagctagagc ttggcgtaat catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt gttatccgct 3960

cacaattcca cacaacatac gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg gtgcctaatg 4020

agtgagctaa ctcacattaa ttgcgttgcg ctcactgccc gctttccagt cgggaaacct 4080

gtcgtgccag ctgcattaat gaatcggcca acgcgcgggg agaggcggtt tgcgtattgg 4140

gcgctcttcc gcttcctcgc tcactgactc gctgcgctcg gtcgttcggc tgcggcgagc 4200

ggtatcagct cactcaaagg cggtaatacg gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg 4260

aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac cgtaaaaagg ccgcgttgct 4320

ggcgtttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca 4380

gaggtggcga aacccgacag gactataaag ataccaggcg tttccccctg gaagctccct 4440

cgtgcgctct cctgttccga ccctgccgct taccggatac ctgtccgcct ttctcccttc 4500

gggaagcgtg gcgctttctc aatgctcacg ctgtaggtat ctcagttcgg tgtaggtcgt 4560

tcgctccaag ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag cccgaccgct gcgccttatc 4620

cggtaactat cgtcttgagt ccaacccggt aagacacgac ttatcgccac tggcagcagc 4680

cactggtaac aggattagca gagcgaggta tgtaggcggt gctacagagt tcttgaagtg 4740

gtggcctaac tacggctaca ctagaaggac agtatttggt atctgcgctc tgctgaagcc 4800

agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag 4860

cggtggtttt tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga 4920

tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac gttaagggat 4980

tttggtcatg agattatcaa aaaggatctt cacctagatc cttttaaatt aaaaatgaag 5040

ttttaaatca atctaaagta tatatgagta aacttggtct gacagttacc aatgcttaat 5100

cagtgaggca cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagttg cctgactccc 5160

cgtcgtgtag ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg ctgcaatgat 5220

accgcgagac ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccagc cagccggaag 5280

ggccgagcgc agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta ttaattgttg 5340

【数４１】

ccgggaagct agagtaagta gttcgccagt taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgc 5400

tacaggcatc gtggtgtcac gctcgtcgtt tggtatggct tcattcagct ccggttccca 5460

acgatcaagg cgagttacat gatcccccat gttgtgcaaa aaagcggtta gctccttcgg 5520

tcctccgatc gttgtcagaa gtaagttggc cgcagtgtta tcactcatgg ttatggcagc 5580

actgcataat tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga ctggtgagta 5640

ctcaaccaag tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt gcccggcgtc 5700

aatacgggat aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca ttggaaaacg 5760

ttcttcgggg cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc 5820

cactcgtgca cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt ctgggtgagc 5880

aaaaacagga aggcaaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga aatgttgaat 5940

actcatactc ttccttttтc aatattattg aagcatttat cagggttatt gtctcatgag 6000

cggatacata tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc 6060

ccgaaaagtg ccacctgacg tc 6082

<210> 11

<211> 6085

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 11

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

ccccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgaccttа tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

【数４２】

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

aagcttggat ctcaccatga gggtccccgc tcagcttctc ttccttctgc tactctggct 960

cccagatacc actggaggaa tagtgatgac gcagtctcca gccaccctgt ctgtgtctcc 1020

aggggaaaga gccaccctct cctgcaggac cagtcagagt attggctgga acttagcctg 1080

gtaccaacag aaacctggcc aggctcccag gctcctcatc tatggtgcat cttccaggac 1140

cactggtatc ccagccaggt tcagtggcag tgggtctggg acagagttca ctctcaccat 1200

cagcagcctg cagtctgaag attctgcagt ttattactgt cagcattatg ataactggcc 1260

catgtgcagt ttttggccagg ggaccgagct ggagatcaaa cgaactgtgg ctgcaccatc 1320

tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcta gcgttgtgtg 1380

cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct 1440

ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag 1500

cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg 1560

cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg 1620

ttaggaattc gcggccgctc gagtctagag ggcccgttta aacccgctga tcagcctcga 1680

ctgtgccttc tagttgccag ccatctgttg tttgcccctc ccccgtgcct tccttgaccc 1740

tggaaggtgc cactcccact gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc 1800

tgagtaggtg tcattctatt ctgggggggtg gggtggggca ggacagcaag ggggaggatt 1860

gggaagacaa tagcaggcat gctggggatg cggtgggctc tatggcttct gaggcggaaa 1920

gaaccagctg gggctctagg gggtatcccc acgcgccctg tagcggcgca ttaagcgcgg 1980

cgggtgtggt ggttacgcgc agcgtgaccg ctacacttgc cagcgcccta gcgcccgctc 2040

ctttcgcttt cttcccttcc tttctcgcca cgttcgccgg ctttccccgt caagctctaa 2100

atcggggcat cccttaggg ttccgattta gtgctttacg gcacctcgac cccaaaaaac 2160

ttgattaggg tgatggttca cgtagtgggc catcgccctg atagacggtt tttcgccctt 2220

tgacgttgga gtccacgttc tttaatagtg gactcttgtt ccaaactgga acaacactca 2280

accctatctc ggtctattct tttgatttat aagggatttt ggggatttcg gcctattggt 2340

taaaaaatga gctgatttaa caaaaattta acgcgaatta attctgtgga atgtgtgtca 2400

gttagggtgt ggaaagtccc caggctcccc aggcaggcag aagtatgcaa agcatgcatc 2460

tcaattagtc agcaaccagg tgtggaaagt ccccaggctc cccagcaggc agaagtatgc 2520

【数４３】

aaagcatgca tctcaattag tcagcaacca tagtcccgcc cctaactccg cccatcccgc 2580

ccctaactcc gcccagttcc gcccattctc cgccccatgg ctgactaatt ttttttattt 2640

atgcagaggc cgaggccgcc tctgcctctg agctattcca gaagtagtga ggaggctttt 2700

ttggaggcct aggcttttgc aaaaagctcc cgggagcttg tatatccatt ttcggatctg 2760

atcaagagac aggatgagga tcgtttcgca tgattgaaca agatggattg cacgcaggtt 2820

ctccggccgc ttgggtggag aggctattcg gctatgactg ggcacaacag acaatcggct 2880

gctctgatgc cgccgtgttc cggctgtcag cgcaggggcg cccggttctt tttgtcaaga 2940

ccgacctgtc cggtgccctg aatgaactgc aggacgaggc agcgcggcta tcgtggctgg 3000

ccacgacggg cgttccttgc gcagctgtgc tcgacgttgt cactgaagcg ggaagggact 3060

ggctgctatt gggcgaagtg ccggggcagg atctcctgtc atctcacctt gctcctgccg 3120

agaaagtatc catcatggct gatgcaatgc ggcggctgca tacgcttgat ccggctacct 3180

gcccattcga ccaccaagcg aaacatcgca tcgagcgagc acgtactcgg atggaagccg 3240

gtcttgtcga tcaggatgat ctggacgaag agcatcaggg gctcgcgcca gccgaactgt 3300

tcgccaggct caaggcgcgc atgcccgacg gcgaggatct cgtcgtgacc catggcgatg 3360

cctgcttgcc gaatatcatg gtggaaaatg gccgcttttc tggattcatc gactgtggcc 3420

ggctgggtgt ggcggaccgc tatcaggaca tagcgttggc tacccgtgat attgctgaag 3480

agcttggcgg cgaatgggct gaccgcttcc tcgtgcttta cggtatcgcc gctcccgatt 3540

cgcagcgcat cgccttctat cgccttcttg acgagttctt ctgagcggga ctctggggtt 3600

cgaaatgacc gaccaagcga cgcccaacct gccatcacga gatttcgatt ccaccgccgc 3660

cttctatgaa aggttgggct tcggaatcgt tttccgggac gccggctgga tgatcctcca 3720

gcgcggggat ctcatgctgg agttcttcgc ccaccccaac ttgtttattg cagcttataa 3780

tggttacaaa taaagcaata gcatcacaaa tttcacaaat aaagcatttt tttcactgca 3840

ttctagttgt ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctgta taccgtcgac 3900

ctctagctag agcttggcgt aatcatggtc atagctgttt cctgtgtgaa attgttatcc 3960

gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg aagcataaag tgtaaagcct ggggtgccta 4020

atgagtgagc taactcacat taattgcgtt gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa 4080

cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat 4140

tgggcgctct tccgcttcct cgctcactga ctcgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg 4200

agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc 4260

aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt 4320

gctggcgttt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag 4380

【数４４】

tcagaggtgg cgaaacccga caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc 4440
cctcgtgcgc tctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cctttctccc 4500
ttcgggaagc gtggcgcttt ctcaatgctc acgctgtagg tatctcagtt cggtgtaggt 4560
cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga acccccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt 4620
atccggtaac tatcgtcttg agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc 4680
agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa 4740
gtggtggcct aactacggct acactagaag gacagtattt ggtatctgcg ctctgctgaa 4800
gccagttacc ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc ggcaaacaaa ccaccgctgg 4860
tagcggtggt ttttttgttt gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga 4920
agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg aacgaaaact cacgttaagg 4980
gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag atccttttaa attaaaaatg 5040
aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg tctgacagtt accaatgctt 5100
aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt tcatccatag ttgcctgact 5160
ccccgtcgtg tagataacta cgatacggga gggcttacca tctggccccа gtgctgcaat 5220
gataccgcga gacccacgct caccggctcc agatttatca gcaataaacc agccagccgg 5280
aagggccgag cgcagaagtg gtcctgcaac tttatccgcc tccatccagt ctattaattg 5340
ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt ttgcgcaacg ttgttgccat 5400
tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg gcttcattca gctccggttc 5460
ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc aaaaaagcgg ttagctcctt 5520
cggtcctccg atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg ttatcactca tggttatggc 5580
agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga tgcttttctg tgactggtga 5640
gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga ccgagttgct cttgcccggc 5700
gtcaatacgg gataataccg cgccacatag cagaacttta aaagtgctca tcattggaaa 5760
acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg ttgagatcca gttcgatgta 5820
acccactcgt gcacccaact gatcttcagc atcttttact ttcaccagcg tttctgggtg 5880
agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata agggcgacac ggaaatgttg 5940
aatactcata ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt tatcagggtt attgtctcat 6000
gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaacaa ataggggttc cgcgcacatt 6060
tccccgaaaa gtgccacctg acgtc 6085

<210> 12

【数４５】

<211> 6097

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 12

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

cccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660

actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720

aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780

gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840

ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900

aagcttggat ctcaccatga gggtccctgc tcagctcctg gggctgctaa tgctctggat 960

acctggatcc agtgcagata ttgtgatgac ccagactcca ctctctctgt ccgtcacccc 1020

tggacagccg gcctccatct cctgcaagtc tagtcagagc ctcctgcata gtgatggaaa 1080

gaccttttg tattggtatc tgcagaagcc aggccagcct ccacagctcc tgatctatga 1140

ggtttccaac cggttctctg gagtgccaga taggttcagt ggcagcgggt cagggacaga 1200

tttcacactg aaaatcagcc gggtggaggc tgaggatgtt gggctttatt actgcatgca 1260

aagtatacag cttccgctca ctttcggcgg agggaccaag gtggagatca aacgaactgt 1320

ggctgcacca tctgtcttca tcttcccgcc atctgatgag cagttgaaat ctggaactgc 1380

tagcgttgtg tgcctgctga ataacttcta tcccagagag gccaaagtac agtggaaggt 1440

ggataacgcc ctccaatcgg gtaactccca ggagagtgtc acagagcagg acagcaagga 1500

cagcacctac agcctcagca gcaccctgac gctgagcaaa gcagactacg agaaacacaa 1560

【数４６】

agtctacgcc tgcgaagtca cccatcaggg cctgagctcg cccgtcacaa agagcttcaa 1620

caggggagag tgttaggaat tcgcggccgc tcgagtctag agggcccgtt taaaccccgct 1680

gatcagcctc gactgtgcct tctagttgcc agccatctgt tgtttgcccc tcccccgtgc 1740

cttccttgac cctggaaggt gccactccca ctgtcctttc ctaataaaat gaggaaattg 1800

catcgcattg tctgagtagg tgtcattcta ttctgggggg tggggtgggg caggacagca 1860

agggggagga ttgggaagac aatagcaggc atgctgggga tgcggtgggc tctatggctt 1920

ctgaggcgga aagaaccagc tggggctcta ggggtatcc ccacgcgccc tgtagcggcg 1980

cattaagcgc ggcgggtgtg gtggttacgc gcagcgtgac cgctacactt gccagcgccc 2040

tagcgcccgc tcctttcgct ttcttccctt cctttctcgc cacgttcgcc ggctttcccc 2100

gtcaagctct aaatcggggc atcccttag ggttccgatt tagtgcttta cggcacctcg 2160

accccaaaaa acttgattag ggtgatggtt cacgtagtgg gccatcgccc tgatagacgg 2220

tttttcgccc tttgacgttg gagtccacgt tctttaatag tggactcttg ttccaaactg 2280

gaacaacact caaccctatc tcggtctatt cttttgattt ataagggatt ttggggattt 2340

cggcctattg gttaaaaaat gagctgattt aacaaaaatt taacgcgaat taattctgtg 2400

gaatgtgtgt cagttagggt gtggaaagtc cccaggctcc ccaggcaggc agaagtatgc 2460

aaagcatgca tctcaattag tcagcaacca ggtgtggaaa gtccccaggc tccccagcag 2520

gcagaagtat gcaaagcatg catctcaatt agtcagcaac catagtcccg cccctaactc 2580

cgcccatccc gcccctaact ccgcccagtt ccgcccattc tccgccccat ggctgactaa 2640

ttttttttat ttatgcagag gccgaggccg cctctgcctc tgagctattc cagaagtagt 2700

gaggaggctt ttttggaggc ctaggctttt gcaaaaagct cccgggagct tgtatatcca 2760

ttttcggatc tgatcaagag acaggatgag gatcgtttcg catgattgaa caagatggat 2820

tgcacgcagg ttctccggcc gcttgggtgg agaggctatt cggctatgac tgggcacaac 2880

agacaatcgg ctgctctgat gccgccgtgt tccggctgtc agcgcagggg cgcccggttc 2940

tttttgtcaa gaccgacctg tccggtgccc tgaatgaact gcaggacgag gcagcgcggc 3000

tatcgtggct ggccacgacg ggcgttcctt gcgcagctgt gctcgacgtt gtcactgaag 3060

cgggaaggga ctggctgcta ttgggcgaag tgccggggca ggatctcctg tcatctcacc 3120

ttgctcctgc cgagaaagta tccatcatgg ctgatgcaat gcggcggctg catacgcttg 3180

atccggctac ctgcccattc gaccaccaag cgaaacatcg catcgagcga gcacgtactc 3240

ggatggaagc cggtcttgtc gatcaggatg atctggacga agagcatcag gggctcgcgc 3300

cagccgaact gttcgccagg ctcaaggcgc gcatgcccga cggcgaggat ctcgtcgtga 3360

cccatggcga tgcctgcttg ccgaatatca tggtggaaaa tggccgcttt tctggattca 3420

【数４７】

tcgactgtgg ccggctgggt gtggcggacc gctatcagga catagcgttg gctacccgtg 3480

atattgctga agagcttggc ggcgaatggg ctgaccgctt cctcgtgctt tacggtatcg 3540

ccgctcccga ttcgcagcgc atcgccttct atcgccttct tgacgagttc ttctgagcgg 3600

gactctgggg ttcgaaatga ccgaccaagc gacgcccaac ctgccatcac gagatttcga 3660

ttccaccgcc gccttctatg aaaggttggg cttcggaatc gttttccggg acgccggctg 3720

gatgatcctc cagcgcgggg atctcatgct ggagttcttc gcccacccca acttgtttat 3780

tgcagcttat aatggttaca ataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt 3840

tttttcactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt atcatgtctg 3900

tataccgtcg acctctagct agagcttggc gtaatcatgg tcatagctgt ttcctgtgtg 3960

aaattgttat ccgctcacaa ttccacacaa catacgagcc ggaagcataa agtgtaaagc 4020

ctggggtgcc taatgagtga gctaactcac attaattgcg ttgcgctcac tgcccgcttt 4080

ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg 4140

cggtttgcgt attgggcgct cttccgcttc ctcgctcact gactcgctgc gctcggtcgt 4200

tcggctgcgg cgagcggtat cagctcactc aaaggcggta atacggttat ccacagaatc 4260

aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa 4320

aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag gctccgcccc cctgacgagc atcacaaaaa 4380

tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc aggcgtttcc 4440

ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgaccctg ccgcttaccg gatacctgtc 4500

cgcctttctc ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcaatgc tcacgctgta ggtatctcag 4560

ttcggtgtag gtcgttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaaccccccg ttcagcccga 4620

ccgctgcgcc ttatccggta actatcgtct tgagtccaac ccggtaagac acgacttatc 4680

gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac 4740

agagttcttg aagtggtggc ctaactacgg ctacactaga aggacagtat ttggtatctg 4800

cgctctgctg aagccagtta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat ccggcaaaca 4860

aaccaccgct ggtagcggtg gttttttttgt ttgcaagcag cagattacgc gcagaaaaaa 4920

aggatctcaa gaagatcctt tgatcttttc tacggggtct gacgctcagt ggaacgaaaa 4980

ctcacgttaa gggattttgg tcatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt 5040

aaattaaaaa tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaacct ggtctgacag 5100

ttaccaatgc ttaatcagtg aggcacctat ctcagcgatc tgtctatttc gttcatccat 5160

agttgcctga ctccccgtcg tgtagataac tacgatacgg gagggcttac catctggccc 5220

cagtgctgca atgataccgc gagacccacg ctcaccggct ccagatttat cagcaataaa 5280

【数４８】

ccagccagcc ggaagggccg agcgcagaag tggtcctgca actttatccg cctccatcca 5340

gtctattaat tgttgccggg aagctagagt aagtagttcg ccagttaata gtttgcgcaa 5400

cgttgttgcc attgctacag gcatcgtggt gtcacgctcg tcgtttggta tggcttcatt 5460

cagctccggt tcccaacgat caaggcgagt tacatgatcc cccatgttgt gcaaaaaagc 5520

ggttagctcc ttcggtcctc cgatcgttgt cagaagtaag ttggccgcag tgttatcact 5580

catggttatg gcagcactgc ataattctct tactgtcatg ccatccgtaa gatgcttttc 5640

tgtgactggt gagtactcaa ccaagtcatt ctgagaatag tgtatgcggc gaccgagttg 5700

ctcttgcccg gcgtcaatac gggataatac cgcgccacat agcagaactt taaaagtgct 5760

catcattgga aaacgttctt cggggcgaaa actctcaagg atcttaccgc tgttgagatc 5820

cagttcgatg taacccactc gtgcacccaa ctgatcttca gcatctttta ctttcaccag 5880

cgtttctggg tgagcaaaaa caggaaggca aaatgccgca aaaaagggaa taagggcgac 5940

acggaaatgt tgaatactca tactcttcct ttttcaatat tattgaagca tttatcaggg 6000

ttattgtctc atgagcggat acatatttga atgtatttag aaaaataaac aaataggggt 6060

tccgcgcaca tttccccgaa aagtgccacc tgacgtc 6097

<210> 13

<211> 6094

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Plasmid

<400> 13

gacggatcgg gagatctccc gatcccctat ggtcgactct cagtacaatc tgctctgatg 60

ccgcatagtt aagccagtat ctgctccctg cttgtgtgtt ggaggtcgct gagtagtgcg 120

cgagcaaaat ttaagctaca acaaggcaag gcttgaccga caattgcatg aagaatctgc 180

ttagggttag gcgttttgcg ctgcttcgcg atgtacgggc cagatatacg cgttgacatt 240

gattattgac tagttattaa tagtaatcaa ttacggggtc attagttcat agcccatata 300

tggagttccg cgttacataa cttacggtaa atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc 360

cccgcccatt gacgtcaata atgacgtatg ttcccatagt aacgccaata gggactttcc 420

attgacgtca atgggtggac tatttacggt aaactgccca cttggcagta catcaagtgt 480

atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt 540

atgcccagta catgacctta tgggactttc ctacttggca gtacatctac gtattagtca 600

【数４９】

tcgctattac catggtgatg cggttttggc agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg 660
actcacgggg atttccaagt ctccacccca ttgacgtcaa tgggagtttg ttttggcacc 720
aaaatcaacg ggactttcca aaatgtcgta acaactccgc cccattgacg caaatgggcg 780
gtaggcgtgt acggtgggag gtctatataa gcagagctct ctggctaact agagaaccca 840
ctgcttactg gcttatcgaa attaatacga ctcactatag ggagacccaa gctggctaga 900
aagcttggat ctcaccatgg tgttgcagac ccaggtcttc atttctctgt tactctggat 960
ctctggtgcc tacggggaca tcgtgatgac ccagtctcca gactccctgg ctgtgtctct 1020
gggcgagagg gccaccatca actgcaagtc caaccagagt gtcttacaca gctccaacaa 1080
taagaactat ttagcttggt accagcagaa accaggacag cctcctaaat tgctcattta 1140
ttgggcattc ctccgggaat ccggggtccc tgaccgcttc agtggcagcg ggtctgggac 1200
agatttcact ctcaccatca gcagcctgca ggctgaagat gtggcagttt attactgtca 1260
ccaatattat tctactttat atactttcgg cggagggacc aaggtagaga tcaaacgaac 1320
ygtggctgca ccatctgtct tcatcttccc gccatctgat gagcagttga aatctggaac 1380
tgctagcgtt gtgtgcctgc tgaataactt ctatcccaga gaggccaaag tacagtggaa 1440
ggtggataac gccctccaat cgggtaactc ccaggagagt gtcacagagc aggacagcaa 1500
ggacagcacc tacagcctca gcagcaccct gacgctgagc aaagcagact acgagaaaca 1560
caaagtctac gcctgcgaag tcacccatca gggcctgagc tcgcccgtca caaagagctt 1620
caacagggga gagtgttagg cggccgctcg agtctagagg gcccgtttaa acccgctgat 1680
cagcctcgac tgtgccttct agttgccagc catctgttgt ttgcccctcc cccgtgcctt 1740
ccttgaccct ggaaggtgcc actcccactg tcctttccta ataaaatgag gaaattgcat 1800
cgcattgtct gagtaggtgt cattctattc tgggggggtgg ggtggggcag gacagcaagg 1860
gggaggattg ggaagacaat agcaggcatg ctggggatgc ggtgggctct atggcttctg 1920
aggcggaaag aaccagctgg ggctctaggg ggtatccccа cgcgccctgt agcggcgcat 1980
taagcgcggc gggtgtggtg gttacgcgca gcgtgaccgc tacacttgcc agcgccctag 2040
cgcccgctcc tttcgctttc ttcccttcct ttctcgccac gttcgccggc tttccccgtc 2100
aagctctaaa tcggggcatc cctttagggt tccgatttag tgctttacgg cacctcgacc 2160
ccaaaaaact tgattagggt gatggttcac gtagtgggcc atcgccctga tagacggttt 2220
ttcgcccttt gacgttggag tccacgttct ttaatagtgg actcttgttc caaactggaa 2280
caacactcaa ccctatctcg gtctattctt ttgatttata agggattttg gggatttcgg 2340
cctattggtt aaaaaatgag ctgatttaac aaaaatttaa cgcgaattaa ttctgtggaa 2400
tgtgtgtcag ttagggtgtg gaaagtcccc aggctcccca ggcaggcaga agtatgcaaa 2460

【数５０】

gcatgcatct caattagtca gcaaccaggt gtggaaagtc cccaggctcc ccagcaggca 2520

gaagtatgca aagcatgcat ctcaattagt cagcaaccat agtcccgccc ctaactccgc 2580

ccatcccgcc cctaactccg cccagttccg cccattctcc gccccatggc tgactaattt 2640

tttttattta tgcagaggcc gaggccgcct ctgcctctga gctattccag aagtagtgag 2700

gaggcttttt tggaggccta ggcttttgca aaaagctccc gggagcttgt atatccattt 2760

tcggatctga tcaagagaca ggatgaggat cgtttcgcat gattgaacaa gatggattgc 2820

acgcaggttc tccggccgct tgggtggaga ggctattcgg ctatgactgg gcacaacaga 2880

caatcggctg ctctgatgcc gccgtgttcc ggctgtcagc gcaggggcgc ccggttcttt 2940

ttgtcaagac cgacctgtcc ggtgccctga atgaactgca ggacgaggca gcgcggctat 3000

cgtggctggc cacgacgggc gttccttgcg cagctgtgct cgacgttgtc actgaagcgg 3060

gaagggactg gctgctattg ggcgaagtgc cggggcagga tctcctgtca tctcaccttg 3120

ctcctgccga gaaagtatcc atcatggctg atgcaatgcg gcggctgcat acgcttgatc 3180

cggctacctg cccattcgac caccaagcga aacatcgcat cgagcgagca cgtactcgga 3240

tggaagccgg tcttgtcgat caggatgatc tggacgaaga gcatcagggg ctcgcgccag 3300

ccgaactgtt cgccaggctc aaggcgcgca tgcccgacgg cgaggatctc gtcgtgaccc 3360

atggcgatgc ctgcttgccg aatatcatgg tggaaaatgg ccgcttttct ggattcatcg 3420

actgtggccg gctgggtgtg gcggaccgct atcaggacat agcgttggct acccgtgata 3480

ttgctgaaga gcttggcggc gaatgggctg accgcttcct cgtgctttac ggtatcgccg 3540

ctcccgattc gcagcgcatc gccttctatc gccttcttga cgagttcttc tgagcgggac 3600

tctggggttc gaaatgaccg accaagcgac gcccaacctg ccatcacgag atttcgattc 3660

caccgccgcc ttctatgaaa ggttgggctt cggaatcgtt ttccgggacg ccggctggat 3720

gatcctccag cgcggggatc tcatgctgga gttcttcgcc caccccaact tgtttattgc 3780

agcttataat ggttacaaat aaagcaatag catcacaaat ttcacaaata aagcattttt 3840

ttcactgcat tctagttgtg gtttgtccaa actcatcaat gtatcttatc atgtctgtat 3900

accgtcgacc tctagctaga gcttggcgta atcatggtca tagctgtttc ctgtgtgaaa 3960

ttgttatccg ctcacaattc cacacaacat acgagccgga agcataaagt gtaaagcctg 4020

gggtgcctaa tgagtgagct aactcacatt aattgcgttg cgctcactgc ccgctttcca 4080

gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatcggc caacgcgcgg ggagaggcgg 4140

tttgcgtatt gggcgctctt ccgcttcctc gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg 4200

gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg 4260

ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa 4320

【数５１】

ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct ccgccccccc gacgagcatc acaaaaatcg 4380
acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa agataccagg cgtttccccc 4440
tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc 4500
ctttctcccc tcgggaagcg tggcgctttc tcaatgctca cgctgtaggt atctcagttc 4560
ggtgtaggtc gttcgctcca agctgggctg tgtgcacgaa cccccgttc agcccgaccg 4620
ctgcgccttа tccggtaact atcgtcttga gtccaacccg gtaagacacg acttatcgcc 4680
actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg tatgtaggcg gtgctacaga 4740
gttcttgaag tggtggccta actacggcta cactagaagg acagtatttg gtatctgcgc 4800
tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc tcttgatccg gcaaacaaac 4860
caccgctggt agcggtggtt tttttgtttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg 4920
atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc 4980
acgttaaggg attttggtca tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaaa 5040
ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag taaacttggt ctgacagtta 5100
ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt ctatttcgtt catccatagt 5160
tgcctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag ggcttaccat ctggccccag 5220
tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc accggctcca gatttatcag caataaacca 5280
gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc 5340
tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt 5400
tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag 5460
ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatccccc atgttgtgca aaaaagcggt 5520
tagctccttc ggtcctccga tcgttgtcag aagtaagttg gccgcagtgt tatcactcat 5580
ggttatggca gcactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt 5640
gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc 5700
ttgcccggcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgctcat 5760
cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag 5820
ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt 5880
ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa gggcgacacg 5940
gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta 6000
ttgtctcatg agcggatаca tatttgaatg tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc 6060
gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtc 6094

【数５２】

<210> 14

<211> 481

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Includes BamHI/Bg1II cloning junction, signal peptide, V region, portion of C region and 3'XbaI/NheI (heavy) or NheI (light) cloning junction

<400> 14

ggatctcacc atggagttgg gactgcgctg gggcttcctc gttgctcttt taagaggtgt 60

ccagtgtcag gtgcaattgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct 120

gagactctcc tgtgcagcgt ctggattcgc cttcagtaga tatggcatgc actgggtccg 180

ccaggctcca ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tggtatgatg gaagtaataa 240

atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac 300

gcagtatctg caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag 360

aggcggtgac ttcctctact actactatta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac 420

ggtcaccgtc tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctctag 480

c 481

<210> 15

<211> 142

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Glu Leu Gly Leu Arg Trp Gly Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe
35 40 45

Ser Arg Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

【数５３】

Thr Gln Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Asp Phe Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
115 120 125

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 16

<211> 463

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Includes BamHI/BglII cloning junction, signal peptide, V region, portion of C region and 3'XbaI/NheI (heavy) or NheI (light) cloning junction

<400> 16
ggatctcacc atgagggtcc ctgctcagct cctgggactc ctgctgctct ggctcccaga 60

taccagatgt gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga 120

cagagtcacc atcacttgcc gggcgagtca gggcattagc aattatttag cctggtatca 180

gcagaaaaca gggaaagttc ctaagttcct gatctatgaa gcatccactt tgcaatcagg 240

ggtcccatct cggttcagtg gcggtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag 300

cctgcagcct gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaat tataacagtg ccccattcac 360

tttcggccct gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcaccct ctgtcttcat 420

cttcccgcca tctgatgagc agttgaaatc tggaactgct agc 463

<210> 17

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
35 40 45

Ile Ser Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Lys Val Pro
50 55 60

【数５４】

Lys Phe Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Tyr Asn
100 105 110

Ser Ala Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
115 120 125

<210> 18

<211> 508

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Includes BamHI/Bg1II cloning junction, signal peptide, V region, portion of C region and 3'XbaI/NheI (heavy) or NheI (light) cloning junction

<400> 18
ggatctcacc atggggtcaa ccgccatcct caccatggag ttggggctgc gctgggttct 60

cctcgttgct cttttaagag gtgtccagtg tcaggtgcag ctggtggagt ctgggggagg 120

cgtggtccag cctgggaggt ccctgagact ctcctgtgca gcgtctggat tcaccttcag 180

taactatgtc atgcactggg tccgccaggc tccaggcaag gggctggagt gggtggcaat 240

tatatggtat gatggaagta ataaatacta tgcagactcc gtgaagggcc gattcaccat 300

ctccagagac aattccaaga acacgctgta tctgcaaatg aacagcctga gagccgagga 360

cacggctgtg tattactgtg cgggtggata taactggaac tacgagtacc actactacgg 420

tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc tcagcctcca ccaagggccc 480

atcggtcttc cccctggcac cctctagc 508

<210> 19

<211> 143

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Glu Leu Gly Leu Arg Trp Val Leu Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

【数５５】

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asn Tyr Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Tyr Asn Trp Asn Tyr Glu Tyr His Tyr Tyr
115 120 125

Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 20

<211> 463

<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220>

<223> Includes BamHI/BglII cloning junction, signal peptide, V region, portion of C region and 3'XbaI/NheI (heavy) or NheI (light) cloning junction

<400> 20
ggatctcacc atgagggtcc ccgctcagct cctggggctc ctgctgctct gtttcccagg 60

tgccagatgt gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga 120

cagagtcacc atcacttgtc gggcgagtca gggcattacc aattatttag cctggtttca 180

gcagaaacca gggaaagccc ctaagtccct tatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg 240

ggtcccatca aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcagtctca ccatcagcag 300

cctgcagcct gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccgatcac 360

cttcggccaa gggacacgac tggagattaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat 420

cttcccgcca tctgatgagc agttgaaatc tggaactgct agc 463

<210> 21

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

【数５６】

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Pro
1 5 10 15

Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
35 40 45

Ile Thr Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Lys Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn
100 105 110

Ser Tyr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
115 120 125

<210> 22

<211> 490

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Includes BamHI/Bg1II cloning junction, signal peptide, V region, portion of C region and 3'XbaI/NheI (heavy) or NheI (light) cloning junction

<400> 22

ggatctcacc atggagttgg gacttagctg ggttttcctc gttgctcttt taagaggtgt 60

ccagtgtcag gtccagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct 120

gagactctcc tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtagc tatggcatgc actgggtccg 180

ccaggctcca ggcaaggggc tggactgggt ggcaattatt tggcatgatg gaagtaataa 240

atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaagac 300

gctgtacctg caaatgaaca gtttgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag 360

agcttgggcc tatgactacg gtgactatga atactacttc ggtatggacg tctggggcca 420

agggaccacg gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggc ccatcggtct tccccctggc 480

accctctagc 490

<210> 23

<211> 145

【数５７】

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Asp Trp Val Ala Ile Ile Trp His Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Lys
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Trp Ala Tyr Asp Tyr Gly Asp Tyr Glu Tyr
115 120 125

Tyr Phe Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
130 135 140

Ser
145

<210> 24

<211> 463

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Includes BamHI/Bg1II cloning junction, signal peptide, V region, portion of C region and 3'XbaI/NheI (heavy) or NheI (light) cloning junction

<400> 24

ggatctcacc atgagggtcc ctgctcagct cctggggctc ctgctgctct gtttcccagg 60

tgccagatgt gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga 120

cagagtcacc atcacttgtc gggcgagtca gggcattagc cattatttag cctggtttca 180

gcagaaacca gggaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg 240

ggtcccatca aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag 300

【数５８】

cctacagcct gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt tcccgctcac 360

tttcggcgga gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat 420

cttcccgcca tctgatgagc agttgaaatc tggaactgct agc 463

<210> 25

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Pro
1 5 10 15

Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
35 40 45

Ile Ser His Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Lys Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn
100 105 110

Ser Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

<210> 26

<211> 469

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Includes BamHI/BglII cloning junction, signal peptide, V region, portion of C region and 3'XbaI/NheI (heavy) or NheI (light) cloning junction

<400> 26

ggatcccacc atggggtcaa ccgtcatcct cgccctcctc ctggctgttc tccaaggagt 60

ctgtgccgag gtgcagctgg tgcagtctgg agcagaggtg aaaaagcccg gggagtctct 120

gaagatctcc tgtaagggtt ctggatacag ctttaccagt tactggatcg gctgggtgcg 180

【数５９】

ccagatgccc gggaaaggcc tggagtggat ggggatcatc tatcctggtg actctgatac 240

cagatacagc ccgtccttcc aaggccaggt caccatctca gccgacaagt ccatcagcac 300

cgcctacctg cagtggagca gcctgaaggc ctcggacacc gccatgtatt actgtgcgag 360

acggatggca gcagctggcc cctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc 420

ctcagcctcc accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctctagc 469

<210> 27

<211> 138

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Gly Ser Thr Val Ile Leu Ala Leu Leu Leu Ala Val Leu Gln Gly
1 5 10 15

Val Cys Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe
35 40 45

Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser
65 70 75 80

Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Met Ala Ala Ala Gly Pro Phe Asp Tyr Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 28

<211> 466

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Includes BamHI/Bg1II cloning junction, signal peptide, V region, portion of C region and 3'XbaI/NheI (heavy) or NheI (light) cloning junction

【数６０】

<400> 28
ggatctcacc atgagggtcc ccgctcagct tctcttcctt ctgctactct ggctcccaga 60

taccactgga ggaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga 120

aagagccacc ctctcctgca ggaccagtca gagtattggc tggaacttag cctggtacca 180

acagaaacct ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatcttcca ggaccactgg 240

tatcccagcc aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag 300

cctgcagtct gaagattctg cagtttatta ctgtcagcat tatgataact ggcccatgtg 360

cagttttggc caggggaccg agctggagat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt 420

catcttcccg ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gctagc 466

<210> 29

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Gly Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser
20 25 30

Val Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Thr Ser Gln Ser
35 40 45

Ile Gly Trp Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
50 55 60

Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Thr Thr Gly Ile Pro Ala
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Asp
100 105 110

Asn Trp Pro Met Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys
115 120 125

<210> 30

<211> 487

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

【数６１】

<223> Includes BamHI/Bg1II cloning junction, signal peptide, V region, portion of C region and 3'XbaI/NheI (heavy) or NheI (light) cloning junction

<400> 30

ggatctcacc atggagtttg ggctgtgctg gattttcctc gttgctcttt taagaggtgt 60

ccagtgtcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct 120

gagactctcc tgtgcagcct ctggattcac cttcattagc tatggcatgc actgggtccg 180

ccaggctcca ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tcatatgatg gaagtaataa 240

atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac 300

gctgtatctg caaatgaaca gcctgagagc tgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag 360

agtattagtg ggagctttat attattataa ctactacggg atggacgtct ggggccaagg 420

gaccacggtc accgtctcct cagcctccac caagggccca tcggtcttcc ccctggcacc 480

ctctagc 487

<210> 31

<211> 144

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Met Glu Phe Gly Leu Cys Trp Ile Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ile Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Leu Val Gly Ala Leu Tyr Tyr Tyr Asn Tyr
115 120 125

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 32

【数６２】

<211> 478

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Includes BamHI/Bg1II cloning junction, signal peptide, V region, portion of C region and 3'XbaI/NheI (heavy) or NheI (light) cloning junction

<400> 32

ggatctcacc atgagggtcc ctgctcagct cctggggctg ctaatgctct ggatacctgg 60

atccagtgca gatattgtga tgacccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca 120

gccggcctcc atctcctgca agtctagtca gagcctcctg catagtgatg gaaagacctt 180

tttgtattgg tatctgcaga agccaggcca gcctccacag ctcctgatct atgaggtttc 240

caaccggttc tctggagtgc cagataggtt cagtggcagc gggtcaggga cagatttcac 300

actgaaaatc agccgggtgg aggctgagga tgttgggctt tattactgca tgcaaagtat 360

acagcttccg ctcactttcg gcggagggac caaggtggag atcaaacgaa ctgtggctgc 420

accatctgtc ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgctagc 478

<210> 33

<211> 132

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Met Leu Trp Ile Pro
1 5 10 15

Gly Ser Ser Ala Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Leu His Ser Asp Gly Lys Thr Phe Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys
50 55 60

Pro Gly Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Phe
65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Leu Tyr Tyr
100 105 110

【数６３】

```
Cys Met Gln Ser Ile Gln Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
        115                 120                 125

Val Glu Ile Lys
    130
```

【図１】

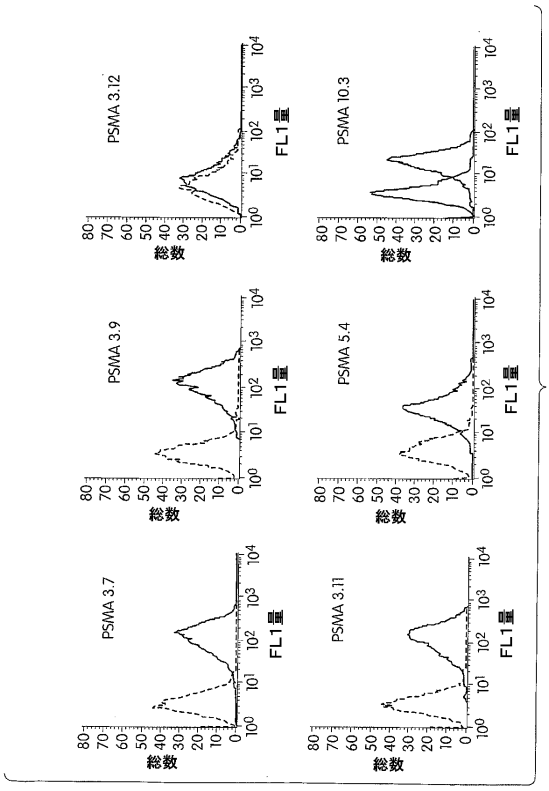

Fig. 1

【図３】

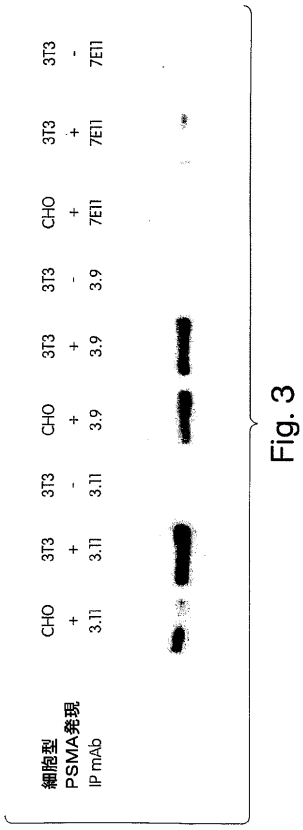

Fig. 3

【図４】

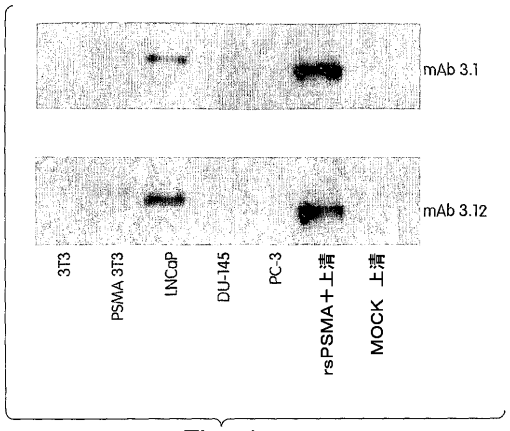

Fig. 4

【図５】

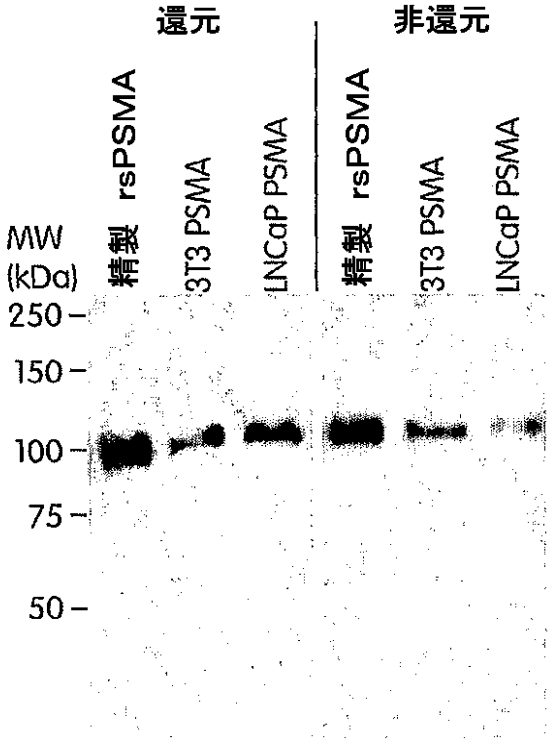

Fig. 5

【図６】

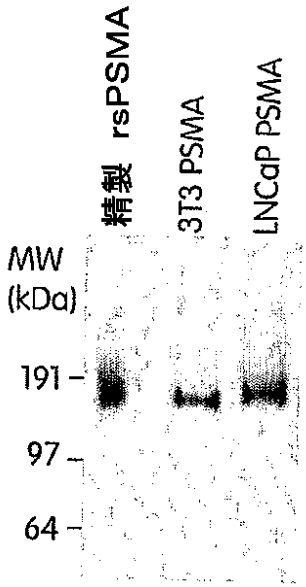

Fig. 6

【図７】

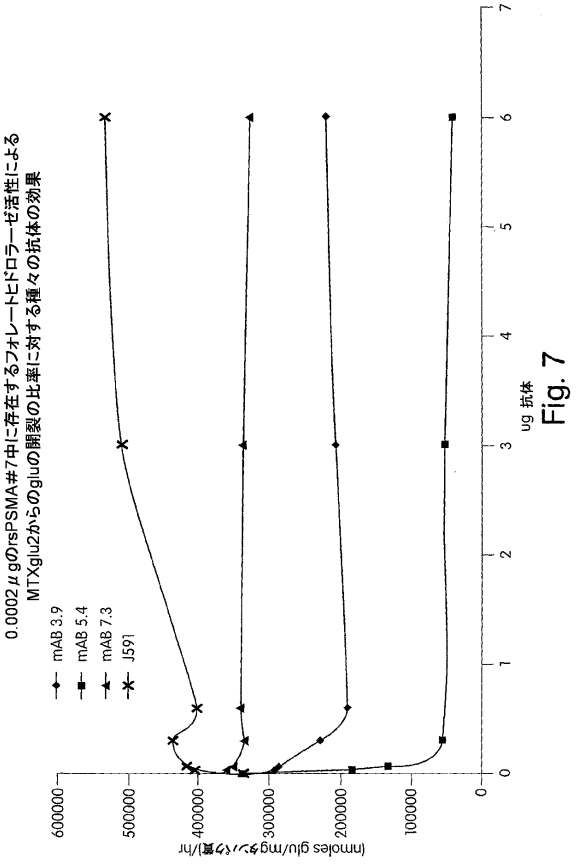

Fig. 7

【図８】

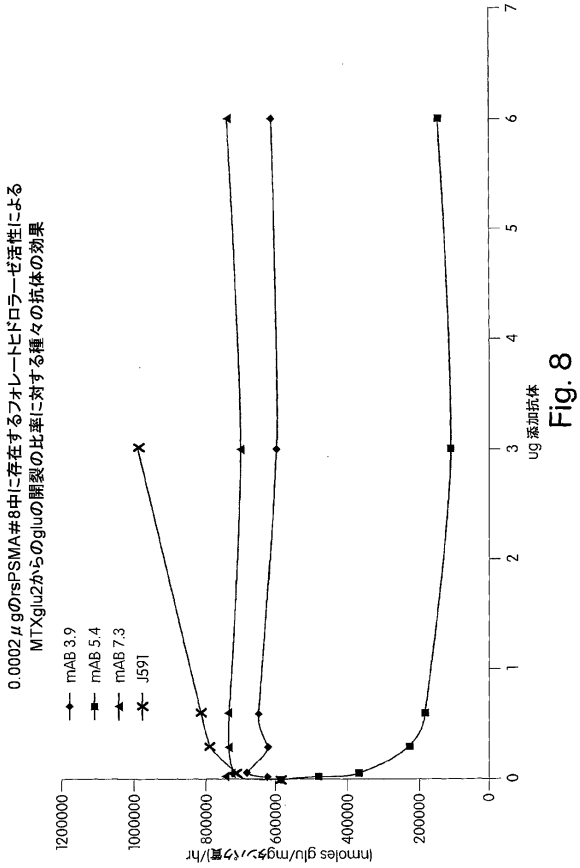

Fig. 8

【図９】

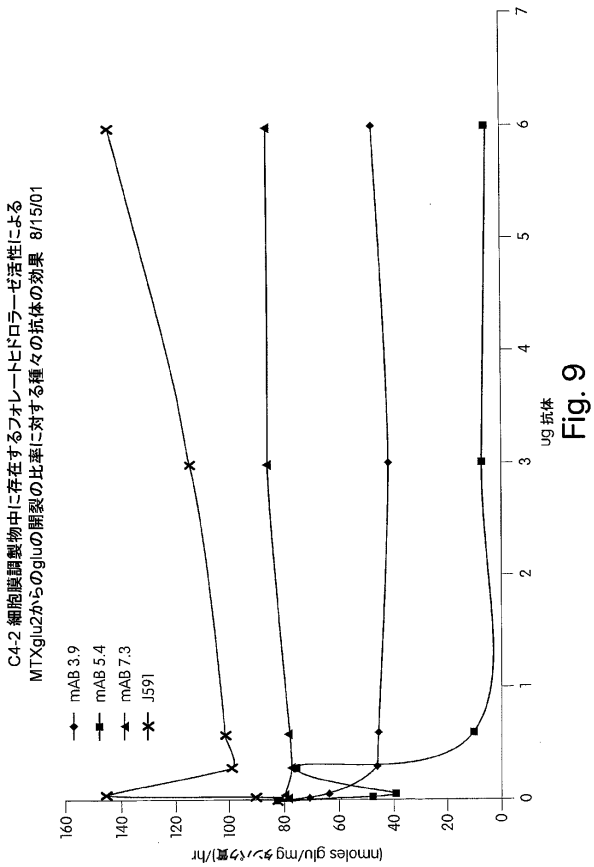

Fig. 9

【図１０】

pcDNA へのヒト IgG1 クローニング

pcDNA－huck および pcDNA－huIgG1 構成物

		PCR 産物	ベクター
Cκ	センス	5' XbaI HindIII BamHI NheI 3'	5' NheI NotI 3' (pcDNA.neo)
	アンチセンス	EcoRI NotI	
Cγ1	センス	5' XbaI KpnI HindIII BamHI NheI 3'	5' NheI/PmeI 3' (pcDNA Hygro)
	アンチセンス	EcoRI XhoI PmeI	

pcDNA－Ab (V-C カセット) 構成物

		PCR 産物	ベクター
Vκ	センス	BglIIまたはBamHI （必要な場合）*	5' BamHI NheI 3' (pcDNA-huCκ)
	アンチセンス	NheI	
Vγ1	センス	BglIIまたはBamHI （必要な場合）*	5' BamHI NheI 3' (pcDNA-huIgG1)
	アンチセンス	XbaI	

*BamHI プライマーは、V 領域が内在性 BglⅡ部位を有する場合に使用される

ヒト IgG クローニング～ pcDNA 由来の V-C カセットを「産生物」ベクターへ

	pcDNA 由来の挿入部分
Igκ	5' HindIIIまたはBanHI（代替のセンスプライマーを使用した場合）
	3' EcoRI, NotI, XhoI, XbaIまたはPmeI
IgG1	5' KpnI, HindIIIまたはBamHI（代替のセンスプライマーを使用した場合）
	3' EcoRI*, XhoIまたはPmeI

* ヒグロマイシン抵抗遺伝子中に存在する第二の EcoR I 部位

V 領域増幅に使用したプライマー

Vκ-センス：

5' GAAGATCTGCCGCC ATG + 20-23 bp リーダー配列 3'
BglII Kozak

Vκ アンチセンス(逆方向／相補)：

5'AACTA GCT AGC AGT TCC AGA TTT CAA CTG CTC ATC AGA T 3'
S A T G S K L Q E D S (aa. 23-13 Cκ)
NheI

Nhe I のクローニング部位は A S をコードする～従ってクローニングによるアミノ酸置換はない。

Vγ-センス：

5' GAAGATCTGCCGCC ATG + 17-29bp リーダー配列 3'
BglII KOZAK

Vγ アンチセンス(逆方向／相補)：

5' GC TCT AGA GGG TGC CAG GGG GAA GAC CGA T 3'
(R) S P A L P F V S (aa. 14-7 Cγ1)
XbaI

こちらへクローニング

5' CG GCT AGC
S (A)

Xba I／Nhe I (TCT AGC)のクローニング部位連結は、S S をコードする～従って、クローニングによるアミノ酸置換はない。

Fig. 10

【図１１】

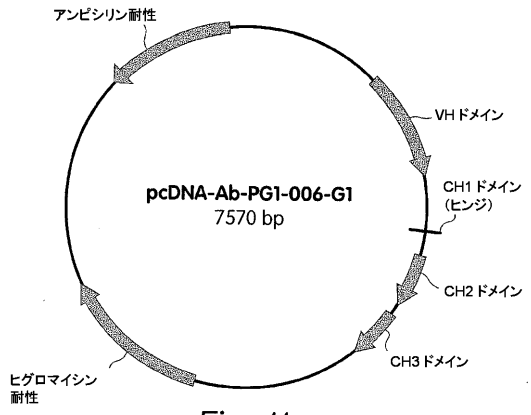

Fig. 11

【図１２】

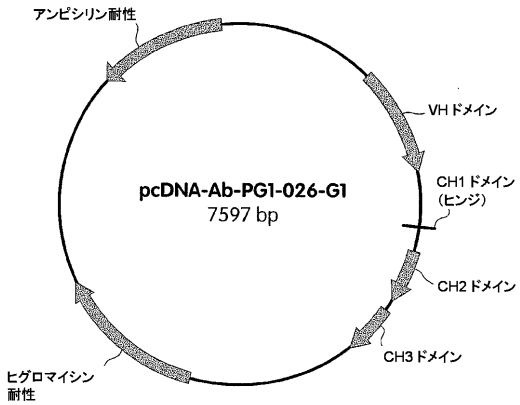

Fig. 12

【図１３】

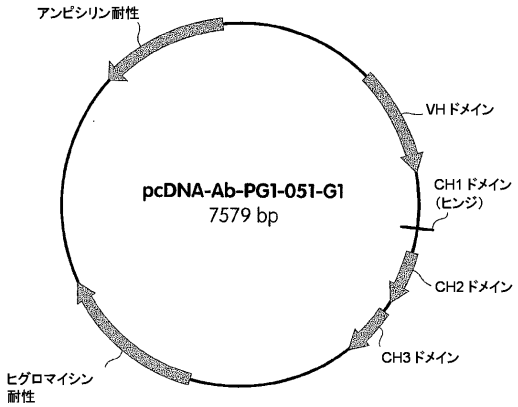

Fig. 13

【図１４】

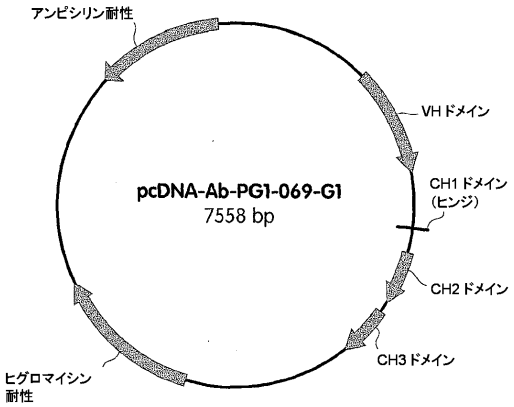

Fig. 14

【図１５】

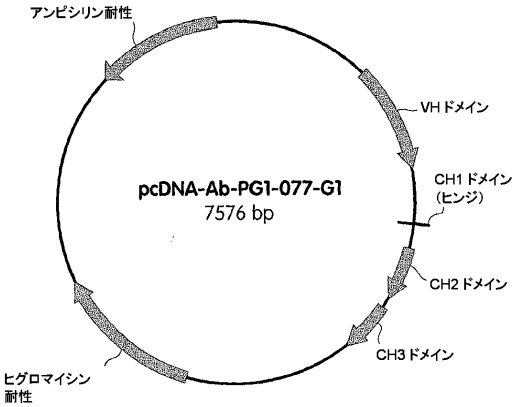

Fig. 15

【図１６】

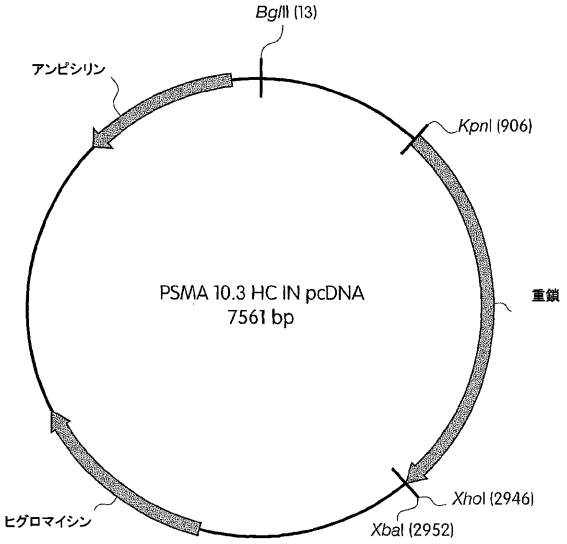

Fig. 16

【図１７】

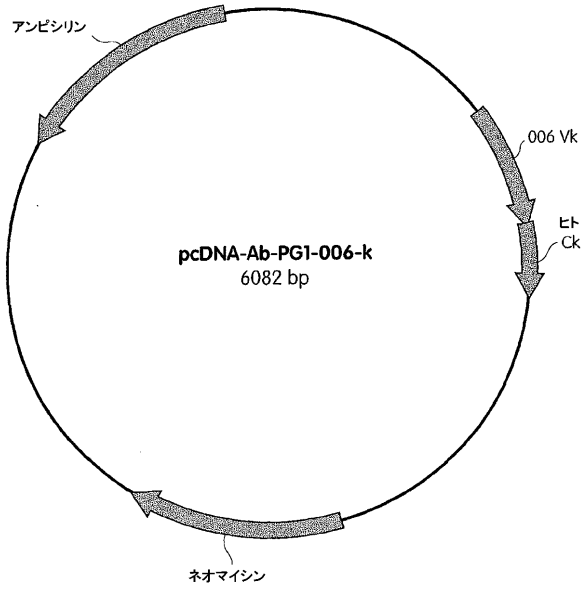

Fig. 17

【図１８】

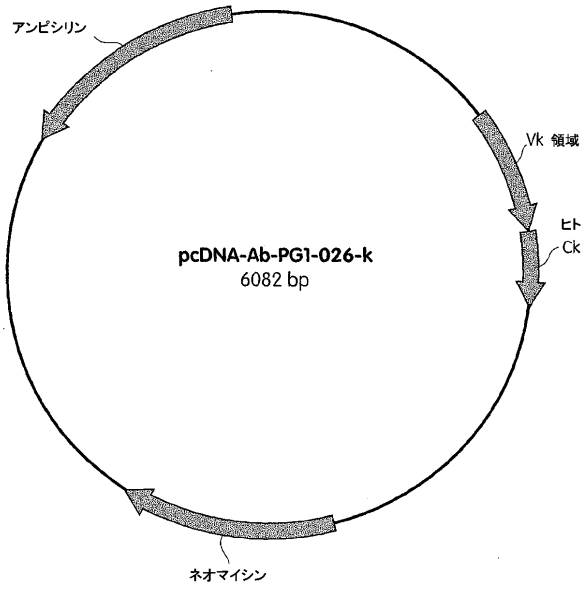

Fig. 18

【図１９】

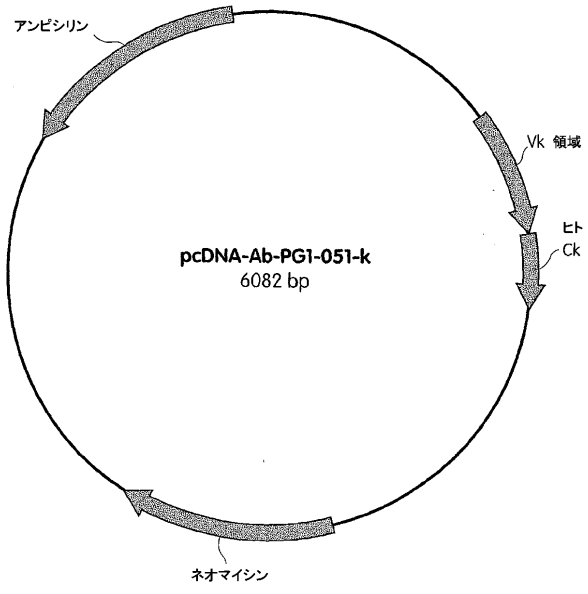

Fig. 19

【図２０】

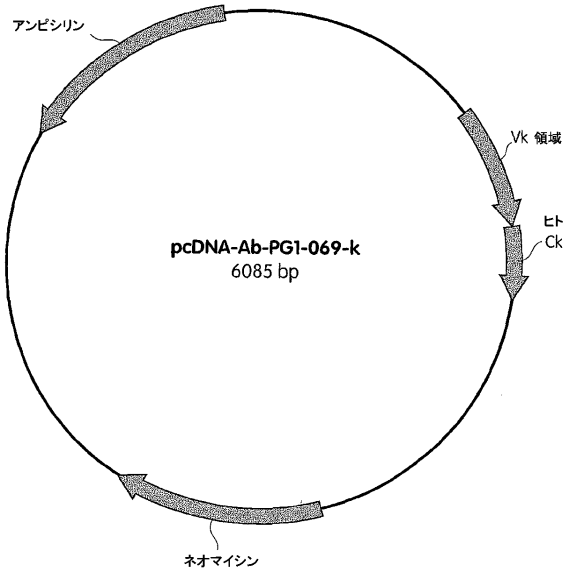

Fig. 20

【図２１】

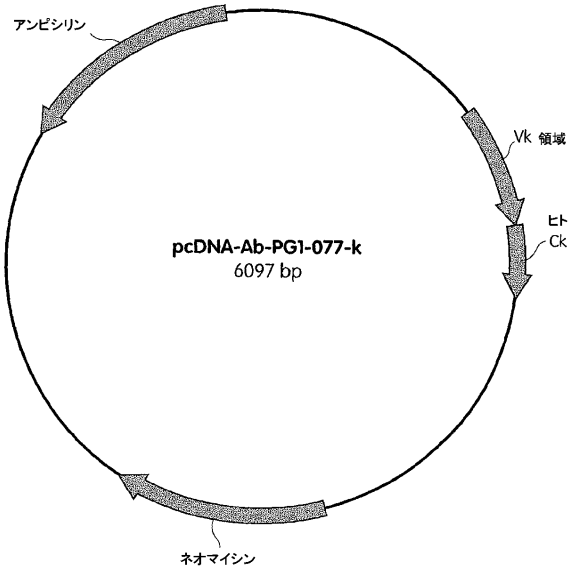

Fig. 21

【図２２】

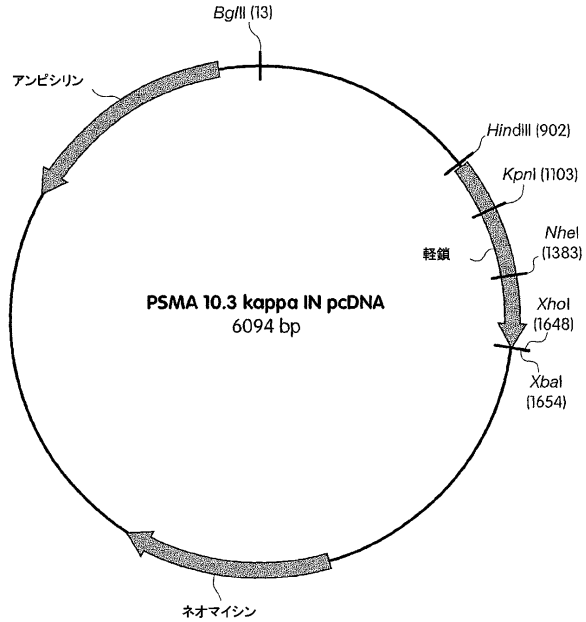

Fig. 22

【図２３】

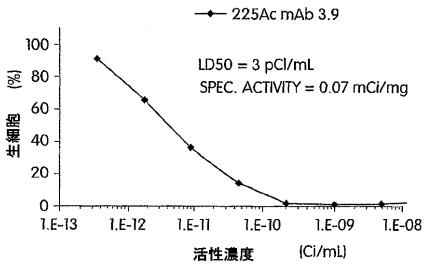

Fig. 23

【図２４】

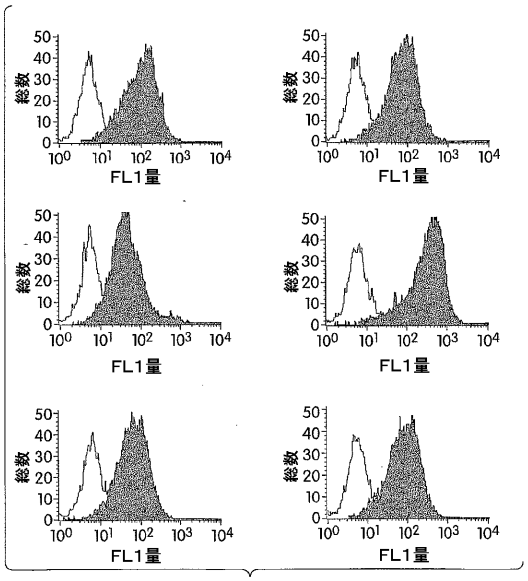

Fig. 24

【図２５Ａ】

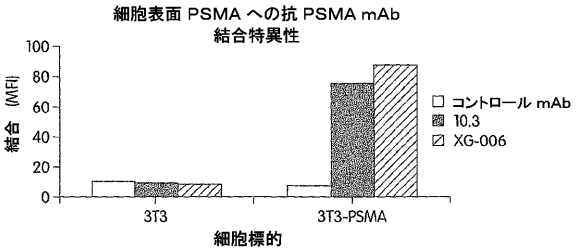

Fig. 25A

【図２５Ｂ】

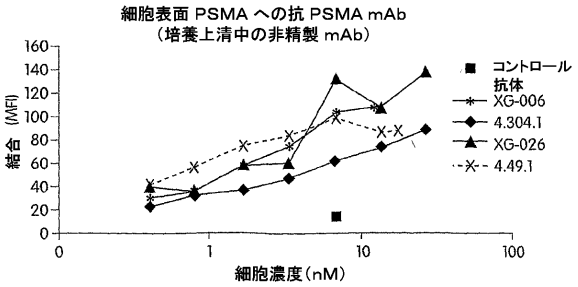

Fig. 25B

【図２５Ｃ】

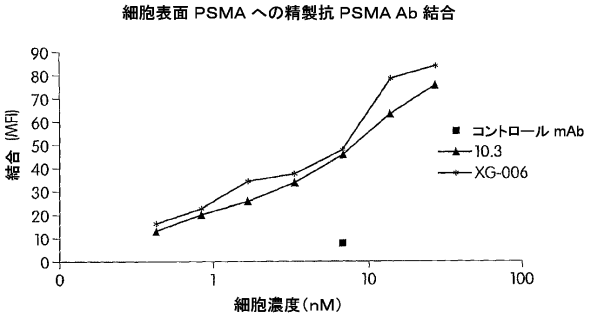

Fig. 25C

【図２６】

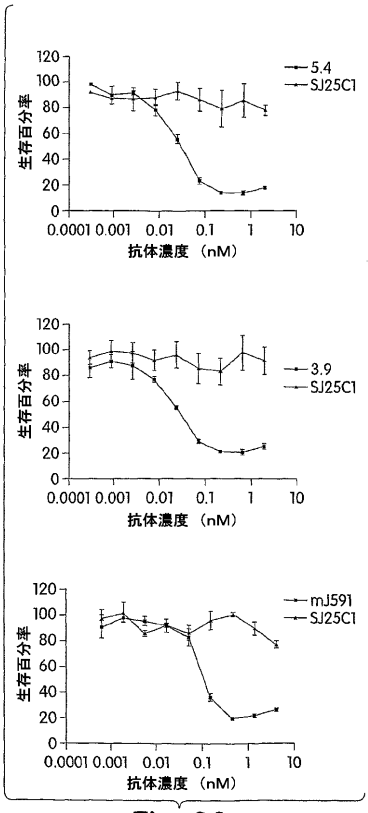

Fig. 26

【図２７】

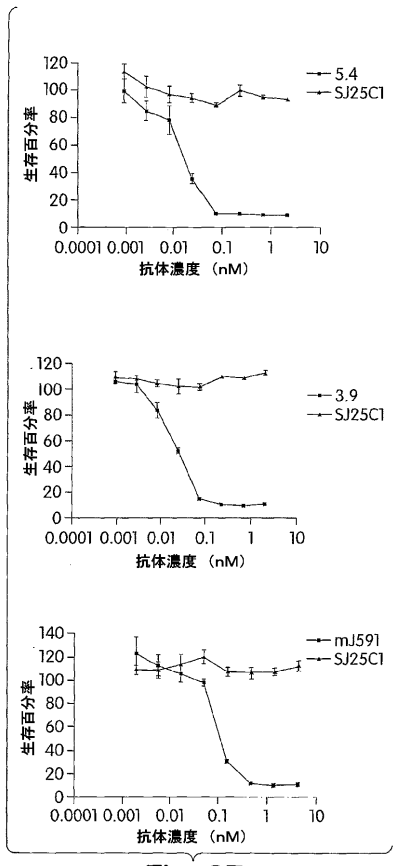

Fig. 27

【図２８】

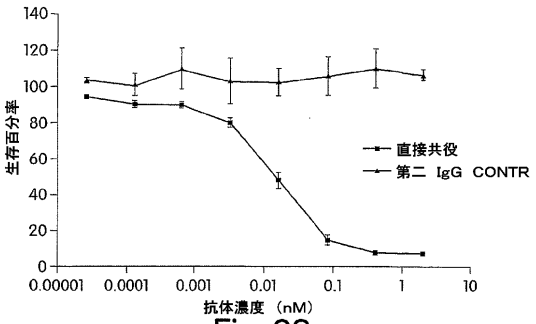

Fig. 28

【図２９】

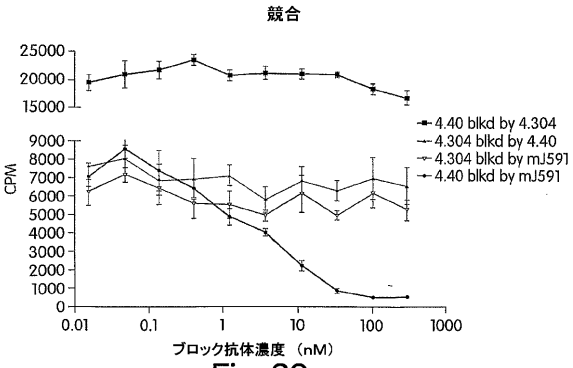

Fig. 29

【図３０】

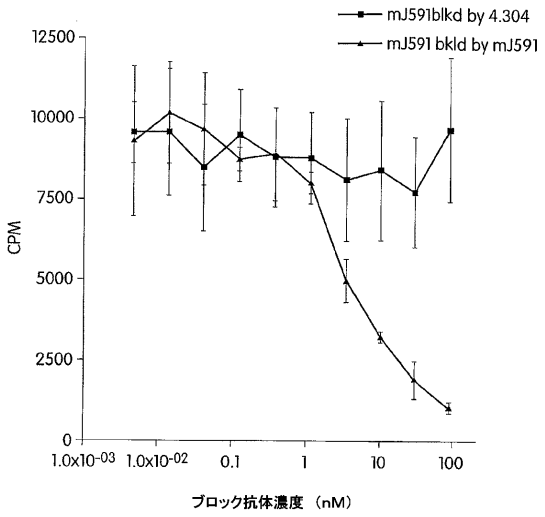

Fig. 30

【図３１】

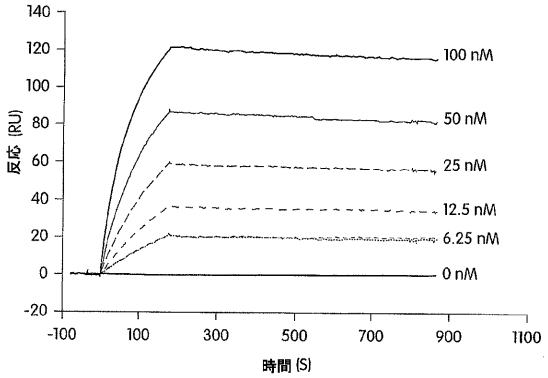

Fig. 31

【図３２】

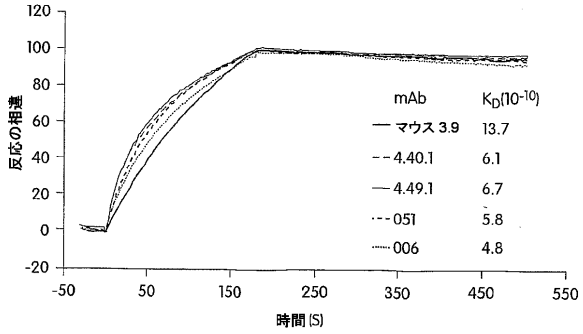

Fig. 32

【図３３】

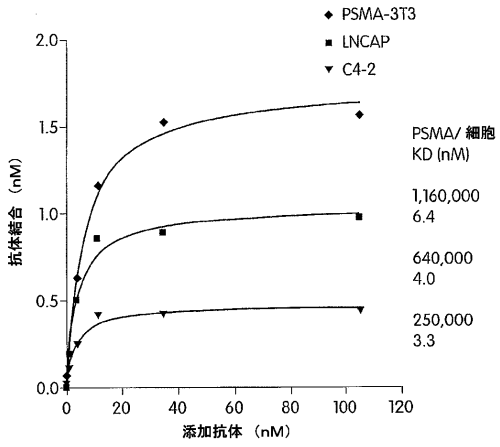

Fig. 33

【図３４】

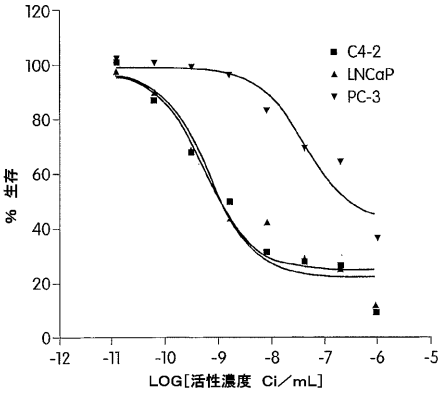

Fig. 34

【図３５】

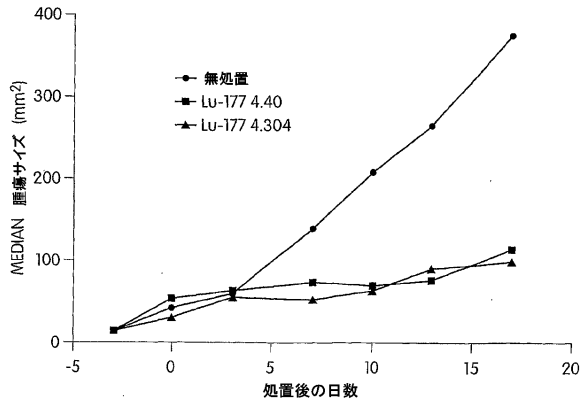

Fig. 35

【図３６】

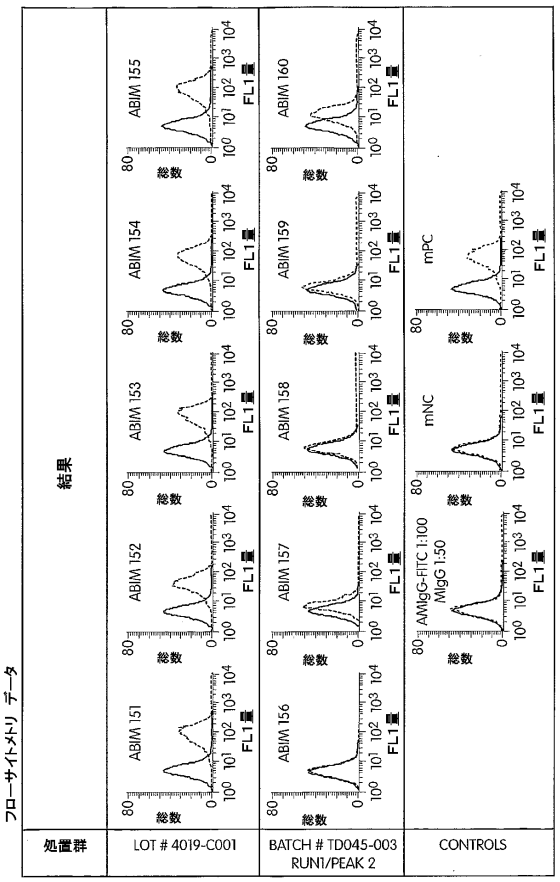

Fig. 36

【図２】

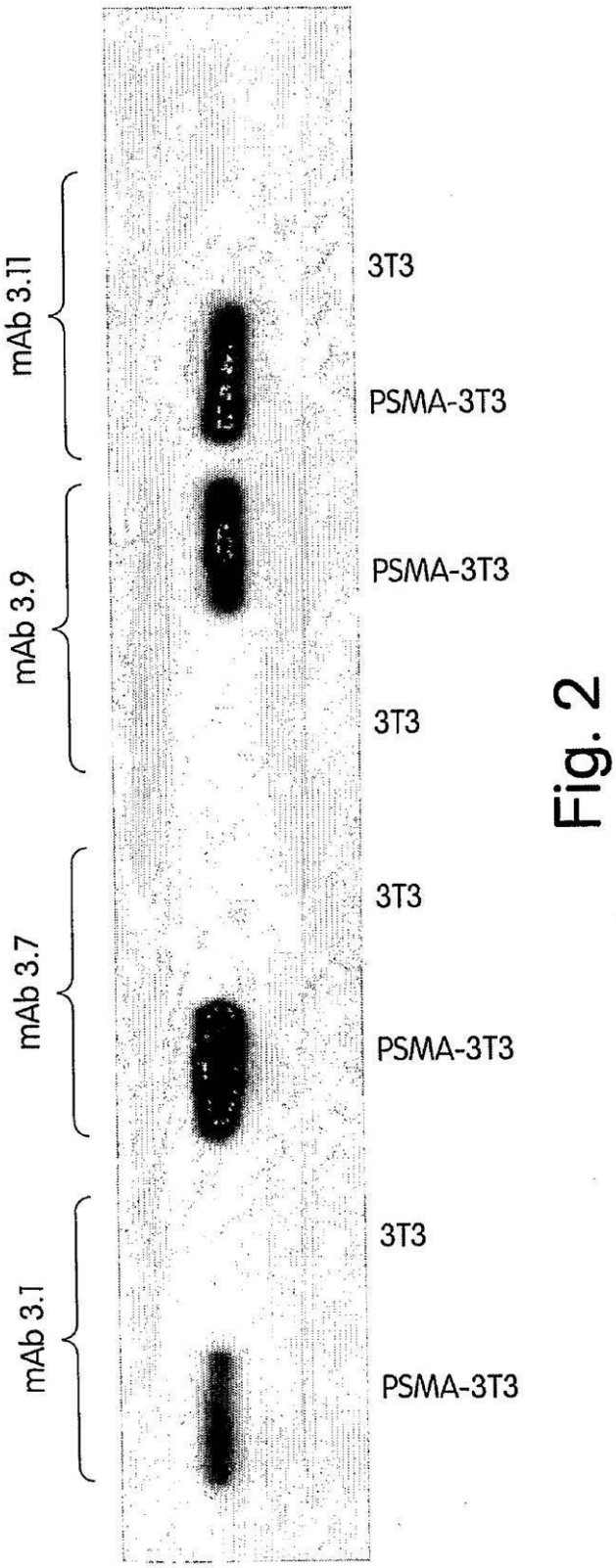

Fig. 2

【配列表】

0005703447000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	E
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61K	39/395	T
A61K 38/21	*(2006.01)*	A61K	45/00	
A61K 31/7088	*(2006.01)*	A61K	37/66	G
A61K 39/00	*(2006.01)*	A61K	31/7088	
A61K 47/48	*(2006.01)*	A61K	39/00	H
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61K	47/48	
A61P 43/00	*(2006.01)*	A61P	35/00	
A61P 13/08	*(2006.01)*	A61P	43/00	111
A61K 38/00	*(2006.01)*	A61P	13/08	
G01N 33/574	*(2006.01)*	A61K	37/02	
G01N 33/532	*(2006.01)*	G01N	33/574	A
G01N 33/533	*(2006.01)*	G01N	33/532	B
G01N 33/534	*(2006.01)*	G01N	33/533	
G01N 33/535	*(2006.01)*	G01N	33/534	
G01N 33/50	*(2006.01)*	G01N	33/535	
G01N 33/15	*(2006.01)*	G01N	33/50	Z
C12P 21/08	*(2006.01)*	G01N	33/15	Z
		C12P	21/08	

(31)優先権主張番号 60/412,618
(32)優先日 平成14年9月20日(2002.9.20)
(33)優先権主張国 米国(US)

微生物の受託番号 ATCC PTA-4403
微生物の受託番号 ATCC PTA-4404
微生物の受託番号 ATCC PTA-4405
微生物の受託番号 ATCC PTA-4406
微生物の受託番号 ATCC PTA-4407
微生物の受託番号 ATCC PTA-4408
微生物の受託番号 ATCC PTA-4409
微生物の受託番号 ATCC PTA-4412
微生物の受託番号 ATCC PTA-4414

(72)発明者 ポール ジェイ. マドン
アメリカ合衆国 ニューヨーク 10583, スカーズデール, フォックス ミドー ロード 191
(72)発明者 ジェラルド ピー. ドノバン
アメリカ合衆国 メイン 03909, ヨーク, エイボン アベニュー 32
(72)発明者 ウィリアム シー. オルソン
アメリカ合衆国 ニューヨーク 10598, ヨークタウン ハイツ, ロック レーン 815
(72)発明者 ノーバート シュールク
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02032, イースト ウォルポール, オリンピック コート 37
(72)発明者 ジェーソン ガードナー
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02481, ウェルズリー, モナドノック ロード 1

7
(72)発明者 ダンシー マ
アメリカ合衆国 ニューヨーク １０５４６, ミルウッド, グレンウッド ロード ４９
(72)発明者 ジャスパル エス. カン
カナダ国 ブイ４エヌ ５エイチ６, ブリティッシュ コロンビア, サレー, １０９ アベニュー １６７２７
(72)発明者 ラリー グリーン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４１１４, サンフランシスコ, ヒル ストリート ４６４

審査官 松浦 安紀子

(56)参考文献 Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting. 2001 Mar, Vol.42, p.818(Session:#4389)
International journal of cancer. 1995, Vol.62, No.5, p.552-558
Seminars in surgical oncology. 2000, Vol.18, No.1, p.10-16
Hybridoma, 米国, ２０００年 ６月, Vol.19,No.3, 249-257

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ １５／０９
Ａ６１Ｋ ３１／７０８８
Ａ６１Ｋ ３８／００
Ａ６１Ｋ ３８／２１
Ａ６１Ｋ ３９／００
Ａ６１Ｋ ３９／３９５
Ａ６１Ｋ ４５／００
Ａ６１Ｋ ４７／４８
Ａ６１Ｐ １３／０８
Ａ６１Ｐ ３５／００
Ａ６１Ｐ ４３／００
Ｃ０７Ｋ １４／４７
Ｃ０７Ｋ １６／１８
Ｃ０７Ｋ １６／４６
Ｃ１２Ｎ １／１５
Ｃ１２Ｎ １／１９
Ｃ１２Ｎ １／２１
Ｃ１２Ｎ ５／１０
Ｇ０１Ｎ ３３／１５
Ｇ０１Ｎ ３３／５０
Ｇ０１Ｎ ３３／５３２
Ｇ０１Ｎ ３３／５３３
Ｇ０１Ｎ ３３／５３４
Ｇ０１Ｎ ３３／５３５
Ｇ０１Ｎ ３３／５７４
Ｃ１２Ｐ ２１／０８

专利名称(译)	PSMA抗体和蛋白质多聚体		
公开(公告)号	JP5703447B2	公开(公告)日	2015-04-22
申请号	JP2012196294	申请日	2012-09-06
[标]申请(专利权)人(译)	复制SM呃Deberopumento公司有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	复制SM呃Deberopumento公司，萨尔瓦多，萨尔瓦多.海.		
当前申请(专利权)人(译)	复制SM呃Deberopumento公司，萨尔瓦多，萨尔瓦多.海.		
[标]发明人	ポールジェイマドン ジェラルドピードノバン ウィリアムシーオルソン ノーバートシュールク ジェーソンガードナー ダンシーマ ジャスパルエスカン ラリーグリーン		
发明人	ポール ジェイ. マドン ジェラルド ピー. ドノバン ウィリアム シー. オルソン ノーバート シュールク ジェーソン ガードナー ダンシー マ ジャスパル エス. カン ラリー グリーン		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/18 C07K16/46 C12N5/10 C07K14/47 A61K39/395 A61K45/00 A61K38/21 A61K31/7088 A61K39/00 A61K47/48 A61P35/00 A61P43/00 A61P13/08 A61K38/00 G01N33/574 G01N33/532 G01N33/533 G01N33/534 G01N33/535 G01N33/50 G01N33/15 C12P21/08 A61K48/00 A61K51/10 A61P31/12 A61P37/02 A61P37/04 C07K14/705 C07K16/28 C07K16/30 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12Q1/02 C12Q1/34 C12Q1/37		
CPC分类号	A61K47/6825 A61K47/6869 A61K51/1072 A61K51/1096 A61K2039/505 A61P13/08 C07K16/3069 C07K2317/21 C07K2317/565 C07K2317/622		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K16/18 C07K16/46 C12N5/00.102 C07K14/47 A61K39/395.E A61K39/395.T A61K45/00 A61K37/66.G A61K31/7088 A61K39/00.H A61K47/48 A61P35/00 A61P43/00.111 A61P13/08 A61K37/02 G01N33/574.A G01N33/532.B G01N33/533 G01N33/534 G01N33/535 G01N33/50.Z G01N33/15.Z C12P21/08 A61K38/00 A61K38/21 A61K47/50 A61K47/68 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N15/12 C12N15/13 C12N15/62.Z C12N15/63.Z C12N5/00.101 C12N5/10 C12N9/14 C12Q1/34 C12Q1/37		
F-TERM分类号	2G045/AA26 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA31 4B024/BA41 4B024/BA61 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/CA20 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/EA04 4B024/GA01 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA11 4B050/CC03 4B050/DD07 4B050/DD11 4B050/GG01 4B050/LL01 4B050/LL03 4B063/QA01 4B063/QA08 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ30 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR10 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS32 4B063/QX01 4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA05 4B064/CA10 4B064/CA11 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CB01 4B064/CC24 4B064/DA01 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/BA08 4B065/BA21 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA31 4B065/CA44 4B065/CA46 4C076/AA95 4C076/CC07 4C076/CC41 4C076/EE59 4C076/FF04 4C076/FF36 4C084		

	/AA02 4C084/AA19 4C084/BA44 4C084/DA14 4C084/DA22 4C084/DA24 4C084/DA25 4C084/NA05 4C084/ZA362 4C084/ZB072 4C084/ZB092 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA34 4C085/BB33 4C085/BB34 4C085/BB35 4C085/BB36 4C085/BB37 4C085/CC22 4C085/CC23 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/ZB26 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74
代理人(译)	夏木森下
优先权	60/335215 2001-10-23 US 60/362747 2002-03-07 US 60/412618 2002-09-20 US
其他公开文献	JP2012245010A
外部链接	Espacenet

摘要(译)

要解决的问题：提供特异性结合前列腺特异性膜抗原（PSMA）的细胞外结构域的抗体或其抗原片段。解决方案：本发明包括抗体或其抗原结合片段，其特异性结合细胞外结构域上的构象表位。 PSMA，含有一种或这些抗体或其抗原结合片段的组合的组合物，产生抗体的杂交瘤细胞系，以及将该抗体或其抗原结合片段用于癌症诊断和治疗的方法。本发明还包括PSMA蛋白的寡聚形式，包含多聚体的组合物和选择性结合多聚体的抗体。

はポリクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６８）
項目１６５に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体は、モノクローナル抗体および／またはポリクローナル抗体の混合物である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１６９）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体は、二重特異的抗体または多重特異的抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１７０）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該単離された抗原結合性フラグメントは、Ｆａｂフラグメント、Ｆ（ａｂ'）２フラグメント、およびＦｖフラグメントＣＤＲ３からなる群から選択される、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１７１）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体は、ＰＳＭＡ　３．７（ＰＴＡ－３２５７）、ＰＳＭＡ　３．８、ＰＳＭＡ　３．９（ＰＴＡ－３２５８）、ＰＳＭＡ　３．１１（ＰＴＡ－３２６９）、ＰＳＭＡ　５．４（ＰＴＡ－３２６８）、ＰＳＭＡ　７．１（ＰＴＡ－３２９２）、ＰＳＭＡ　７．３（ＰＴＡ－３２９３）、ＰＳＭＡ　１０．３（ＰＴＡ－３２４７）、ＰＳＭＡ　１．８．３（ＰＴＡ－３９０６）、ＰＳＭＡ　Ｂ３．１．３（ＰＴＡ－３９０４）、ＰＳＭＡ　Ｂ３．３．１（ＰＴＡ－３９０５）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２４８．２（ＰＴＡ－４４２７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３６０．３（ＰＴＡ－４４２８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７．１（ＰＴＡ－４４２９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４．１（ＰＴＡ－４５５６）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１７７．３（ＰＴＡ－４５５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１６．１（ＰＴＡ－４３５７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２２．３（ＰＴＡ－４３５８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８．３（ＰＴＡ－４３５９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４０．２（ＰＴＡ－４３６０）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４８．３（ＰＴＡ－４３６１）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．４９．１（ＰＴＡ－４３６２）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２０９．３（ＰＴＡ－４３６５）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２１９．３（ＰＴＡ－４３６６）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２８８．１（ＰＴＡ－４３６７）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３３３．１（ＰＴＡ－４３６８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．５４．１（ＰＴＡ－４３６３）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．１５３．１（ＰＴＡ－４３８８）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２３２．３（ＰＴＡ－４３８９）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２９２．３（ＰＴＡ－４３９０）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３０４．１（ＰＴＡ－４３９１）、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７８．１（ＰＴＡ－４６５２）、およびＡｂｇｅｎｉｘ　４．１５２．１．（ＰＴＡ－４６５３）からなる群から選択されるハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体である、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１７２）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントは、コンフォメーショナルエピトープに結合する、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１７３）
項目１３０に記載の単離された抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、該抗体またはその抗原結合性フラグメントは、前記前立腺特異的膜抗原を有する細胞中に内部移行されている、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
（項目１７４）
ＰＳＭＡ　３．７、ＰＳＭＡ　３．８、ＰＳＭＡ　３．９、ＰＳＭＡ３．１１、ＰＳＭＡ　５．４、ＰＳＭＡ　７．１、ＰＳＭＡ　７．３、ＰＳＭＡ　１０．３、ＰＳＭＡ　１．８．３、ＰＳＭＡ　Ｂ３．１．３、ＰＳＭＡ　Ｂ３．３．１、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．２４８．２、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．３６０．３、Ａｂｇｅｎｉｘ　４．７．１、Ａｂｇｅｎｉ