(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2015-505665
(P2015-505665A)
(43)公表日　平成27年2月26日(2015.2.26)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4B024
C07K 16/18	(2006.01)	C07K	16/18	ZNA	4B064
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4B065
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4C084
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4C085

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 131 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2014-537750 (P2014-537750)
(86)(22)出願日　平成24年10月26日 (2012.10.26)
(85)翻訳文提出日　平成26年6月24日 (2014.6.24)
(86)国際出願番号　PCT/IB2012/002905
(87)国際公開番号　WO2013/061163
(87)国際公開日　平成25年5月2日 (2013.5.2)
(31)優先権主張番号　61/553,113
(32)優先日　平成23年10月28日 (2011.10.28)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　513083820
バイオジェン　アイデック　インターナショナル　ニューロサイエンス　ゲーエムベーハー
スイス国　８９５２　シュリーレン，　ヴァギシュトラーセ　１３
(71)出願人　504022504
ユニバーシティー　オブ　チューリッヒ
スイス国　チューリッヒ　ツェーハー－８００６，レイミストラッセ　７１
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＴＤＰ－４３に特異的な結合分子

(57)【要約】
ヒト抗体のようなポリペプチド、ならびにその断片、誘導体及び変異体を含む新規のＴＤＰ－４３に特異的に結合する分子が提供される。それらＴＤＰ－４３に特異的に結合する分子に関連する方法も提供される。ヒト抗体のようなポリペプチドを含むＴＤＰ－４３に特異的に結合する分子に関連するアッセイ、キット、固体支持体も開示される。ＴＤＰ－４３に特異的に結合する分子、抗体、免疫グロブリン鎖、ならびにその結合断片、誘導体及び変異体を、それぞれＴＤＰ－４３を標的とする免疫療法及び診断のために医薬組成物及び診断用組成物で使用することができる。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ヒトのモノクローナル抗ＴＡＲ－ＤＮＡ結合タンパク質４３ｋＤａ（ＴＤＰ－４３）抗体。
【請求項２】
ＴＤＰ－４３ポリペプチドと特異的に結合するモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体であって、以下から成る群から選択されるアミノ酸配列から成るモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体：
（ａ）配列番号９４のアミノ酸残基２～１０６；
（ｂ）配列番号９４のアミノ酸残基９９～２０４；
（ｃ）配列番号９４のアミノ酸残基１８３～２７３；
（ｄ）配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４；
（ｅ）４０９位及び４１０位の少なくとも１つでセリンがリン酸化される配列番号９４のアミノ酸残基３９０～４１４。
【請求項３】
抗体が、配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４から成るＴＤＰ－４３ポリペプチドと特異的に結合するが、ＴＤＰ－４３の２５８～４１４　ＡＭＭ３２１ＧＧＧポリペプチドと結合しない請求項２に記載のモノクローナル抗体。
【請求項４】
ＱＹＧＤＶＭＤＶＦＩＰ（配列番号１２３）；ＡＡＩＧＷＧＳＡＳＮＡ（配列番号１２４）；ＤＭＴＥＤＥＬＲＥＦＦ（配列番号１２５）、ＥＤＥＮＤＥＰ（配列番号１２６）、ＶＱＶＫＫＤＬ（配列番号１２７）、ＫＥＹＦＳＴＦ（配列番号１２８）、ＩＩＫＧＩＳＶ（配列番号３１５）、ＮＱＳＧＰＳＧ（配列番号３１６）、ＦＮＧＧＦＧＳ（配列番号３１７）、ＦＧＮＳＲＧＧＧＡＧＬ（配列番号３１８）、ＳＮＡＧＳＧＳＧＦＮＧ（配列番号３１９）、ＱＬＥＲＳＧＲＦＧＧＮ（配列番号３２０）、ＥＩＰＳＥＤＤ（配列番号３２１）、ＦＮＧＧＦＧＳＳＭＤＳ（配列番号３２２）、ＳＩＮＰＡＭＭＡＡＡＱＡＡＬＱＳＳＷＧＭＭＧＭＬＡＳＱ（配列番号３２３）及びそれらの組み合わせから成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＴＤＰ－４３ポリペプチドと特異的に結合するモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。
【請求項５】
抗体が、ＦＧＮＳＲＧＧＧＡＧＬ（配列番号３１８）のアミノ酸配列を含むＴＤＰ－４３ポリペプチド及びＳＮＡＧＳＧＳＧＦＮＧ（配列番号３１９）のアミノ酸配列を含むＴＤＰ－４３ポリペプチドと特異的に結合する請求項４に記載のモノクローナル抗体。
【請求項６】
抗体が、ＳＩＮＰＡＭＭＡＡＡＱＡＡＬＱＳＳＷＧＭＭＧＭＬＡＳＱ（配列番号３２３）のアミノ酸配列を含むＴＤＰ－４３ポリペプチドと特異的に結合するが、ＳＩＮＰＧＧＧＡＡＡＱＡＡＬＱＳＳＷＧＭＭＧＭＬＡＳＱ（配列番号３１４）のアミノ酸配列を含むポリペプチドに結合しない請求項４に記載のモノクローナル抗体。
【請求項７】
ヒトＴＤＰ－４３の病的形態に特異的に結合する請求項１～６のいずれか１項に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。
【請求項８】
免疫組織化学にて完全長のヒトＴＤＰ－４３、切り詰めたヒトＴＤＰ－４３又は病的なヒトＴＤＰ－４３の任意の組み合わせに特異的に結合する請求項１～６のいずれか１項に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。
【請求項９】
ヒトの脳組織における細胞質又は神経突起のＴＤＰ－４３に特異的に結合する請求項１～６のいずれか１項に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。
【請求項１０】
重鎖可変領域ＶＨを含み、前記重鎖可変領域が、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０

５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される抗体の１、２又は３のＶＨＣＤＲを含む請求項１～９のいずれか１項に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。

【請求項１１】

ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される抗体のＶＨＣＤＲ１、ＶＨＣＤＲ２及びＶＨＣＤＲ３を含む請求項１０に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。

【請求項１２】

以下のうちの１以上を含む請求項１０に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体：

（ａ）配列番号１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０、及び２６８から成る群から選択されるＶＨＣＤＲ１、

（ｂ）配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１及び２６９から成る群から選択されるＶＨＣＤＲ２、および

（ｃ）配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２、及び２７０から成る群から選択されるＶＨＣＤＲ３。

【請求項１３】

以下を含む請求項１１に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体：

（ａ）配列番号１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０、及び２６８から成る群から選択されるＶＨＣＤＲ１、

（ｂ）配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１及び２６９から成る群から選択されるＶＨＣＤＲ２、および

（ｃ）配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２、及び２７０から成る群から選択されるＶＨＣＤＲ３。

【請求項１４】

ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される抗体のＶＨＣＤＲ１、ＶＨＣＤＲ２及びＶＨＣＤＲ３を含み、ＶＨＣＤＲ１、ＶＨＣＤＲ２及びＶＨＣＤＲ３が表２に列記されるように定義される請求項１３に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。

【請求項１５】

軽鎖可変領域ＶＬを含み、前記軽鎖可変領域が、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される抗体の１、２又は３のＶＬＣＤＲを含む請求項１～１４のいずれか１項に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。

【請求項１６】

ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される抗体のＶＬＣＤＲ１、ＶＬＣＤＲ２及びＶＬＣＤＲ３を含む請求項１５に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。

【請求項１７】

以下のうちの１以上を含む請求項１５に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体：

（ａ）配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２及び３２６から成る群から選択されるＶＬＣＤＲ１、

（ｂ）配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３及び３２７から成る群から選択されるＶＬＣＤＲ２、および

（ｃ）配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４及び３２８から成る群から選択されるＶＬＣＤＲ３。

【請求項１８】

以下を含む請求項１７に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体：

（ａ）配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２及び３２６から成る群から選択されるＶＬＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３及び３２７から成る群から選択されるＶＬＣＤＲ２、および
（ｃ）配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４及び３２８から成る群から選択されるＶＬＣＤＲ３。

【請求項１９】
ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される抗体のＶＬＣＤＲ１、ＶＬＣＤＲ２及びＶＬＣＤＲ３を含み、ＶＬＣＤＲ１、ＶＬＣＤＲ２及びＶＬＣＤＲ３が表２に列記されるように定義される請求項１８に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。

【請求項２０】
配列番号１、１０、１８、２６、３５、４５、５３、６１、６９、７７、８７、１３０、１３８、１４６、１５５、１６３、１７１、１７９、１８７、１９５、２０３、２１１、２１９、２２７、２３５、２４３、２５１、２５９、及び２６７から成る群から選択されるアミノ酸配列に少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％同一である重鎖可変領域ＶＨ含む請求項１～１９のいずれか１項に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。

【請求項２１】
重鎖可変領域が、配列番号１、１０、１８、２６、３５、４５、５３、６１、６９、７７、８７、１３０、１３８、１４６、１５５、１６３、１７１、１７９、１８７、１９５、２０３、２１１、２１９、２２７、２３５、２４３、２５１、２５９、及び２６７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む請求項２０に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。

【請求項２２】
配列番号６、１４、２２、３１、４０、４９、５７、６５、７３、８２、１２２、１３４、１４２、１５０、１５１、１５９、１６７、１７５、１８３、１９１、１９９、２０７、２１５、２２３、２３１、２３９、２４７、２５５、２６３、及び２７１から成る群から選択されるアミノ酸配列に少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％同一である軽鎖可変領域ＶＬ含む請求項１～２１のいずれか１項に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。

【請求項２３】
軽鎖可変領域が、配列番号６、１４、２２、３１、４０、４９、５７、６５、７３、８２、１２２、１３４、１４２、１５０、１５１、１５９、１６７、１７５、１８３、１９１、１９９、２０７、２１５、２２３、２３１、２３９、２４７、２５５、２６３、及び２７１から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む請求項２２に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。

【請求項２４】
配列番号１のＶＨと配列番号６のＶＬ、配列番号１０のＶＨと配列番号１４のＶＬ、配列番号１８のＶＨと配列番号２２のＶＬ、配列番号２６のＶＨと配列番号３１のＶＬ、配列番号３５のＶＨと配列番号４０のＶＬ、配列番号４５のＶＨと配列番号４９のＶＬ、配列番号５３のＶＨと配列番号５７のＶＬ、配列番号６１のＶＨと配列番号６５のＶＬ、配列番号６９のＶＨと配列番号７３のＶＬ、配列番号７７のＶＨと配列番号８２のＶＬ、配列番号８７のＶＨと配列番号１２２のＶＬ、配列番号１３０のＶＨと配列番号１３４のＶＬ、配列番号１３８のＶＨと配列番号１４２のＶＬ、配列番号１４６のＶＨと配列番号１５０のＶＬ、配列番号１４６のＶＨと配列番号１５１のＶＬ、配列番号１５５のＶＨと配列番号１５９のＶＬ、配列番号１６３のＶＨと配列番号１６７のＶＬ、配列番号１７１のＶＨと配列番号１７５のＶＬ、配列番号１７９のＶＨと配列番号１８３のＶＬ、配列番号１８７のＶＨと配列番号１９１のＶＬ、配列番号１９５のＶＨと配列番号１９９のＶＬ、配列番号２０３のＶＨと配列番号２０７のＶＬ、配列番号２１１のＶＨと配列番号２１５のＶＬ、配列番号２１９のＶＨと配列番号２２３のＶＬ、配列番号２２７のＶＨと配列番号２３１のＶＬ、配列番号２３５のＶＨと配列番号２３９のＶＬ、配列番号２４３のＶＨと配列番号２４７のＶＬ、配列番号２５１のＶＨと配列番号２５５のＶＬ、配列番号２５９のＶＨと配列番号２６３のＶＬ、及び配列番号２６７のＶＨと配列番号２７１のＶＬから成る群から選択されるＶＨとＶＬの対を含む請求項１～１６のいずれか１項に記載のモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体。
【請求項２５】
ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される抗体と同じＴＤＰ－４３のエピトープに結合するモノクローナル抗体。
【請求項２６】
ＴＤＰ－４３への特異的な結合について、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される抗体と競合するモノクローナル抗体。
【請求項２７】
ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体又はマウス化抗体である請求項２～２６のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項２８】
抗原結合性の抗体断片である請求項２～２７のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項２９】
抗体断片が、単鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）、Ｆ（ａｂ’）断片、Ｆ（ａｂ）断片及びＦ（ａｂ’）２断片から成る群から選択される請求項２８に記載の抗体。
【請求項３０】

請求項１０～２９のいずれか１項に記載の抗体のＶＨ及び／又はＶＬを含む単離されたポリペプチド。
【請求項３１】
請求項３０に記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド。
【請求項３２】
配列番号９５～１１６及び２７５～３１０から成る群から選択されるヌクレオチド配列を含む請求項３１に記載のポリヌクレオチド。
【請求項３３】
請求項３１又は３２に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。
【請求項３４】
請求項３１又は３２に記載のポリヌクレオチド又は請求項３３に記載のベクターを含む宿主細胞。
【請求項３５】
抗ＴＤＰ－４３抗体又はその免疫グロブリン鎖を調製する方法であって、
（ａ）請求項３４に記載に細胞を培養することと、
（ｂ）培養物から前記抗体又はその免疫グロブリン鎖を単離することを含む方法。
【請求項３６】
請求項３５に記載の方法によって得られる抗体。
【請求項３７】
検出可能に標識される請求項１～２９又は３６のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項３８】
検出可能な標識が、酵素、放射性同位元素、蛍光色素分子及び重金属から成る群から選択される請求項３７に記載の抗体。
【請求項３９】
薬剤に連結される請求項１～２９又は３６～３８のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項４０】
請求項１～２９又は３６～３９のいずれか１項に記載の抗体を含む組成物。
【請求項４１】
医薬組成物であり、さらに薬学上許容可能な担体を含む請求項４０に記載の組成物。
【請求項４２】
ワクチンである請求項４１に記載の組成物。
【請求項４３】
さらにＴＤＰ－４３タンパク質症を治療するのに有用な追加の剤を含む請求項４１又は４２に記載の医薬組成物。
【請求項４４】
診断用組成物であり、任意で、免疫診断法又は核酸に基づく診断法で従来使用されている試薬を含む請求項４０に記載の組成物。
【請求項４５】
ＴＤＰ－４３タンパク質症を治療することを、それを必要とする対象にて行う方法であって、治療上有効な量の請求項１～２９又は３６～３９のいずれか１項に記載の抗体を投与することを含む方法。
【請求項４６】
対象にてＴＤＰ－４３タンパク質症の予防処置又は治療処置のために、その進行をモニターする、又はその治療に対する応答をモニターするために医薬組成物又は診断用組成物を調製するための請求項１～２９又は３６～３９のいずれか１項に記載の抗体の使用。
【請求項４７】
対象においてＴＤＰ－４３タンパク質症を診断する方法であって、
（ａ）請求項１～２９又は３６～３９８のいずれか１項に記載の抗体によって診断される対象からの試料にてＴＤＰ－４３のレベルを評価することと、

（ｂ）前記ＴＤＰ－４３のレベルを、１以上の対照の対象におけるＴＤＰ－４３のレベルを示す参照標準と比較することを含み、
ＴＤＰ－４３のレベルと参照標準との間の差異又は類似性は、対象がＴＤＰ－４３タンパク質症に罹っていることを示す方法。
【請求項４８】
ＴＤＰ－４３タンパク質症が、嗜銀性顆粒痴呆、アルツハイマー病、筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、グアムのＡＬＳ／パーキンソン型認知症複合体、大脳皮質基底核変性症、レビー小体認知症、ハンチントン病、レビー小体病、運動ニューロン病、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、前頭側頭認知症、ユビキチン陽性の封入体を伴った前頭側頭葉変性症、海馬硬化症、封入体ミオパシー、封入体筋炎、パーキンソン病、パーキンソン病認知症、Ｋｉｉ半島におけるパーキンソン／認知症複合体、及びピック病から成る群から選択される請求項４６に記載の使用又は請求項４５若しくは４７に記載の方法。
【請求項４９】
ヒト又は動物の体でＴＤＰ－４３を生体内検出するために又は治療剤及び／又は診断剤をＴＤＰ－４３に対して標的化するために組成物を調製するための請求項１～２９又は３６～３９のいずれか１項に記載の抗体の使用。
【請求項５０】
前記生体内での画像解析が、ポジトロン放出断層撮影（ＰＥＴ）、単一光子放出型断層撮影（ＳＰＥＣＴ）、近赤外線（ＮＩＲ）光学画像撮影又は磁気共鳴画像撮影（ＭＲＩ）を含む請求項４９に記載の使用。
【請求項５１】
ＴＤＰ－４３タンパク質症の診断又は進行のモニターに有用なキットであって、請求項１～２９又は３６～３９のいずれか１項に記載の少なくとも１つの抗体を含むキット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
発明の分野
本発明は一般に、ＴＤＰ－４３を特異的に認識する、抗体（その断片、誘導体及び変異体を含む）のような新規のＴＤＰ－４３（４３ｋＤａのＴＡＲ　ＤＮＡ結合タンパク質）に特異的な結合分子に関する。さらに、本発明は、そのような抗体及び他のＴＤＰ－４３に特異的な結合分子を含む医薬および診断用組成物、並びに血漿、脳脊髄液、脳及び他の試料でＴＤＰ－４３を検出する及び特定するためのその使用、ならびに、たとえば、前頭側頭葉変性症及び／又は筋委縮性側索硬化症、アルツハイマー病、パーキンソン病及び他のＴＤＰ－４３タンパク質症のようなＴＤＰ－４３の発現における凝集又は他の異常に関連する疾病を治療するための受動ワクチン接種戦略を含む治療応用におけるその使用に関する。
【背景技術】
【０００２】
前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）は６５歳未満の人を冒す認知症の２番目に最も多い原因である。たとえば、ＭｃＫｈａｎｎら、Ａｒｃｈ．Ｎｅｕｒｏｌ．５８（２００１），１８０３；Ｆｏｒｍａｎら、Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．５９（２００６），９５２－６２を参照のこと。細胞病理レベルでは、ＦＴＬＤ脳の大半における特徴的な病変は、異常なユビキチン化タンパク質の封入体である。ＦＴＬＤの最も一般的な病理形態におけるユビキチン化封入体、すなわち、ＦＴＬＤ－Ｕの生化学的組成は、ＴＡＲ－ＤＮＡ結合タンパク質４３（ＴＤＰ－４３）が散発性及び家族性のＦＴＬＤ－Ｕ症例の大半における主要な疾患タンパク質として特定された２００６年まで不明のままだった。その後、筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ）に特徴的なユビキチン化された小型封入体がＴＤＰ－４３から構成されることも見い出され、それによって双方の状態が機構的に連鎖するという証拠及びＴＤＰ－４３タンパク質症として分類することができる疾患の範囲の一部が提供された。たとえば、Ｎｅｕｍａｎｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３１４（２００６），１３０－１３３を参照のこ

と。

【０００３】

ＦＴＬＤ及びＡＬＳ以外では、ＴＤＰ－４３は、グアムのＡＬＳ／パーキンソン型認知症複合体、大脳皮質基底核変性症、レビー小体認知症、ハンチントン病、レビー小体病、運動ニューロン病、前頭側頭認知症、ユビキチン陽性の封入体を伴った前頭側頭葉変性症、海馬硬化症、封入体ミオパシー、封入体筋炎、パーキンソン病、パーキンソン病認知症、Ｋｉｉ半島におけるパーキンソン／認知症複合体及びピック病等の神経細胞及びグリア細胞に蓄積することも知られている。たとえば、その全体が参照によって本明細書に組み入れられるＬａｇｉｅｒ－Ｔｏｕｒｅｎｎｅら、Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎ．１９（２０１０），Ｒ４６－６４を参照のこと。これらの疾患はまとめてＴＤＰ－４３タンパク質症と呼ばれる。ＴＤＰ－４３の異常な蓄積が、これらの疾患の神経変性の原因への関与を示すと思われる各疾患の病変部位で認められる。「前封入体」と呼ばれる患者の脳及び脊髄におけるＴＤＰ－４３の高い細胞質局在は、ＴＤＰ－４３タンパク質症における早期事象であると提案されており、これらの疾患における、可能性のある病理上の役割を暗示している。たとえば、Ｇｉｏｒｄａｎａら、Ｂｒａｉｎ Ｐａｔｈｏｌ．２０（２０１０），３５１－６０を参照のこと。一貫して、発症前段階でのＴＤＰ－４３の高い細胞質局在は、野生型ＴＤＰ－４３を過剰発現しているマウスにおいて見出され、たとえば、Ｗｉｌｓら、Ｐｒｏｃ．ＮａｔｌＡｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、１０７（２０１０），３８５８－６３を参照、同様にアデノウイルス介在性の野生型ＴＤＰ－４３の発現を持つ急性ラットモデルでも見出されたことが報告されている；たとえば、Ｔａｔｏｍら、Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１７（２００９），６０７－６１３を参照のこと。市販のマウスのモノクローナル抗体がＴＤＰ－４３に関する研究では主として使用され、ＴＤＰ－４３タンパク質症の病理診断を実施するのに使用される。ＴＤＰ－４３のリン酸化された形態を認識するマウスのモノクローナル抗ＴＤＰ－４３抗体が欧州特許出願番号２１８９５２６Ａ１にて開示されている。追加の抗ＴＤＰ－４３抗体はＺｈａｎｇら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０６（１８）：７６０７－１２（２００９）及び米国特許出願公開番号２０１００１３６５７３にて開示されている。

【０００４】

モノクローナル抗体を生成することにおける成功は、とりわけ、Ｋｏｈｌｅｒ及びＭｉｌｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ、２５６（１９７５），４９５－４９７によって最初に記載されたように、抗原刺激されたＢ細胞のマウス骨髄腫細胞株との効率的で選択的な融合とそれに続く安定な抗体産生ハイブリッドの選抜に基づく。しかしながら、マウスに基づく抗体のヒトにおける治療上の有用性は、非ヒト起源の結末としてのヒト抗マウス抗体（ＨＡＭＡ）の反応によって妨害される。ヒト又はヒト様のモノクローナル抗体を作製するためのアプローチは遺伝子操作を介して利用可能になった。しかしながら、これらの方法は通常、生理的なヒトの免疫応答の過程の間でヒト免疫系によって内因産生される抗体の特徴の多数を提示する抗体を作製するには好適ではないという欠点に悩まされる。さらに、これらの遺伝子操作された抗体は、生物学的に関連する天然の構造及び標的抗原の正常な生理的機能の背景において他のタンパク質及び／又は標的タンパク質との望ましくない交差反応を示し得る。外因性抗体の全身性投与の際の得られる副作用は、たとえば、望ましくない自己免疫疾患からアナフィラキシー反応に及び得る。これらの副作用は、たとえば、マウスのような非ヒト生物に元々起因するいわゆる「ヒト化抗体」、ならびに試験管内又はヒト抗体のレパートリーを発現するように遺伝子操作された異種マウスにおけるいわゆる「完全なヒト抗体」において報告されている。一方、病理上関連する抗原による能動免疫は、これらの抗原に対する制御不能の免疫応答及び結果的に危険な自己免疫応答を招き得る内因性抗原との交差反応を発生する患者の相当なリスクを負う。

【０００５】

さらに、ＦＴＬＤ及びＡＬＳの生体マーカーとしての血漿、脳脊髄液及び他の試料における正常な及び病的なＴＤＰ－４３のレベルを検出し、モニターするアッセイの開発は、ＴＤＰ－４３タンパク質症を診断し、それを、たとえば、タウオパシー又は関連するタン

パク質症のような臨床的に類似する他の神経変性疾病から区別する能力を提供するであろう。加えて、生きている患者にてＴＤＰ－４３神経障害の検出及び／又は定量を可能にする画像化用リガンドの開発は、診断だけでなく、利用できるようになる場合疾患改変療法に対する、神経変性ＴＤＰ－４３タンパク質症を有する患者の応答をモニターするのに有用なツールを提供するであろう。

従って、上述の限界を克服し、ＴＤＰ－４３の生物学的に関連する構造を特異的に認識する治療用及び診断用の抗体及び他の結合分子を提供するニーズがある。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００６】

【特許文献１】米国特許出願公開第２０１０／０１３６５７３号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００７】

本発明は、ＴＤＰ－４３を特異的に認識することができる、抗体（抗体の断片、誘導体及び変異体を含む）のようなＴＤＰ－４３（４３ｋＤａのＴＡＲ　ＤＮＡ結合タンパク質）に特異的な結合分子に関する。「ＴＤＰ－４３を特異的に認識すること」、「ＴＤＰ－４３に対して／について特異的な抗体」及び「抗ＴＤＰ－４３抗体」は、具体的に、一般的に及びまとめて、ＴＤＰ－４３又は誤って折り畳まれた、若しくは凝集した、若しくは翻訳後修飾されたＴＤＰ－４３に対する抗体を意図する。一実施形態によれば、本発明の抗体（抗原結合性の抗体断片及び抗体誘導体を含む）は、完全長の、切り詰めた又は凝集したＴＤＰ－４３を特異的に認識する。追加の実施形態では、抗体は、配列番号９４の配列を有する完全長のヒトＴＤＰ－４３又は残基４０９及び４１０にてリン酸化された配列番号９４のＣ末端配列の残基３９０～４１４から成るペプチドを認識する。

【課題を解決するための手段】

【０００８】

一実施形態では、ＴＤＰ－４３に特異的な結合分子は、それぞれ、（配列番号１）及び（配列番号６）、（配列番号１０）及び（配列番号１４）、（配列番号１８）及び（配列番号２２）、（配列番号２６）及び（配列番号３１）、（配列番号３５）及び（配列番号４０）、（配列番号４５）及び（配列番号４９）、（配列番号５３）及び（配列番号５７）、（配列番号６１）及び（配列番号６５）、（配列番号６９）及び（配列番号７３）、（配列番号７７）及び（配列番号８２）、（配列番号８７）及び（配列番号１２２）、（配列番号１３０）及び（配列番号１３４）、（配列番号１３８）及び（配列番号１４２）、（配列番号１４６）及び（配列番号１５０）、（配列番号１４６）及び（配列番号１５１）、（配列番号１５５）及び（配列番号１５９）、（配列番号１６３）及び（配列番号１６７）、（配列番号１７１）及び（配列番号１７５）、（配列番号１７９）及び（配列番号１８３）、（配列番号１８７）及び（配列番号１９１）、（配列番号１９５）及び（配列番号１９９）、（配列番号２０３）及び（配列番号２０７）、（配列番号２１１）及び（配列番号２１５）、（配列番号２１９）及び（配列番号２２３）、（配列番号２２７）及び（配列番号２１３）、（配列番号２３５）及び（配列番号２３９）、（配列番号２４３）及び（配列番号２４７）、（配列番号２５１）及び（配列番号２５５）、（配列番号２５９）及び（配列番号２６３）、又は（配列番号２６７）及び（配列番号２７１）で示されるアミノ酸配列の可変領域V_H及びV_Lを有する抗体のような本明細書で記載される抗体の免疫結合特性を有する抗体（抗原結合性のその断片又は誘導体含む）である。

【０００９】

本発明は、本発明の抗体（ＴＤＰ－４３結合性の抗体断片又は抗体誘導体含む）、又はＴＤＰ－４３アゴニスト及び同族分子、又は代わりにそのアンタゴニストを含む組成物、及びＴＤＰ－４３タンパク質症の予防、診断又は治療にてそのような組成物を使用する免疫治療及び免疫診断の方法にも関し、有効量の組成物がそれを必要とする患者に投与される。

【００１０】
抗体（ＴＤＰ－４３結合性の抗体断片又は抗体誘導体含む）のようなＴＤＰ－４３結合分子をコードするポリヌクレオチドも本発明によって包含される。いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、本発明の抗体の免疫グロブリン鎖の少なくとも１つの可変領域をコードする。追加の実施形態では、ポリヌクレオチドは、図１及び図３に示すようなV_H及び／又はV_L可変領域の少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）をコードする。追加の実施形態では、ポリヌクレオチドは、表３に示すようなポリヌクレオチド配列によってコードされるV_H及び／又はV_L可変領域の少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）をコードする。上記コードされたＴＤＰ－４３結合ペプチド及びこれらのポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチドの誘導体又は類似体をコードするポリヌクレオチドも本発明によって包含される。

【００１１】
本発明のＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、抗体）をコードするポリヌクレオチドを含有するベクター及びこれらのベクター及び／又はポリヌクレオチドで形質転換された宿主細胞も本発明によって包含され、同様にＴＤＰ－４３に特異的である抗体及び同等の結合分子の作製用のその使用も包含される。抗体及び他の結合ポリペプチド及びその模倣体の組換え作製の手段及び方法、並びにＴＤＰ－４３との結合についてそれら抗体又は他の結合タンパク質と競合する分子、たとえば、抗体をスクリーニングする方法は当該技術で既知である。本明細書で記載されるように、いくつかの実施形態では、ヒトにおける治療応用に関連する例については、本発明のＴＤＰ－４３特異的な結合抗体は、前記抗体が、さもなければ、キメラ抗体及びさらにヒト化抗体で認められるＨＡＭＡ反応を実質的に含まないという意味でヒト抗体である。

【００１２】
一実施形態では、本発明はＴＤＰ－４３に特異的に結合する分子及び試料におけるＴＤＰ－４３の存在を検出するためのこれら分子の使用を包含する。従って、たとえば、抗ＴＤＰ－４３抗体のような本発明のＴＤＰ－４３結合分子は、たとえば、ＥＬＩＳＡ系アッセイ又は表面適合アッセイによって、試料におけるＴＤＰ－４３の存在についてヒト血液、ＣＳＦ及び尿をスクリーニングするのに使用することができる。本明細書で開示される方法及び組成物は、たとえば、筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ）又は前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）のようなＴＤＰ－４３タンパク質症を診断することにて適用を有する。本発明の方法及び組成物はまた、発症前の疾患を診断すること及び疾患の進行や治療の有効性をモニターすることにても適用を有する。いくつかの実施形態によれば、ＴＤＰ－４３に特異的な抗体（たとえば、完全長抗体又は抗体のＴＤＰ－４３結合性の断片又は誘導体）を試料（たとえば、血液、脳脊髄液又は脳組織）と接触させて、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）又は筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を検出し、診断し、又はモニターする。別の実施形態では、ＴＤＰ－４３に特異的な抗体を試料と接触させて、アルツハイマー病、パーキンソン病、及びレビー小体病から選択される疾患を検出し、診断し、又はモニターする。別の実施形態では、ＴＤＰ－４３に特異的な抗体を試料と接触させて、嗜銀性顆粒痴呆、グアムのＡＬＳ／パーキンソン型認知症複合、大脳皮質基底核変性症、レビー小体認知症、ハンチントン病、運動ニューロン病、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、前頭側頭認知症、ユビキチン陽性の封入体を伴った前頭側頭葉変性症、海馬硬化症、封入体ミオパシー、封入体筋炎、パーキンソン病認知症、Ｋｉｉ半島におけるパーキンソン／認知症複合、ピック病及びマシャド・ジョセフ病又は認知症から選択される疾患を検出し、診断し、又はモニターする。

【００１３】
追加の実施形態では、本発明はＴＤＰ－４３神経性タンパク質症を治療する又は予防する方法を提供する。一実施形態によれば、本発明の方法は、有効濃度のＴＤＰ－４３に特異的な抗体（たとえば、完全長抗体又は抗体のＴＤＰ－４３結合性の断片又は誘導体）を対象に投与することを含む。追加の実施形態では、本発明はＴＤＰ－４３神経性タンパク質症を治療する又は予防する方法を提供する。いくつかの実施形態によれば、ＴＤＰ－４

３に特異的な抗体を投与して前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）又は筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を治療する又は予防する。別の実施形態では、ＴＤＰ－４３に特異的な抗体を投与してアルツハイマー病、パーキンソン病、及びレビー小体病から選択される神経変性疾患を治療する又は予防する。別の実施形態では、ＴＤＰ－４３に特異的な抗体を投与して、嗜銀性顆粒痴呆、グアムのＡＬＳ／パーキンソン型認知症複合体、大脳皮質基底核変性症、レビー小体認知症、ハンチントン病、運動ニューロン病、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、前頭側頭認知症、ユビキチン陽性の封入体を伴った前頭側頭葉変性症、海馬硬化症、封入体ミオパシー、封入体筋炎、パーキンソン病認知症、Ｋｉｉ半島におけるパーキンソン／認知症複合、ピック病及びマシャド・ジョセフ病又は認知症から選択される疾患を治療する又は予防する。

【００１４】

本発明のさらなる実施形態は後に続く説明及び実施例から明らかである。

【図面の簡単な説明】

【００１５】

【図１－１】ヒト抗体ＮＩ－２０５．３Ｆ１０（図１Ａ）、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１（図１Ｂ）、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２（図１Ｃ）、ＮＩ－２０５．８Ａ２（図１Ｄ）、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２（図１Ｅ）、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４（図１Ｆ）、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３（図１Ｇ）、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７（図１Ｈ）、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１（図１Ｉ）、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５（図１Ｊ）、及びＮＩ－２０５．２０Ａ１（図１Ｋ）の可変領域、すなわち、重鎖及びκ／λ軽鎖のアミノ酸配列を示す図である。フレームワーク（ＦＲ）、相補性決定領域（ＣＤＲ、下線）、重鎖結合領域（ＪＨ）及び軽鎖結合領域（ＪＫ）又は（ＪＬ）を示す。可能性のあるＰＣＲプライマーが誘導したクローニング人為結果を説明するように修飾された及びヒト生殖細胞の可変領域の配列に一致するように修飾されたアミノ酸の位置を太字で提供する。

【図１－２】ヒト抗体ＮＩ－２０５．３Ｆ１０（図１Ａ）、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１（図１Ｂ）、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２（図１Ｃ）、ＮＩ－２０５．８Ａ２（図１Ｄ）、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２（図１Ｅ）、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４（図１Ｆ）、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３（図１Ｇ）、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７（図１Ｈ）、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１（図１Ｉ）、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５（図１Ｊ）、及びＮＩ－２０５．２０Ａ１（図１Ｋ）の可変領域、すなわち、重鎖及びκ／λ軽鎖のアミノ酸配列を示す図である。フレームワーク（ＦＲ）、相補性決定領域（ＣＤＲ、下線）、重鎖結合領域（ＪＨ）及び軽鎖結合領域（ＪＫ）又は（ＪＬ）を示す。可能性のあるＰＣＲプライマーが誘導したクローニング人為結果を説明するように修飾された及びヒト生殖細胞の可変領域の配列に一致するように修飾されたアミノ酸の位置を太字で提供する。

【図１－３】ヒト抗体ＮＩ－２０５．３Ｆ１０（図１Ａ）、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１（図１Ｂ）、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２（図１Ｃ）、ＮＩ－２０５．８Ａ２（図１Ｄ）、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２（図１Ｅ）、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４（図１Ｆ）、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３（図１Ｇ）、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７（図１Ｈ）、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１（図１Ｉ）、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５（図１Ｊ）、及びＮＩ－２０５．２０Ａ１（図１Ｋ）の可変領域、すなわち、重鎖及びκ／λ軽鎖のアミノ酸配列を示す図である。フレームワーク（ＦＲ）、相補性決定領域（ＣＤＲ、下線）、重鎖結合領域（ＪＨ）及び軽鎖結合領域（ＪＫ）又は（ＪＬ）を示す。可能性のあるＰＣＲプライマーが誘導したクローニング人為結果を説明するように修飾された及びヒト生殖細胞の可変領域の配列に一致するように修飾されたアミノ酸の位置を太字で提供する。

【図１－４】ヒト抗体ＮＩ－２０５．３Ｆ１０（図１Ａ）、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１（図１Ｂ）、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２（図１Ｃ）、ＮＩ－２０５．８Ａ２（図１Ｄ）、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２（図１Ｅ）、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４（図１Ｆ）、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３（図１Ｇ）、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７（図１Ｈ）、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１（図１Ｉ）、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５（図１Ｊ）、及びＮＩ－２０５．２０Ａ１（図１Ｋ）の可変領域、すなわち、重鎖及びκ／λ軽鎖のアミノ酸配列を示す図である。フレームワー

ク（ＦＲ）、相補性決定領域（ＣＤＲ、下線）、重鎖結合領域（ＪＨ）及び軽鎖結合領域（ＪＫ）又は（ＪＬ）を示す。可能性のあるＰＣＲプライマーが誘導したクローニング人為結果を説明するように修飾された及びヒト生殖細胞の可変領域の配列に一致するように修飾されたアミノ酸の位置を太字で提供する。

【図２－１】図２Ａ～２Ｊは、アミノ酸残基２～１０６（ドメインＩ（配列番号１１７））、９９～２０４（ドメインＩＩ（配列番号１１８））、１８３～２７３（ドメインＩＩＩ（配列番号１１９））、２５８～４１４（ドメインＩＶ（配列番号１２０））、又は２～４１４（完全長（配列番号１２１））から成るＴＤＰ－４３のアミノ末端Ｈｉｓタグ断片へのヒトＴＤＰ－４３抗体の結合を示すグラフである。

【図２－２】図２Ａ～２Ｊは、アミノ酸残基２～１０６（ドメインＩ（配列番号１１７））、９９～２０４（ドメインＩＩ（配列番号１１８））、１８３～２７３（ドメインＩＩＩ（配列番号１１９））、２５８～４１４（ドメインＩＶ（配列番号１２０））、又は２～４１４（完全長（配列番号１２１））から成るＴＤＰ－４３のアミノ末端Ｈｉｓタグ断片へのヒトＴＤＰ－４３抗体の結合を示すグラフである。

【図３－１】ヒト抗体ＮＩ２０５．４１Ｄ１（図３Ａ）、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１（図３Ｂ）、ＮＩ２０５．９Ｅ１２（図３Ｃ）、ＮＩ２０５．９８Ｈ６（図３Ｄ）、ＮＩ２０５．１０Ｄ３（図３Ｅ）、ＮＩ２０５．４４Ｂ２（図３Ｆ）、ＮＩ２０５．３８Ｈ２（図３Ｇ）、ＮＩ２０５．３６Ｄ５（図３Ｈ）、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１（図３Ｉ）、ＮＩ２０５．１４Ｈ５（図３Ｊ）、ＮＩ２０５．３１Ｄ２（図３Ｋ）、ＮＩ２０５．８Ｆ８（図３Ｌ）、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１（図３Ｍ）、ＮＩ２０５．８Ｃ１０（図３Ｎ）、ＮＩ２０５．１０Ｈ７（図３Ｏ）、ＮＩ２０５．１Ａ９（図３Ｐ）、ＮＩ２０５．１４Ｗ３（図３Ｑ）、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５（図３Ｒ）の可変領域、すなわち、重鎖（ＶＨ）及びκ（ＶＫ）／λ（ＶＬ）軽鎖のアミノ酸配列を示す図である。相補性決定領域（ＣＤＲ）には下線を引く。

【図３－２】ヒト抗体ＮＩ２０５．４１Ｄ１（図３Ａ）、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１（図３Ｂ）、ＮＩ２０５．９Ｅ１２（図３Ｃ）、ＮＩ２０５．９８Ｈ６（図３Ｄ）、ＮＩ２０５．１０Ｄ３（図３Ｅ）、ＮＩ２０５．４４Ｂ２（図３Ｆ）、ＮＩ２０５．３８Ｈ２（図３Ｇ）、ＮＩ２０５．３６Ｄ５（図３Ｈ）、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１（図３Ｉ）、ＮＩ２０５．１４Ｈ５（図３Ｊ）、ＮＩ２０５．３１Ｄ２（図３Ｋ）、ＮＩ２０５．８Ｆ８（図３Ｌ）、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１（図３Ｍ）、ＮＩ２０５．８Ｃ１０（図３Ｎ）、ＮＩ２０５．１０Ｈ７（図３Ｏ）、ＮＩ２０５．１Ａ９（図３Ｐ）、ＮＩ２０５．１４Ｗ３（図３Ｑ）、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５（図３Ｒ）の可変領域、すなわち、重鎖（ＶＨ）及びκ（ＶＫ）／λ（ＶＬ）軽鎖のアミノ酸配列を示す図である。相補性決定領域（ＣＤＲ）には下線を引く。

【図３－３】ヒト抗体ＮＩ２０５．４１Ｄ１（図３Ａ）、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１（図３Ｂ）、ＮＩ２０５．９Ｅ１２（図３Ｃ）、ＮＩ２０５．９８Ｈ６（図３Ｄ）、ＮＩ２０５．１０Ｄ３（図３Ｅ）、ＮＩ２０５．４４Ｂ２（図３Ｆ）、ＮＩ２０５．３８Ｈ２（図３Ｇ）、ＮＩ２０５．３６Ｄ５（図３Ｈ）、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１（図３Ｉ）、ＮＩ２０５．１４Ｈ５（図３Ｊ）、ＮＩ２０５．３１Ｄ２（図３Ｋ）、ＮＩ２０５．８Ｆ８（図３Ｌ）、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１（図３Ｍ）、ＮＩ２０５．８Ｃ１０（図３Ｎ）、ＮＩ２０５．１０Ｈ７（図３Ｏ）、ＮＩ２０５．１Ａ９（図３Ｐ）、ＮＩ２０５．１４Ｗ３（図３Ｑ）、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５（図３Ｒ）の可変領域、すなわち、重鎖（ＶＨ）及びκ（ＶＫ）／λ（ＶＬ）軽鎖のアミノ酸配列を示す図である。相補性決定領域（ＣＤＲ）には下線を引く。

【図３－４】ヒト抗体ＮＩ２０５．４１Ｄ１（図３Ａ）、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１（図３Ｂ）、ＮＩ２０５．９Ｅ１２（図３Ｃ）、ＮＩ２０５．９８Ｈ６（図３Ｄ）、ＮＩ２０５．１０Ｄ３（図３Ｅ）、ＮＩ２０５．４４Ｂ２（図３Ｆ）、ＮＩ２０５．３８Ｈ２（図３Ｇ）、ＮＩ２０５．３６Ｄ５（図３Ｈ）、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１（図３Ｉ）、ＮＩ２０５．１４Ｈ５（図３Ｊ）、ＮＩ２０５．３１Ｄ２（図３Ｋ）、ＮＩ２０５．８Ｆ８（図３Ｌ）、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１（図３Ｍ）、ＮＩ２０５．８Ｃ１０（図３Ｎ）、ＮＩ２０

５．１０Ｈ７（図３Ｏ）、ＮＩ２０５．１Ａ９（図３Ｐ）、ＮＩ２０５．１４Ｗ３（図３Ｑ）、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５（図３Ｒ）の可変領域、すなわち、重鎖（ＶＨ）及びκ（ＶＫ）／λ（ＶＬ）軽鎖のアミノ酸配列を示す図である。相補性決定領域（ＣＤＲ）には下線を引く。

【図３－５】ヒト抗体ＮＩ２０５．４１Ｄ１（図３Ａ）、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１（図３Ｂ）、ＮＩ２０５．９Ｅ１２（図３Ｃ）、ＮＩ２０５．９８Ｈ６（図３Ｄ）、ＮＩ２０５．１０Ｄ３（図３Ｅ）、ＮＩ２０５．４４Ｂ２（図３Ｆ）、ＮＩ２０５．３８Ｈ２（図３Ｇ）、ＮＩ２０５．３６Ｄ５（図３Ｈ）、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１（図３Ｉ）、ＮＩ２０５．１４Ｈ５（図３Ｊ）、ＮＩ２０５．３１Ｄ２（図３Ｋ）、ＮＩ２０５．８Ｆ８（図３Ｌ）、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１（図３Ｍ）、ＮＩ２０５．８Ｃ１０（図３Ｎ）、ＮＩ２０５．１０Ｈ７（図３Ｏ）、ＮＩ２０５．１Ａ９（図３Ｐ）、ＮＩ２０５．１４Ｗ３（図３Ｑ）、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５（図３Ｒ）の可変領域、すなわち、重鎖（ＶＨ）及びκ（ＶＫ）／λ（ＶＬ）軽鎖のアミノ酸配列を示す図である。相補性決定領域（ＣＤＲ）には下線を引く。

【図３－６】ヒト抗体ＮＩ２０５．４１Ｄ１（図３Ａ）、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１（図３Ｂ）、ＮＩ２０５．９Ｅ１２（図３Ｃ）、ＮＩ２０５．９８Ｈ６（図３Ｄ）、ＮＩ２０５．１０Ｄ３（図３Ｅ）、ＮＩ２０５．４４Ｂ２（図３Ｆ）、ＮＩ２０５．３８Ｈ２（図３Ｇ）、ＮＩ２０５．３６Ｄ５（図３Ｈ）、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１（図３Ｉ）、ＮＩ２０５．１４Ｈ５（図３Ｊ）、ＮＩ２０５．３１Ｄ２（図３Ｋ）、ＮＩ２０５．８Ｆ８（図３Ｌ）、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１（図３Ｍ）、ＮＩ２０５．８Ｃ１０（図３Ｎ）、ＮＩ２０５．１０Ｈ７（図３Ｏ）、ＮＩ２０５．１Ａ９（図３Ｐ）、ＮＩ２０５．１４Ｗ３（図３Ｑ）、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５（図３Ｒ）の可変領域、すなわち、重鎖（ＶＨ）及びκ（ＶＫ）／λ（ＶＬ）軽鎖のアミノ酸配列を示す図である。相補性決定領域（ＣＤＲ）には下線を引く。

【図４－１】（Ａ～Ｄ）組換え完全長ＴＤＰ－４３（●）、大腸菌抽出物（▲）及びＢＳＡ（■）又は（Ｅ～Ｈ）残基４０９／４１０でのリン酸化の修飾を持つＴＤＰ－４３のＣ末端ドメインの残基３９０～４１４の範囲に及ぶ合成ペプチド（●）及びＢＳＡ（■）に対する直接ＥＬＩＳＡによるヒト由来のＴＤＰ－４３抗体の５０％効果濃度（EC_{50}）を決定するグラフである。

【図４－２】（Ａ～Ｄ）組換え完全長ＴＤＰ－４３（●）、大腸菌抽出物（▲）及びＢＳＡ（■）又は（Ｅ～Ｈ）残基４０９／４１０でのリン酸化の修飾を持つＴＤＰ－４３のＣ末端ドメインの残基３９０～４１４の範囲に及ぶ合成ペプチド（●）及びＢＳＡ（■）に対する直接ＥＬＩＳＡによるヒト由来のＴＤＰ－４３抗体の５０％効果濃度（EC_{50}）を決定するグラフである。

【図５－１】図５Ａ～Ｍは、直接ＥＬＩＳＡによって決定される、ＴＤＰ－４３のアミノ酸２～１０６（ドメインＩ）、９９～２０４（ドメインＩＩ）、１８３～２７３（ドメインＩＩＩ）、２５８～４１４（ドメインＩＶ）及び２～４１４（完全長）を含むＴＤＰ－４３ドメインに対するヒト由来の抗体の結合特異性を示すグラフである。

【図５－２】図５Ａ～Ｍは、直接ＥＬＩＳＡによって決定される、ＴＤＰ－４３のアミノ酸２～１０６（ドメインＩ）、９９～２０４（ドメインＩＩ）、１８３～２７３（ドメインＩＩＩ）、２５８～４１４（ドメインＩＶ）及び２～４１４（完全長）を含むＴＤＰ－４３ドメインに対するヒト由来の抗体の結合特異性を示すグラフである。

【図６－１】図６Ａ～Ｑは、ウエスタンブロット解析によって決定される、ＴＤＰ－４３のアミノ酸２～１０６（ドメインＩ）、９９～２０４（ドメインＩＩ）、１８３～２７３（ドメインＩＩＩ）、及び２５８～４１４（ドメインＩＶ）含むＴＤＰ－４３ドメインに対するヒト由来の抗体の結合を示す図である。

【図６－２】図６Ａ～Ｑは、ウエスタンブロット解析によって決定される、ＴＤＰ－４３のアミノ酸２～１０６（ドメインＩ）、９９～２０４（ドメインＩＩ）、１８３～２７３（ドメインＩＩＩ）、及び２５８～４１４（ドメインＩＶ）含むＴＤＰ－４３ドメインに対するヒト由来の抗体の結合を示す図である。

【図６－３】図６Ａ～Ｑは、ウエスタンブロット解析によって決定される、ＴＤＰ－４３のアミノ酸２～１０６（ドメインＩ）、９９～２０４（ドメインＩＩ）、１８３～２７３（ドメインＩＩＩ）、及び２５８～４１４（ドメインＩＶ）含むＴＤＰ－４３ドメインに対するヒト由来の抗体の結合を示す図である。
【図６－４】図６Ａ～Ｑは、ウエスタンブロット解析によって決定される、ＴＤＰ－４３のアミノ酸２～１０６（ドメインＩ）、９９～２０４（ドメインＩＩ）、１８３～２７３（ドメインＩＩＩ）、及び２５８～４１４（ドメインＩＶ）含むＴＤＰ－４３ドメインに対するヒト由来の抗体の結合を示す図である。
【図６－５】図６Ａ～Ｑは、ウエスタンブロット解析によって決定される、ＴＤＰ－４３のアミノ酸２～１０６（ドメインＩ）、９９～２０４（ドメインＩＩ）、１８３～２７３（ドメインＩＩＩ）、及び２５８～４１４（ドメインＩＶ）含むＴＤＰ－４３ドメインに対するヒト由来の抗体の結合を示す図である。
【図６－６】図６Ａ～Ｑは、ウエスタンブロット解析によって決定される、ＴＤＰ－４３のアミノ酸２～１０６（ドメインＩ）、９９～２０４（ドメインＩＩ）、１８３～２７３（ドメインＩＩＩ）、及び２５８～４１４（ドメインＩＶ）含むＴＤＰ－４３ドメインに対するヒト由来の抗体の結合を示す図である。
【図７－１】（Ａ）完全長ＴＤＰ－４３及びアミノ酸残基２５８～４１４、２５８～３８４、２５８～３７５、２５８～３６２、２５８～３５３、２５８～３１９、３１７～４１４及び３４０～４１４含むＴＤＰ－４３の断片に対するＮＩ－２０５．４１Ｄ１抗体の結合を示す図である。（Ｂ）完全長ＴＤＰ－４３、アミノ酸残基２５８～４１４を含むＴＤＰ－４３断片及びアミノ酸残基２５８～４１４、残基３２１におけるＡからＧへの置換、残基３２２におけるＭからＧへの置換及び残基３２３におけるＭからＧへの置換を含む変異体ＴＤＰ－４３ポリペプチド断片（ＴＤＰ－４３、２５８－４１４、ＡＭＭ３２１ＧＧＧ）へのＮＩ－２０５．４１Ｄ１抗体及び１２８９２－１－ＡＰ抗体の結合を示す図である。（Ｃ）アミノ酸残基３１６～３５３、３１６～３４３及び３１６～３３３を含むＴＤＰ－４３断片へのＮＩ－２０５．４１Ｄ１抗体の結合を示す図である。
【図７－２】（Ａ）完全長ＴＤＰ－４３及びアミノ酸残基２５８～４１４、２５８～３８４、２５８～３７５、２５８～３６２、２５８～３５３、２５８～３１９、３１７～４１４及び３４０～４１４含むＴＤＰ－４３の断片に対するＮＩ－２０５．４１Ｄ１抗体の結合を示す図である。（Ｂ）完全長ＴＤＰ－４３、アミノ酸残基２５８～４１４を含むＴＤＰ－４３断片及びアミノ酸残基２５８～４１４、残基３２１におけるＡからＧへの置換、残基３２２におけるＭからＧへの置換及び残基３２３におけるＭからＧへの置換を含む変異体ＴＤＰ－４３ポリペプチド断片（ＴＤＰ－４３、２５８－４１４、ＡＭＭ３２１ＧＧＧ）へのＮＩ－２０５．４１Ｄ１抗体及び１２８９２－１－ＡＰ抗体の結合を示す図である。（Ｃ）アミノ酸残基３１６～３５３、３１６～３４３及び３１６～３３３を含むＴＤＰ－４３断片へのＮＩ－２０５．４１Ｄ１抗体の結合を示す図である。
【図８－１】穏やかなカオトロピック条件を用いたＴＤＰ－４３のモノマー形態の精製を示す図である。（Ａ）カオトロープＫＳＣＮの存在下又は非存在下での精製したＴＤＰ－４３形態のクマシー染色したＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルである。レーン１～４はそれぞれ、分子量標準、６×Ｈｉｓ－ＴＤＰ－４３（１－４１４）、６×Ｈｉｓ－ＳＵＭＯ－ＴＤＰ－４３（１－４１４）、６×Ｈｉｓ－ＳＵＭＯ－ＴＤＰ－４３（２２０－４１４）であり、すべて１．５ＭのＫＳＣＮの存在下で精製した。レーン５及び６はＫＣｌ（レーン５）又はＫＳＣＮ（レーン６）の存在下で精製された６×Ｈｉｓ－ＳＵＭＯ－ＴＤＰ－４３（１０１－２６５）である。（Ｂ）ＲＮＡ結合ドメイン（ＲＲＭ１及びＲＲＭ２）及びタグ（６Ｈｉｓ及びＳＵＭＯ）の位置を説明する精製タンパク質のドメイン配置を示す図である。（Ｃ）精製した６Ｈｉｓ－ＳＵＭＯ及び６Ｈｉｓでタグを付けた完全長のＴＤＰ－４３についての分析用超遠心沈降定数の分布を示す図である。沈降定数及び算出された分子量をピーク上に示す。
【図８－２】穏やかなカオトロピック条件を用いたＴＤＰ－４３のモノマー形態の精製を示す図である。（Ａ）カオトロープＫＳＣＮの存在下又は非存在下での精製したＴＤＰ－

４３形態のクマシー染色したＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルである。レーン１～４はそれぞれ、分子量標準、６×Ｈｉｓ－ＴＤＰ－４３（１－４１４）、６×Ｈｉｓ－ＳＵＭＯ－ＴＤＰ－４３（１－４１４）、６×Ｈｉｓ－ＳＵＭＯ－ＴＤＰ－４３（２２０－４１４）であり、すべて１．５ＭのＫＳＣＮの存在下で精製した。レーン５及び６はＫＣｌ（レーン５）又はＫＳＣＮ（レーン６）の存在下で精製された６×Ｈｉｓ－ＳＵＭＯ－ＴＤＰ－４３（１０１－２６５）である。（Ｂ）ＲＮＡ結合ドメイン（ＲＲＭ１及びＲＲＭ２）及びタグ（６Ｈｉｓ及びＳＵＭＯ）の位置を説明する精製タンパク質のドメイン配置を示す図である。（Ｃ）精製した６Ｈｉｓ－ＳＵＭＯ及び６Ｈｉｓでタグを付けた完全長のＴＤＰ－４３についての分析用超遠心沈降定数の分布を示す図である。沈降定数及び算出された分子量をピーク上に示す。

【図９Ａ】（Ａ）４０ｍＭのＨＥＰＥＳ、０．５ＭのＫＣｌ、０．４Ｍのアルギニン、ｐＨ７．４を含有する緩衝液における特異的（$(UG)_6$）又は対照（$(UU)_6$）のＲＮＡへの完全長のＴＤＰ－４３の結合を示す図である。（Ｂ）、（Ｃ）及び（Ｄ）Ｋｄ（Ｂ）、非カオトロピック条件（Ｃ）又は穏やかなカオトロピック条件（Ｄ）にて精製された定比性を決定するための２０ｍＭのＨＥＰＥＳ、８０ｍＭのグルタミン酸カリウム、４ｍＭの酢酸マグネシウム、５％のグリセロール、ｐＨ７．５、２ｍＭのＤＴＴを含有する生理的緩衝液の存在下でのＴＤＰ－４３（１０１～２６５）によるＲＮＡの結合を示す図である。

【図９Ｂ】（Ａ）４０ｍＭのＨＥＰＥＳ、０．５ＭのＫＣｌ、０．４Ｍのアルギニン、ｐＨ７．４を含有する緩衝液における特異的（$(UG)_6$）又は対照（$(UU)_6$）のＲＮＡへの完全長のＴＤＰ－４３の結合を示す図である。（Ｂ）、（Ｃ）及び（Ｄ）Ｋｄ（Ｂ）、非カオトロピック条件（Ｃ）又は穏やかなカオトロピック条件（Ｄ）にて精製された定比性を決定するための２０ｍＭのＨＥＰＥＳ、８０ｍＭのグルタミン酸カリウム、４ｍＭの酢酸マグネシウム、５％のグリセロール、ｐＨ７．５、２ｍＭのＤＴＴを含有する生理的緩衝液の存在下でのＴＤＰ－４３（１０１～２６５）によるＲＮＡの結合を示す図である。

【図９Ｃ】（Ａ）４０ｍＭのＨＥＰＥＳ、０．５ＭのＫＣｌ、０．４Ｍのアルギニン、ｐＨ７．４を含有する緩衝液における特異的（$(UG)_6$）又は対照（$(UU)_6$）のＲＮＡへの完全長のＴＤＰ－４３の結合を示す図である。（Ｂ）、（Ｃ）及び（Ｄ）Ｋｄ（Ｂ）、非カオトロピック条件（Ｃ）又は穏やかなカオトロピック条件（Ｄ）にて精製された定比性を決定するための２０ｍＭのＨＥＰＥＳ、８０ｍＭのグルタミン酸カリウム、４ｍＭの酢酸マグネシウム、５％のグリセロール、ｐＨ７．５、２ｍＭのＤＴＴを含有する生理的緩衝液の存在下でのＴＤＰ－４３（１０１～２６５）によるＲＮＡの結合を示す図である。

【図９Ｄ】（Ａ）４０ｍＭのＨＥＰＥＳ、０．５ＭのＫＣｌ、０．４Ｍのアルギニン、ｐＨ７．４を含有する緩衝液における特異的（$(UG)_6$）又は対照（$(UU)_6$）のＲＮＡへの完全長のＴＤＰ－４３の結合を示す図である。（Ｂ）、（Ｃ）及び（Ｄ）Ｋｄ（Ｂ）、非カオトロピック条件（Ｃ）又は穏やかなカオトロピック条件（Ｄ）にて精製された定比性を決定するための２０ｍＭのＨＥＰＥＳ、８０ｍＭのグルタミン酸カリウム、４ｍＭの酢酸マグネシウム、５％のグリセロール、ｐＨ７．５、２ｍＭのＤＴＴを含有する生理的緩衝液の存在下でのＴＤＰ－４３（１０１～２６５）によるＲＮＡの結合を示す図である。

【図１０】捕捉ＥＬＩＳＡアッセイにおける（Ａ）折り畳まれた完全長のＴＤＰ－４３及び（Ｂ）残基２２０～４１４を含むＴＤＰ－４３断片へのヒトＮＩ－２０５．４１Ｄ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２及びＮＩ－２０５．３Ｆ１０抗体の結合についての滴定曲線を示す図である。

【図１１－１】抗体（Ａ－Ｃ）２Ｅ２－Ｄ３、（Ｄ－Ｆ）対照抗体ｐ４０３／ｐ４０４、（Ｇ－Ｉ）対照抗体ｐ４０９／ｐ４１０、（Ｊ）ＮＩ－２０５．１０Ｄ３、（Ｋ）ＮＩ－２０５．８Ｃ１０、（Ｌ）ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、（Ｍ）ＮＩ－２０５．８Ａ２、（Ｎ）ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、（Ｏ）ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、（Ｐ）ＮＩ－２０５．８

Ｆ８、（Ｑ）ＮＩ－２０５．３１Ｃ１１、（Ｒ）ＮＩ－２０５．３６Ｄ５、（Ｓ）ＮＩ－２０５．３１Ｄ２、（Ｔ）ＮＩ－２０５．１０Ｈ７、（Ｕ）ＮＩ－２０５．１４Ｈ５、（Ｖ）ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、（Ｗ）ＮＩ－２０５．１４Ｗ３、（Ｘ）ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、及び（Ｙ）ＮＩ－２０５．４１Ｄ１によるヒトＦＴＬＤ－Ｕの海馬組織の免疫組織化学染色を示す図である。（Ｚ）ＮＩ－２０５．４１Ｄ１による対照の海馬組織の免疫組織化学染色を示す図である。

【図１１－２】抗体（Ａ－Ｃ）２Ｅ２－Ｄ３、（Ｄ－Ｆ）対照抗体ｐ４０３／ｐ４０４、（Ｇ－Ｉ）対照抗体ｐ４０９／ｐ４１０、（Ｊ）ＮＩ－２０５．１０Ｄ３、（Ｋ）ＮＩ－２０５．８Ｃ１０、（Ｌ）ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、（Ｍ）ＮＩ－２０５．８Ａ２、（Ｎ）ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、（Ｏ）ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、（Ｐ）ＮＩ－２０５．８Ｆ８、（Ｑ）ＮＩ－２０５．３１Ｃ１１、（Ｒ）ＮＩ－２０５．３６Ｄ５、（Ｓ）ＮＩ－２０５．３１Ｄ２、（Ｔ）ＮＩ－２０５．１０Ｈ７、（Ｕ）ＮＩ－２０５．１４Ｈ５、（Ｖ）ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、（Ｗ）ＮＩ－２０５．１４Ｗ３、（Ｘ）ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、及び（Ｙ）ＮＩ－２０５．４１Ｄ１によるヒトＦＴＬＤ－Ｕの海馬組織の免疫組織化学染色を示す図である。（Ｚ）ＮＩ－２０５．４１Ｄ１による対照の海馬組織の免疫組織化学染色を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【００１６】

Ｉ．定義

本明細書で使用されるとき、「神経変性疾患」という表現は、脳、脊髄又は他の神経組織における異常なタンパク質の蓄積、細胞での局在又は異常なタンパク質の折り畳みの存在を指し、ニューロンの死又は機能的損傷が原因となって生じる。神経変性疾患のいくつかの症例では、遺伝的に定義された異常性が疾患の発生に寄与する。神経変性疾患には、たとえば、脳変性疾患（たとえば、アルツハイマー病、パーキンソン病、進行性核上麻痺及びハンチントン病）、及び脊髄変性疾患／運動ニューロン変性疾患、たとえば、筋委縮性側索硬化症及び脊髄性筋委縮症が挙げられる。たとえば、Ｆｏｒｍａｎら、Ｎａｔ．Ｍｅｄ．１０（２００４），１０５５－６３を参照のこと。

【００１７】

「ＴＤＰ－４３タンパク質症」は、４３ｋＤａのＴＡＲ（トランス活性化反応性）ＤＮＡ結合タンパク質に関連する疾病の不均質な群として知られる神経系疾患、特に神経変性疾患を指す。ＴＤＰ－４３タンパク質症は、ＴＤＰ－４３が、ユビキチン陽性の封入体を伴い（ＦＴＬＤ－Ｕ）、運動ニューロンの疾患を伴う又は伴わない前頭側頭葉変性を、筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、嗜銀性顆粒痴呆、アルツハイマー病、筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、グアムのＡＬＳ／パーキンソン型認知症複合、大脳皮質基底核変性症、レビー小体認知症、ハンチントン病、レビー小体病、運動ニューロン病、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、前頭側頭認知症、ユビキチン陽性の封入体を伴った前頭側頭葉変性症、海馬硬化症、封入体ミオパシー、封入体筋炎、パーキンソン病、パーキンソン病認知症、Ｋｉｉ半島におけるパーキンソン／認知症複合、ピック病、マシャド・ジョセフ病等と機構的に関係付ける疾患タンパク質であるという事実を特徴とする。その全体が参照によって本明細書に組み入れられる、たとえば、Ｌａｇｉｅｒ－Ｔｏｕｒｅｎｎｅら、Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎ．１９（２０１０），Ｒ４６－６４を参照のこと。

【００１８】

正常な生理的条件下では、ＴＤＰ－４３は主として核に局在する。しかしながら、異常な細胞質のＴＤＰ－４３封入体を持つニューロンでは核のＴＤＰ－４３のかなりの喪失が認められる。ＴＤＰ－４３は疾患特異的な生化学的特徴：病理学的に変化したＴＤＰ－４３を示す。ＴＤＰ－４３タンパク質症は、病的なＴＤＰ－４３が脳のアミロイド沈着の特徴を欠くニューロン及びグリアの封入体を形成するので、タンパク質の誤った折り畳みが脳のアミロイドーシスをもたらす他の神経変性疾患とははっきり異なる。その全体が参照によって本明細書に組み入れられる、たとえば、Ｎｅｕｍａｎｎら、Ａｒｃｈ.Ｎｅｕｒｏｌ．６４（２００７），１３８８－１３９４を参照のこと。

【００１９】
本明細書で使用されるとき、「病的なＴＤＰ－４３」という用語は、細胞外の、細胞質の、神経の及び核の封入体を指し、「ＴＤＰ－４３封入体」とも呼ばれ、タンパク質が線維様の凝集塊を形成する。具体的には、病的なＴＤＰ－４３は、過剰にリン酸化され、ユビキチン化され、及びＮ末端が切り詰められ、それによって、およそ４５ｋＤａでの高い分子量、ならびにおよそ２５ｋＤａのＣ末端断片と共に移動するＴＤＰ－４３の異常種を生成することが発見されている。それぞれ、その全体が参照によって本明細書に組み入れられる、たとえば、Ｎｅｕｍａｎｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３１４（２００６），１３０－１３３及びＡｒａｉら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．３５１（２００６），６０２－６１１を参照のこと。さらに、ＴＤＰ－４３は、沈着されたＴＤＰ－４３のカルボキシル末端領域にて複数のリン酸化部位を示すことが発見されており、リン酸化がＴＤＰ－４３の高いオリゴマー化及び線維形成を招くことが示唆されている。たとえば、Ｈａｓｅｇａｗａら、Ａｎｎａｌｓ ｏｆ Ｎｅｕｒｏｌｏｇｙ、６４（２００８），６０－７０を参照にこと。

【００２０】
ＴＤＰ－４３封入体の形成は、封入体を持つ細胞における正常な拡散した核のＴＤＰ－４３を完全に欠如したＴＤＰ－４３の細胞内分布の変化が伴う。冒された皮質灰白質、ならびに脊髄におけるこの病的特徴の存在及び程度は、ＴＤＰ－４３陽性封入体の密度と大まかに一致する。たとえば、Ｎｅｕｍａｎｎら、Ｊ．Ｎｅｕｒｏｐａｔｈ．Ｅｘｐ．Ｎｅｕｒｏｌ．６６（２００７），１７７－１８３を参照のこと。ＦＴＬＤ－Ｕにおけるユビキチン化封入体（ＵＢＩ）の組成は様々なＦＴＬＤ－Ｕ症例の間での、ＵＢＩの少量の不均一な分布及びそれらの非アミロイド生成性を特徴とする。従って、ＴＤＰ－４３は、ニューロン細胞質の封入体（ＮＣＩ）、変性神経突起、及びニューロン細胞内の封入体（ＮＩＩ）を含むＦＴＬＤ－Ｕにおける特徴的なユビキチン免疫反応性病変を検出するための特異的な且つ感受性のマーカーである。

【００２１】
本明細書で使用されるとき、「ＴＡＲＤＢＰ」、「４３ｋＤａのトランス活性化反応性ＤＮＡ結合タンパク質」、「４３ｋＤａのトランス活性反応性ＤＮＡ結合タンパク質」、「４３ｋＤａのＴＡＲ－ＤＮＡ結合タンパク質」、「ＴＤＰ－４３」という用語はＴＤＰ－４３の天然の形態を指すのに、相互交換可能に使用される。「ＴＤＰ－４３」はまた、全体的にＴＤＰ－４３の全ての種類及び形態を指すのにも使用される。「ＴＤＰ－４３」はまた、たとえば、ＴＤＰ－４３のリン酸化された形態及びＴＤＰ－４３のユビキチン関連の凝集体又はＴＤＰ－４３の凝集体を含むＴＤＰ－４３の他の配座異性体を一般に特定するのにも使用される。

【００２２】
ヒトＴＤＰ－４３のアミノ酸配列は当該技術で既知である。その全体が参照によって本明細書に組み入れられる、たとえば、Ｓｔｒａｕｓｂｅｒｇら、ＴＡＲＤＢＰ ｐｒｏｔｅｉｎ（Ｈｏｍｏ ｓａｐｉｅｎｓ）ＧｅｎＢａｎｋ Ｐｕｂｍｅｄ：ＡＡＨ７１６５７ ｖｅｒｓｉｏｎ ＧＩ：４７９３９５２０を参照のこと。一実施形態によれば、天然のヒトＴＤＰ－４３のアミノ酸配列は

ＭＳＥＹＩＲＶＴＥＤＥＮＤＥＰＩＥＩＰＳＥＤＤＧＴＶＬＬＳＴＶＴＡＱＦＰＧＡＣＧ
ＬＲＹＲＮＰＶＳＱＣＭＲＧＶＲＬＶＥＧＩＬＨＡＰＤＡＧＷＧＮＬＶＹＶＶＮＹＰＫＤ
ＮＫＲＫＭＤＥＴＤＡＳＳＡＶＫＶＫＲＡＶＱＫＴＳＤＬＩＶＬＧＬＰＷＫＴＴＥＱＤＬ
ＫＥＹＦＳＴＦＧＥＶＬＭＶＱＶＫＫＤＬＫＴＧＨＳＫＧＦＧＦＶＲＦＴＥＹＥＴＱＶＫ
ＶＭＳＱＲＨＭＩＤＧＲＷＣＤＣＫＬＰＮＳＫＱＳＱＤＥＰＬＲＳＲＫＶＦＶＧＲＣＴＥ
ＤＭＴＥＤＥＬＲＥＦＦＳＱＹＧＤＶＭＤＶＦＩＰＫＰＦＲＡＦＡＦＶＴＦＡＤＤＱＩＡ
ＱＳＬＣＧＥＤＬＩＩＫＧＩＳＶＨＩＳＮＡＥＰＫＨＮＳＮＲＱＬＥＲＳＧＲＦＧＧＮＰ
ＧＧＦＧＮＱＧＧＦＧＮＳＲＧＧＧＡＧＬＧＮＮＱＧＳＮＭＧＧＧＭＮＦＧＡＦＳＩＮＰ
ＡＭＭＡＡＡＱＡＡＬＱＳＳＷＧＭＭＧＭＬＡＳＱＱＮＱＳＧＰＳＧＮＮＱＮＱＧＮＭＱ
ＲＥＰＮＱＡＦＧＳＧＮＮＳＹＳＧＳＮＳＧＡＡＩＧＷＧＳＡＳＮＡＧＳＧＳＧＦＮＧＧ

ＦＧＳＳＭＤＳＫＳＳＧＷＧＭ（配列番号９４）である。

【００２３】

本明細書で使用されるとき、「抗体」（単数）又は「抗体」（複数）という用語は、完全に無傷の抗体、及びＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ）２、及び他の抗体断片を指すことを意図する。完全に無傷の抗体には、たとえば、マウスモノクローナル抗体のようなモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト抗体及びヒト化抗体が挙げられるが、これらに限定されない。抗体の種々の形態を、標準の組換えＤＮＡ法を用いて作出することができる（Winter and Milstein, Nature 349 (1991), 293-99）。たとえば、動物抗体に由来する抗原結合ドメインがヒトの定常ドメインに接続される「キメラ」抗体を構築することができる（組換えＤＮＡ技術を用いて重鎖のヒンジ領域及び定常領域及び／又は軽鎖の定常領域のすべて又は一部をヒト免疫グロブリン軽鎖又は重鎖の相当する領域で置き換えられている元々非ヒト哺乳類に由来する抗体）（たとえば、米国特許第４，８１６，５６７号; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 81 (1984), 6851-6855を参照）。キメラ抗体は、ヒトの臨床治療で使用される場合、動物抗体によって誘発される免疫原性の応答を軽減する。

【００２４】

加えて、組換え「ヒト化」抗体を合成することができる。ヒト化抗体は、組換えＤＮＡ技術を用いて抗原結合に必要とされないアミノ酸の一部又はすべてをヒト免疫グロブリン軽鎖又は重鎖の相当する領域のアミノ酸で置換している元々非ヒト哺乳類に由来する抗体である。すなわち、それらは、その中に特異的な抗原結合に関与する領域が挿入されているほとんどがヒト免疫グロブリンの配列を含むキメラである（たとえば、国際特許出願公開番号ＷＯ９４／０４６７９を参照）。所望の抗原で動物を免疫し、対応する抗体を単離し、特異的な抗原結合に関与する可変領域の配列の部分を取り出す。次いで、抗原結合領域を欠失させたヒト抗体遺伝子の適当な部分に動物由来の抗原結合領域をクローニングする。ヒト化抗体はヒト治療法での使用のために抗体における非相同（種間）配列の使用を出来るだけ減らし、望ましくない免疫応答を誘発しにくい。霊長類化抗体を同様に作出することができる。

【００２５】

本発明の追加の実施形態はヒト抗体と同様にこれらヒト抗体の使用に関する。一実施形態では、ヒト抗体はヒトのＢ細胞又は他の免疫細胞に由来し、一般に本明細書では「完全ヒト抗体」と呼ばれる。従って、本発明は、以下に定義されるような別個且つ固有の特徴を有する抗体を産生する、不死化されたヒトＢ記憶リンパ球及びＢ細胞を包含する。或いは、ヒト抗体は、１以上のヒト免疫グロブリン導入遺伝子を抱くトランスジェニック動物のような非ヒト動物にて産生させることができる。そのような動物は米国特許第５，５６９，８２５号に記載されているようにハイブリドーマを作製するための脾細胞の供給源として使用することができる。

【００２６】

本発明の抗体の抗原結合断片は、単鎖Ｆｖ断片、Ｆ（ａｂ’）断片、Ｆ（ａｂ）断片及びＦ（ａｂ’）$_2$断片であることができる。追加の実施形態では、抗原結合断片は、１以上の抗体可変ドメイン又は断片又はその変異体、たとえば、１以上のＣＤＲ又は１以上のＣＤＳの誘導体によってＴＤＰ－４３を認識するＴＤＰ－４３結合断片である。特定の実施形態では、以下に、抗体又はその断片はヒトＩｇＧアイソタイプ抗体である。或いは、抗体はキメラヒト／マウス抗体又はマウス化抗体であり、後者は動物における診断法及び研究に特に有用である。

【００２７】

抗体断片、一価抗体及び単一ドメイン抗体を本発明の方法及び組成物にて使用することもできる。一価抗体は、第２の重鎖のＦｃ（又は幹）領域に結合する重鎖／軽鎖の二量体を含む。「Ｆａｂ領域」は、全体として重鎖及び軽鎖のＹ分岐部分を含み、まとめて（凝集して）抗体活性を呈することが示されている配列に大まかに同等である又は類似する鎖の部分を指す。Ｆａｂタンパク質には、会合が特定の抗原又は抗原ファミリーと特異的に

反応することが可能である限り、共有会合であろうと非共有会合であろうと、重鎖１本と軽鎖１本の会合体（一般にＦａｂ’として知られる）、ならびに抗体Ｙの２つの分岐断片に対応する四量体（一般にＦ（ａｂ）２として知られる）が含まれる。

【００２８】

本発明のＴＤＰ－４３抗体はＴＤＰ－４３、ＴＤＰ－４３のエピトープ、及びＴＤＰ－４３の種々の立体構造及びそのエピトープと特異的に結合する。たとえば、天然のＴＤＰ－４３、完全長及び切り詰められたＴＤＰ－４３、及び病的なＴＤＰ－４３と特異的に結合する抗体が、本明細書で開示される。本明細書で使用されるとき、「特異的に結合する」、「選択的に結合する」又は「優先的に結合する」又は一層さらに一般的には「ＴＤＰ－４３と結合する」又は「ＴＤＰ－４３結合性の」抗体への参照は、他の異なるタンパク質よりも優先的にＴＤＰ－４３と結合する抗体を指す。本明細書で使用されるとき、ＴＤＰ－４３配座異性体と「特異的に結合する」又は「選択的に結合する」抗体は少なくとも１つの他のＴＤＰ－４３配座異性体に結合しない。たとえば、完全長ＴＤＰ－４３と選択的に結合する抗体、ならびに核ＴＤＰ－４３よりも細胞質ＴＤＰ－４３と選択的に結合する抗体が本明細書で開示される。

【００２９】

「ａ」又は「ａｎ」を伴う実体という用語は１以上のその実体を指すことが留意されるべきであり、たとえば「抗体」（ａｎ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）は１以上の抗体を表すように理解される。したがって、「ａ」（「ａｎ」）、「1以上」及び「少なくとも１」という用語は本明細書では相互交換可能に使用することができる。

【００３０】

本明細書で使用されるとき、「ポリペプチド」という用語は「ポリペプチド」という用語と相互交換可能に使用され、単一のポリペプチド／タンパク質、ならびに複数のポリペプチド／タンパク質を包含し、２以上のアミノ酸の鎖（単数）又は鎖（複数）を指し、生成物の特定の長さを指さない。従って、ペプチド、ジペプチド、トリペプチド、オリゴペプチド、「タンパク質」、「アミノ酸鎖」又は２以上のアミノ酸の鎖（単数）又は鎖（複数）を指すように使用される他の用語は、「ポリペプチド」の定義の範囲内に含まれ、「ポリペプチド」という用語はこれらの用語のいずれかの代わりに又はそれらと相互交換可能に使用される。

【００３１】

本明細書で使用されるとき、「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語はまた、既知の保護基／保護基、タンパク分解切断、又は天然に存在しないアミノ酸若しくは他の化学部分による修飾によるグリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、誘導体化を含むが、これらに限定されないポリペプチドの伸長後修飾の生成物も指す。ポリペプチドは天然の生物資源に由来することができ、組換え技術によって作出することができるが、必ずしも特定の核酸配列から翻訳される必要はない。本発明のポリペプチドは化学合成を含む任意の方法にて生成することができる。

【００３２】

本発明のポリペプチドは約３以上、５以上、１０以上、２０以上、２５以上、５０以上、７５以上、１００以上、２００以上、５００以上、１，０００以上、又は２，０００以上のアミノ酸のサイズである。ポリペプチドは、定義された三次構造を有することができるが、それらは必ずしもそのような構造を有するわけではない。定義された三次構造を持つポリペプチドは、本明細書では折り畳まれたと呼ぶことができ、定義された三次構造を持たず、むしろ多数のことなる立体構造に適応することができるポリペプチドは本明細書では折り畳まれないと呼ばれ得る。本明細書で使用されるとき、糖タンパク質という用語は、アミノ酸残基、たとえば、セリン残基又はアスパラギン残基の酸素含有又は窒素含有の側鎖を介してタンパク質に連結される少なくとも１つの炭水化物部分に結合するポリペプチドを指す。

【００３３】

本明細書で使用されるとき、「単離された」ポリペプチド又はその断片、変異体若しく

は誘導体は、その天然環境にはないポリペプチドを指す。特定のレベルの精製は必要とされない。たとえば、単離されたポリペプチドはその未処理の又は天然の環境から取り出すことができる。宿主細胞にて発現された組換えで産生されたポリペプチド及びタンパク質は本発明の目的では単離されたと見なすことができ、好適な技法によって分離され、分画され、又は部分的に若しくは実質的に精製されている天然の又は組換えのポリペプチドも同様である。

【００３４】

前述のポリペプチドの断片又は変異体、及びその組み合わせでもまた、本発明のポリペプチドとして含まれる。「断片」、「変異体」、「誘導体」及び「類似体」という用語には、本発明の抗体又はＴＤＰ－４３結合ポリペプチドを指す場合、対応する参照抗体又はＴＤＰ－４３結合分子の抗原結合特性の少なくとも一部を保持するポリペプチドが含まれる。抗原結合抗体の断片のようなＴＤＰ－４３結合ポリペプチドの断片には、本明細書で開示される追加の抗体断片に加えてタンパク分解断片、ならびに欠失断片が含まれる。抗体（抗原結合抗体の断片を含む）及びアミノ酸の置換、欠失又は挿入による変化したアミノ酸配列を持つポリペプチドのようなＴＤＰ－４３結合分子の変異体。変異体は天然に又は非天然に生じることができる。当該技術で既知の変異誘発法を用いて天然に存在しない変異体を作出することができる。変異体ポリペプチドは保存的な又は保存的ではないアミノ酸の置換、欠失又は付加を含むことができる。ＴＤＰ－４３に特異的な結合分子の誘導体、たとえば、抗体及び他のＴＤＰ－４３に特異的な結合分子は、参照ポリペプチドに見られない変化した又は追加の特徴を示すように変化させられているポリペプチドである。ＴＤＰ－４３に特異的な結合分子の誘導体の例には融合タンパク質が挙げられる。変異体ポリペプチドは「ポリペプチド類似体」とも呼ぶことができる。本明細書で使用されるとき、ＴＤＰ－４３に特異的な結合分子の「誘導体」又はその断片は側鎖官能基の反応によって化学的に誘導体化された１以上の残基を有する主題のポリペプチドを指す。「誘導体」として挙げられるのはまた、２０の標準アミノ酸の１以上の天然に存在するアミノ酸誘導体を含有するそれらペプチドである。たとえば、いくつかの実施形態によれば、４－ヒドロキシプロリンをプロリンに替えて置き替えることができ、３－メチルヒスチジンをヒスチジンに替えて置き替えることができ、ホモセリンをセリンに替えて置き替えることができ、オルニチンをリジンに替えて置き替えることができる。

【００３５】

本明細書で使用されるとき、「ポリヌクレオチド」又は「核酸」という用語は単一の核酸ならびに複数の核酸を包含し、単離された核酸分子又は構築物、たとえば、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）又はプラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）を含む。ポリヌクレオチドは、従来のホスホジエステル結合又は従来ではない結合（たとえば、ペプチド核酸（ＰＮＡ）で見られるようなアミド結合）を含むことができる。

【００３６】

「ポリ核酸」という用語はポリヌクレオチドに存在する１以上の核酸断片、たとえば、ＤＮＡ又はＲＮＡの断片も指すことができる。「単離された」核酸又はポリヌクレオチドによって天然の環境から取り出されている核酸分子、ＤＮＡ又はＲＮＡが意図される。たとえば、ベクターに含有される抗体の重鎖又は軽鎖の可変ドメインをコードする組換えポリヌクレオチドは本発明の目的では単離されたと見なされる。単離されたポリヌクレオチドのさらなる例には、非相同性の宿主細胞にて維持される組換えポリヌクレオチド又は溶液中の（部分的に又は実質的に）精製されたポリヌクレオチドが挙げられる。単離されたＲＮＡ分子には、本発明の生体内の又は試験管内のＲＮＡ転写物が挙げられる。本発明に係る単離されたポリヌクレオチド又は核酸はさらに、合成で作出されたそのような分子をさらに含む。加えてポリヌクレオチド又は核酸は、本発明のＴＤＰ－４３特異的な結合ポリペプチドをコードする配列と操作可能に会合された、たとえば、プロモータ、リボソーム結合部位又は転写ターミネータのような調節要素であることができ、又はそれを含むことができる。

【００３７】

本明細書で使用されるとき、「コーディング領域」は、アミノ酸に翻訳されるコドンから成る核酸の部分である。「停止コドン」（ＴＡＧ、ＴＧＡ、又はＴＡＡ）はアミノ酸に翻訳されないが、それはコーディング領域の一部と見なされるが、隣接する配列、たとえば、プロモータ、リボソーム結合部位、転写ターミネータ、イントロン等はコーディング領域の一部ではない。本発明の２以上のコーディング領域が、単一ポリヌクレオチド構築物、たとえば、単一のベクターに存在することができ、又は別々のポリヌクレオチド構築物、たとえば、別々の（異なる）ベクターに存在することができる。さらに、ベクターは単一のコーディング領域を含有することができ、又は２以上のコーディング領域を含むことができ、たとえば、単一のベクターが免疫グロブリン重鎖可変領域と免疫グロブリン軽鎖可変領域を別々にコードすることができる。加えて、本発明の核酸を含むベクターは、抗体又はその断片、変異体若しくは誘導体を含むＴＤＰ－４３結合ポリペプチドをコードする核酸に融合された又は融合されない１以上の非相同コーディング領域を任意でコードすることができる。非相同のコーディング領域には、限定しないで、分泌シグナルペプチド又は非相同の機能的ドメインのような特殊化された要素又はモチーフが挙げられる。

【００３８】

特定の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド又は核酸はＤＮＡである。ポリペプチドをコードする核酸を含むポリヌクレオチドは任意で、１以上のコーディング領域に操作可能に結合させたプロモータ及び／又は他の転写若しくは翻訳の制御要素を含む。たとえばポリペプチドのような遺伝子産物のためのコーディング領域が、調節配列の影響又は制御のもとで遺伝子産物を発現させるような方法で１以上の調節配列に結合される場合、操作可能な結合が存在する。２つのＤＮＡ断片（たとえば、ポリペプチドコーディング領域とそれに結合したプロモータ）は、プロモータ機能の誘導が所望の遺伝子産物をコードするｍＲＮＡの転写を生じるのであれば、及び当該２つのＤＮＡ断片の間の結合が発現調節配列の遺伝子産物の発現を指向する能力を妨害しない又はＤＮＡ鋳型の転写される能力を妨げないのであれば、「操作可能に結合され」又は「操作可能に連結される」。従って、プロモータ領域は、ポリペプチドをコードする核酸と、プロモータがその核酸の転写を達成することが可能であるならば、操作可能に結合することができる。プロモータは、所定の細胞でのみＤＮＡの実質的な転写を指示する細胞特異的なプロモータであり得る。プロモータは構成的であることもでき、又は調節可能であることもできる。本発明の核酸に任意で操作可能に連結される他の転写制御要素には、たとえば、エンハンサ、オペレータ、リプレッサ及び転写終結シグナルが挙げられ、細胞特異的な転写を指示するようにポリヌクレオチドに操作可能に結合することができる。好適なプロモータ及び他の転写制御領域の例は、本明細書で開示されており、さもなければ、当該技術で既知である。

【００３９】

本発明のポリヌクレオチドの発現を制御するのに使用することができる種々の転写制御領域が当該技術で既知である。これらには、限定しないで、サイトメガロウイルスのプロモータ及びエンハンサの断片（イントロンＡと併せた最初期プロモータ）、サルウイルス４０（早期プロモータ）及びレトロウイルス（たとえば、ラウス肉腫ウイルス）を含むが、これらに限定されない脊椎動物で機能する転写制御領域が挙げられる。他の転写制御領域には、たとえば、アクチン、熱ショックタンパク質、ウシ成長ホルモン及びウサギβ－グロビンのような脊椎動物遺伝子に由来するもの、並びに真核細胞にて遺伝子の発現を制御することが可能である他の配列が挙げられるが、これらに限定されない。追加の好適な転写制御領域には、組織特異的なプロモータ及びエンハンサ、並びにリンホカイン誘導性のプロモータ（たとえば、インターフェロン又はインターロイキンによって誘導可能なプロモータ）が挙げられる。

【００４０】

同様に、種々の好適な翻訳制御要素は当業者に既知である。これらには、リボソーム結合部位、翻訳開始コドン及び停止コドン、及びピコルナウイルスに由来する要素（特に内部リボソーム侵入部位、又はＣＩＴＥ配列とも呼ばれるＩＲＥＳ）が挙げられるが、これらに限定されない。

【００４１】
他の実施形態では、本発明のポリヌクレオチド又は核酸はＲＮＡ、たとえば、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）の形態である。
【００４２】
本発明のポリヌクレオチド及び核酸のコーディング配列は、本発明のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの分泌を指示する、たとえば、分泌ペプチド又はシグナルペプチドをコードする追加の非相同のコーディング配列に結合することができる。シグナル仮説によれば、哺乳類細胞によって分泌されるタンパク質は、成長しているタンパク質鎖の粗面小胞体を横切る排出輸送がいったん開始されると成熟タンパク質から切断されるシグナルペプチド又は分泌リーダー配列を有する。当業者は、脊椎動物細胞から分泌されるポリペプチドは、ポリペプチドのＮ末端に融合されたシグナルペプチドを一般に有し、それが「完全長」のポリペプチドから切断されてポリペプチドの分泌された形態又は「成熟」形態を生じることを知っている。ある特定の実施形態では、天然のシグナルペプチド、たとえば、免疫グロブリン重鎖又は軽鎖のシグナルペプチドが使用され、又は操作可能に結合されるポリペプチドの分泌を指示する能力を保持しているその配列の機能的な誘導体が使用される。或いは、非相同性の哺乳類のシグナルペプチド又はその機能的誘導体を使用することができる。たとえば、天然のシグナルペプチド配列は、ヒト組織プラスミノーゲン活性化因子（ＴＰＡ）、マウスβ－グロビン、又は好まれる宿主細胞の分泌されたタンパク質に由来するシグナル配列によって置換することができる。
【００４３】
特に述べない限り、「疾病」及び「疾患」という用語は本明細書では相互交換可能に使用される。
【００４４】
「結合分子」は本明細書で使用されるとき主として、抗体（ＴＲＰ－４３結合抗体の断片又は誘導体を含む）に関するが、ホルモン、受容体、リガンド、主要組織適合複合体（ＭＨＣ）分子、熱ショックタンパク質（ＨＳＰ）のようなシャペロン、カドヘリン、インテグリン、Ｃ型レクチン及び免疫グロブリン（Ｉｇ）スーパーファミリーのメンバーのような細胞／細胞接着分子を含むが、これらに限定されないＴＤＰ－４３を特異的に認識する他のタンパク質及びポリペプチドを指すこともできる。ＴＤＰ－４３を特異的に認識するこれらポリペプチドの断片、変異体及び誘導体も本発明によって包含される。明瞭さのみのために且つ本発明の範囲を制限することなく、以下の実施形態のほとんどは、ＴＤＰ－４３を特異的に認識する本発明の分子及び組成物の一実施形態を表す抗体（抗体の断片及び誘導体を含む）に関して論じられる。
【００４５】
「抗体」及び「免疫グロブリン」という用語は本明細書では相互交換可能に使用される。抗体又は免疫グロブリンは、少なくとも重鎖の可変ドメインを含む、普通、少なくとも重鎖及び軽鎖の可変ドメインを含むＴＤＰ－４３結合分子である。脊椎動物系の基本的な免疫グロブリンの構造はよく理解されている；たとえば、Ｈａｒｌｏｗら、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，第２版、１９８８）を参照のこと。以下でさらに詳細に論じるように、「免疫グロブリン」という用語は、生化学的に識別することができる種々の広いクラスのポリペプチドを含む。当該技術で一般に理解されているように、重鎖は、ガンマ、ミュー、アルファ、デルタ又はイプシロン（γ、μ、α、δ、ε）として、および、それらの間での幾つかのサブクラス（たとえば、γ１～γ４）で分類される。それは、抗体の「クラス」をそれぞれＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＧ又はＩｇＥとして決定するこの鎖の性質である。免疫グロブリンのサブクラス（アイソタイプ）、たとえば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１等はよく性状分析されており、本発明の抗体に組み入れられ、又は修飾されてこれらの抗体の機能又は他の特性を改変することができる機能的な特殊化を付与することが知られている。本発明の抗体のクラス及びアイソタイプの改変型は開示を考慮して当業者に容易に認識され、本発明の範囲

内である。さらに、免疫グロブリンのクラスが本発明の範囲に包含されるが、簡潔さ及び例示の目的で、以下の考察は一般に免疫グロブリン分子のＩｇＧクラスに向けられる。ＩｇＧに関して、標準の免疫グロブリン分子は、およそ２３，０００ダルトンの分子量の２つの同一の軽鎖ポリペプチドと５３，０００～７０，０００ダルトンの分子量の２つの重鎖ポリペプチドを含む。４つの鎖は通常、「Ｙ」構造にてジスルフィド結合によって連結され、その際、軽鎖は、「Ｙ」の入口で始まって可変領域に連続する重鎖を囲む。

【００４６】

軽鎖ポリペプチドはカッパ又はラムダ（κ、λ）のいずれかに分類される。各重鎖ポリペプチドのクラスはカッパ又はラムダの軽鎖に結合することができる。一般に、軽鎖と重鎖のポリペプチドは互いに共有結合し、２つの重鎖ポリペプチドの「尾」の部分は、互いに共有ジスルフィド結合によって、又は免疫グロブリンがハイブリドーマ、Ｂ細胞又は遺伝子操作された宿主細胞のいずれかによって生成される場合、非共有結合によって結合される。重鎖ポリペプチドでは、アミノ酸配列は、Ｙ構造の分岐した端のＮ末端から各重鎖ポリペプチドの底でのＣ末端に伸びる。

【００４７】

軽鎖ポリペプチド及び重鎖ポリペプチドは双方とも、構造的な且つ機能的な相同性の領域を含有する。「定常」及び「可変」という用語は機能に関して使用される。この点で、軽鎖（V_L）領域及び重鎖（V_H）領域双方の可変ドメインは抗原の認識と特異性を決定することが十分に理解されるであろう。逆に、軽鎖（ＣＬ）及び重鎖（ＣＨ１、ＣＨ２又はＣＨ３）の定常ドメインは、たとえば、分泌、経胎盤移行性、Ｆｃ受容体結合、補体結合等のような重要な生物学的特性を付与する。慣例により、抗体の抗原結合部位又はアミノ末端から離れるにつれて、定常ドメインの番号付けは大きくなる。重鎖及び軽鎖のポリペプチドのＮ末端は可変領域であり、Ｃ末端部分が定常領域であり；ＣＨ３及びＣＬのドメインは実際、それぞれ、重鎖及び軽鎖のＣ末端を含む。

【００４８】

上記で示したように、可変領域は抗体が抗原上のエピトープを選択的に認識し、特異的に結合するのを可能にする。すなわち、抗体のV_Lドメイン、V_Hドメイン、又は相補性決定領域（ＣＤＲ）のサブセットが組み合わさって、三次元の抗原結合部位を定義する可変領域を形成する。この４元の抗体構造が、抗体のＹ構造の各腕の末端にて存在する抗原結合部位を形成する。完全な抗体の抗原結合部位はV_H鎖及びV_L鎖それぞれの３つのＣＤＲによって規定される。ＴＤＰ－４３に特異的に結合できるようにする十分な免疫グロブリン構造を含有するいかなる抗体（抗体の断片、誘導体及び変異体を含む）も、本明細書では相互交換可能に「結合断片」又は「免疫特異的断片」と呼ばれ、一般にＴＤＰ－４３を特異的に認識する抗体と呼ぶことができる。

【００４９】

天然に存在する抗体では、抗体は、各抗原結合部位に存在する、「相補性決定領域」又は「ＣＤＲ」と呼ばれることが多い６つの超可変領域を含む。ＣＤＲは、抗原が水性環境にてその三次元構造を取るとき、抗原結合部位を形成する短い、非連続のアミノ酸の配列である。ＣＤＲには、ＣＤＲよりも内部分子配列の多様性が少ない、４つの相対的に保存された「フレームワーク」領域又は「ＦＲ」が隣接する。フレームワーク領域は、主にβシート構造を取り、ＣＤＲはβシート構造を接続するループを形成し、場合によってはβシート構造の一部を形成する。従って、フレームワーク領域は、鎖内非共有相互作用によって正しい配向でのＣＤＲの位置決めを提供する足場を形成するように作用する。共同して位置決めされた重鎖及び軽鎖のＣＤＲによって形成された抗原結合ドメインは、免疫反応性抗原のエピトープに相補性の表面を規定する。この相補性の表面が、同族エピトープへの抗体の非共有結合を促進する。それぞれＣＤＲ及びフレームワーク領域を含むアミノ酸は、当該技術で既知の方法を用いて所与の重鎖及び軽鎖の可変領域について容易に特定し、定義することができる。その全体が参照によって本明細書に組み入れられる”Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，”Ｋａｂａｔ，Ｅ．ら、Ｕ．Ｓ． Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔ

ｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，（１９８３）；並びにＣｈｏｔｈｉａ及びＬｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９６（１９８７），９０１－９１７を参照のこと。

【００５０】

当該技術で使用され、受け入れられている用語の定義が２以上ある場合、本明細書で使用されるような用語の定義が、明瞭に逆に述べられない限り、そのような意味すべてを含むように意図される。具体例は、重鎖ポリペプチド及び軽鎖ポリペプチド双方の可変領域内に見い出される非連続の抗原結合部位を記載するための「相補性決定領域」（「ＣＤＲ」）という用語の使用である。この特定の領域は、その全体が参照によって本明細書に組み入れられる、Ｋａｂａｔら、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，”Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ”（１９８３）並びにＣｈｏｔｈｉａ及びＬｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９６（１９８７），９０１－９１７によって記載されており、定義には互いに対して比較した場合のアミノ酸残基の重なり合い又はサブセットが含まれる。それにもかかわらず、抗体のＣＤＲ又はその変異体を指すいずれの定義の適用も、本明細書で使用されるとき、用語ＣＤＲの範囲内であることが意図される。上記で引用された文献のそれぞれにて定義されたようなＣＤＲを包含する適当なアミノ酸残基を図１にて示す。特定のＣＤＲを包含する正確な残基番号は、ＣＤＲの配列及びサイズに応じて変化する。抗体の可変領域配列を提供された当業者はどの残基がヒトＩｇＧ抗体の特定の超可変領域又はＣＤＲを構成するのかを日常的に決定することができる。

【００５１】

【表１】

表１．ＣＤＲの定義[1]

	Kabat	Chothia
VH CDR1	31-35	26-32
VH CDR2	50-65	52-58
VH CDR3	95-102	95-102
VL CDR1	24-34	26-32
VL CDR2	50-56	50-52
VL CDR3	89-97	91-96

[1]表２におけるＣＤＲ定義すべての番号付けはＫａｂａｔら（以下参照）によって述べられた番号付けの慣例に従う。

【００５２】

Ｋａｂａｔらはまた、任意の抗体に適用できる可変ドメイン配列についての番号付け方式を定義した。当業者は、配列自体を超える実験データを頼ることなく、「Ｋａｂａｔの番号付け」のこの方式を明瞭に可変ドメインの配列に割り当てることができる。本明細書で使用されるとき、「Ｋａｂａｔの番号付け」は、Ｋａｂａｔら、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，”Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ”（１９８３）によって示された番号付け方式を指す。特定されない限り、本発明の抗体又は抗原結合断片、変異体若しくは誘導体における特定のアミノ酸残基の位置の番号付けへの参照は、Ｋａｂａｔ番号付け方式に従うが、それは理論的なものであり、本発明のあらゆる抗体に同等に適用され得るわけではない。たとえば、第１のＣＤＲ（すなわち、ＣＤＲ１）の

位置に応じて、以後のＣＤＲはいずれかの方向に移動し得る。

【００５３】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体はモノクローナル抗体である。追加の実施形態では、本発明の抗体はポリクローナル抗体ではない。いくつかの実施形態によれば、本発明の抗体は二価又は多重特異性の抗体である。他の実施形態では、本発明の抗体はポリクローナル抗体である。さらなる実施形態では、本発明の組成物はモノクローナル抗体を含有する。追加の実施形態では、本発明の本発明の組成物はポリクローナル抗体を含有しない。

【００５４】

追加の実施形態では、抗体は、ヒト（たとえば、完全なヒト及び／又は完璧なヒト抗体）抗体、ヒト化抗体、霊長類化抗体、マウス化抗体又はキメラ抗体である。さらなる実施形態では、本発明の抗体は、単鎖抗体、エピトープ結合断片、たとえば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’及びＦ（ａｂ’）$_2$、Ｆｄ、Ｆｖ単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、単鎖抗体、ジスルフィド結合Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、V_L又はV_Hドメインいずれかを含む断片、Ｆａｂ発現ライブラリによって産生される断片、又は抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体（たとえば、図１で提供される可変ドメインを含有する抗体及び本明細書で開示される他の抗体に対する抗Ｉｄ抗体を含む）である。ＳｃＦｖ分子は当該技術で既知であり、たとえば、米国特許第５，８９２，０１９号に記載されている。本発明の抗体は、任意の型（たとえば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＹ）、クラス（たとえば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１及びＩｇＡ２）又は免疫グロブリン分子のサブクラスであり得る。

【００５５】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体はＩｇＧ１である。他の実施形態では、本発明の抗体はＩｇＧ３である。さらなる実施形態では、本発明の抗体は、５価構造を含有するＩｇＭ又はその誘導体ではない。さらに詳しくは、本発明の特定の適用、特に治療用途に関連するものでは、ＩｇＭはその５価構造及び親和性成熟の欠如の結果として非特異的な交差反応性及び非常に低い親和性を示すことが多いので、ＩｇＭはＩｇＧ及び他の２価の抗体又は相当する結合分子よりもあまり望ましくない。

【００５６】

特定の実施形態では、本発明の抗体はポリクローナル抗体ではなく、すなわち、それは血漿免疫グロブリン試料から得た混合物であることではなく、１つの特定の抗体種から実質的に成る。

【００５７】

一実施形態によれば、本発明の抗体はヒトのＴＤＰ－４３を特異的に認識し、ヒトから単離される「完全に」ヒトのモノクローナル抗体である。ファージディスプレイライブラリ又は異種マウスを用いて特定される単鎖抗体断片（ｓｃＦｖ）に由来するもののような他のヒトのモノクローナル抗体と比べて、本発明の完全にヒトのモノクローナル抗体は、（ｉ）動物代理ではなくヒトの免疫応答を用いて得られること、すなわち、ヒト生体におけるその適切な構造での天然の内因性ＴＤＰ－４３に対する応答にて抗体が生成されること、（ｉｉ）その個人を保護していること又はＴＤＰ－４３の存在について少なくとも意義があること、及び（ｉｉｉ）抗体がヒト起源であるという事実によって自己抗原に対する自己反応性のリスクを低減していることを特徴とする。

【００５８】

従って、「完全ヒト抗体」又は「ヒトモノクローナル自己抗体」という用語が「ヒト抗体」、「ヒトモノクローナル抗体」等の用語を包含するが、これらの用語は、ヒト起源である、すなわち、Ｂ細胞又はそのハイブリドーマのようなヒト抗体産生細胞又はヒト記憶Ｂ細胞のようなヒト抗体産生細胞から直接クローニングされた又はそれに由来するＤＮＡのような核酸を含有する細胞に由来するＴＤＰ－４３結合分子を示すのに本明細書で使用される。抗体が完全ヒト抗体の１以上のアミノ酸の置換又は他の変化を含有して、たとえば、結合特性を改善する場合、抗体は本開示の目的では「完全ヒト抗体」と見なされる。

任意で、本発明の完全ヒト抗体又は他の抗体のフレームワーク領域は、改変され、又は改変されていて、たとえば、ＭＲＣ Ｃｅｎｔｒｅ ｆｏｒ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（英国、ケンブリッジ）によって主催されたＶｂａｓｅ（ｈｔｔｐ：／／ｖｂａｓｅ．ｍｒｃ－ｃｐｅ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／）にて利用可能な配列のようなヒトの生殖細胞系列の可変領域配列の一部に一致する。そのような改変は、とりわけ、たとえば、ＰＣＲプライマーから生じ得るもののようなクローニング人為結果から生じる生殖細胞系列の配列の逸脱を減らす又は排除するのに有用であることができる。

【００５９】

ヒトの免疫グロブリンライブラリ又は１以上のヒトについてのトランスジェニック動物に由来する抗体は一般に本明細書ではヒト抗体又は「ヒト様抗体」と呼ばれる。そのような免疫グロブリンは以下で記載するように内因性のヒト免疫グロブリンに対応しない。たとえば、米国特許第５，９３９，５９８号を参照のこと。たとえば、通常、ファージディスプレイから単離される合成抗体及び半合成抗体のようなヒト様抗体の重鎖及び軽鎖の対合は、元々のヒトＢ細胞で存在するような元々の対合を必ずしも反映するものではない。従って、組換え発現ライブラリから得られるＦａｂ及びｓｃＦｖ断片は人工的であると見なすことができ、その人工的な組成の結果として免疫原性及び安定性の効果を提示し得る。それに反して、本発明の完全ヒト抗体は、選択されたヒト対象から単離された親和性成熟した抗体であり、抗体は人における寛容を特徴としている。

【００６０】

本明細書で使用されるとき、「マウス化抗体」又は「マウス化免疫グロブリン」は、本発明のヒト抗体又は他の抗体の１以上のＣＤＲ；と、たとえば、マウス抗体に基づくアミノ酸の置換及び／又は欠失及び／又は挿入を含有するヒトのフレームワークを含む抗体を指す。この場合、ＣＤＲを提供するヒト又は他の免疫グロブリンは「親」又は「受容体」と呼ばれ、フレームワークの変化を提供するマウス抗体は「供与体」と呼ばれる。定常領域は存在する必要はないが、存在するのであれば、それらは普通、マウス抗体の定常領域と実質的に同一であり、すなわち、少なくとも約８５～９０％又は少なくとも約９５％、約９７％、約９８％又は約９９％以上マウスの定常領域の対応する配列と同一である。従って、いくつかの実施形態では、完全なマウス化されたヒト重鎖又は軽鎖免疫グロブリンは、マウス定常領域、１以上のヒトＣＤＲ及び多数の「マウス化」アミノ酸置換を有する実質的にヒトのフレームワークを含有する。通常、「マウス化された抗体」は、マウス化された軽鎖及び／又はマウス化された重鎖を含む抗体である。たとえば、キメラ抗体の可変領域全体は非マウスであるのでマウス化された抗体は典型的なキメラ抗体を含まない。「マウス化」の過程によって「マウス化」されている改変された抗体は、ＣＤＲを提供する親抗体と同様の抗原に結合し、普通、親抗体と比べてマウスにて免疫原性が低い。

【００６１】

本明細書で使用されるとき、「重鎖部分」という用語には、免疫グロブリンの重鎖に由来するアミノ酸配列が含まれる。重鎖部分を含むポリペプチドは、ＣＨ１ドメイン、ヒンジ（たとえば、上部、中部及び／又は下部のヒンジ領域）ドメイン、ＣＨ２ドメイン、ＣＨ３ドメイン又はその変異体若しくは断片の少なくとも１つを含む。たとえば、本発明の結合ポリペプチドは、可変領域又は可変領域の部分（たとえば、１以上のＣＤＲ、たとえば、V_HＣＤＲ３）を単独で、又はＣＨ１ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部、及びＣＨ２ドメインを含むポリペプチド鎖との組み合わせで含むポリペプチド；ＣＨ１ドメイン及びＣＨ３ドメインを含むポリペプチド鎖；ＣＨ１ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部、及びＣＨ３ドメインを含むポリペプチド鎖、又はＣＨ１ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部、ＣＨ２ドメイン、及びＣＨ３ドメインを含むポリペプチド鎖を含むことができる。別の実施形態では、本発明のポリペプチドは、可変領域又は可変領域の部分（たとえば、１以上のＣＤＲｓ、たとえば、V_HＣＤＲ３）とＣＨ３ドメイン含むポリペプチド鎖とを含む。さらなる実施形態では、本発明のポリペプチドは、ＣＨ２ドメインの少なくとも一部を欠く（たとえば、ＣＨ２ドメインのすべて又は一部）。本明細書で述べられるように、及び当業者によって十分に理解されるように、上記の重鎖ポリペ

プチドドメイン（たとえば、重鎖部分）は、それらが天然に存在する免疫グロブリン分子とはアミノ酸配列で異なるように修飾することができる。従って、本発明は本発明の重鎖部分の断片、変異体及び誘導体を含むポリペプチドを包含する。

【００６２】

いくつかの実施形態によれば、抗体のポリペプチド鎖の１本の重鎖部分（抗原結合性の断片、変異体又は誘導体を含む）は、抗体の第２のポリペプチド鎖のそれらと同一である。代わりの実施形態では、抗体のポリペプチド鎖の１本の重鎖部分（抗原結合性の断片、変異体又は誘導体を含む）は、抗体の第２のポリペプチド鎖のそれらとは異なる。従って、本発明の抗体の各モノマー成分は異なる標的結合部位を含むことができ、たとえば、二重特異性の抗体又は二特異性抗体を形成することができる。

【００６３】

単鎖抗体を含む本発明の抗体断片は、可変領域又は可変領域の一部（たとえば、１以上のＣＤＲ、たとえば、V_HＣＤＲ３又はV_LＣＤＲ３）を単独で、又は以下：ヒンジ領域、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインの全体又は一部と組み合わせて含むことができる。本発明によって包含されるのはまた、可変領域とヒンジ領域、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３ドメインの任意の組み合わせを含むＴＤＰ－４３結合断片である。本発明の抗体（その免疫特異的な断片を含む）は鳥類及び哺乳類を含む任意の動物起源に由来することができる。一実施形態では、抗体は、ヒト、マウス、ロバ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ラマ、ウマ又はニワトリの抗体である。別の実施形態では、可変領域は、（例えばサメからの）コンドリクトイド（ｃｏｎｄｒｉｃｔｈｏｉｄ）起源であり得る。

【００６４】

別の実施形態では、本明細書で開示される抗体は、ｓｃＦｖのような単鎖ポリペプチドで構成され、考えられる生体内での治療及び診断の応用のために細胞内（生体内）で発現されるものである。

【００６５】

本明細書で開示される診断法及び治療法で使用するための結合ポリペプチドの重鎖部分又は軽鎖部分は異なる免疫グロブリン分子に由来することができる。たとえば、ポリペプチド重鎖部分はＩｇＧ１分子に由来するＣＨ１ドメインとＩｇＧ３分子に由来するヒンジ領域を含むことができる。別の例では、重鎖部分は部分的にはＩｇＧ１分子に由来し、部分的にはＩｇＧ３分子に由来するヒンジ領域を含むことができる。別の例では、重鎖部分は部分的にはＩｇＧ１分子に由来し、部分的にはＩｇＧ４分子に由来するキメラヒンジを含むことができる。

【００６６】

本明細書で使用されるとき、「軽鎖部分」という用語には、免疫グロブリン軽鎖に由来するアミノ酸配列が含まれる。一実施形態では、軽鎖部分は少なくとも１つのV_L又はＣＬドメインを含む。本明細書で使用されるとき、「軽鎖部分」には免疫グロブリン軽鎖に由来するアミノ酸配列が含まれる。軽鎖部分を含むポリペプチドは、少なくとも軽鎖可変領域又は可変領域の一部（たとえば、１以上のＣＤＲ、たとえば、V_LＣＤＲ３）を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖部分にはＣＨ１ドメインが含まれる。別の実施形態では、軽鎖部分はV_L又はＣＬドメインの少なくとも一方を含む。これらの軽鎖部分の断片、変異体及び誘導体を含むポリペプチドも本発明によって包含される。

【００６７】

抗体のためのペプチド又はポリペプチドのエピトープの最小サイズは約４～５のアミノ酸であると考えられる。ペプチド又はポリペプチドのエピトープは、少なくとも７、少なくとも９又は少なくとも約１５～約３０の間のアミノ酸を含有することができる。ＣＤＲは抗原性のペプチド又はポリペプチドを三次元形態で認識することができるので、エピトープを構成するアミノ酸は連続する必要はなく、場合によっては、同一ペプチド鎖になくてもよい。一実施形態によれば、本発明の抗体によって認識されるペプチド又はポリペプチドのエピトープは、ＴＤＰ－４３の少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１５、少なくとも

２０、少なくとも２５の連続する又は連続しないアミノ酸の配列を含有する。追加の実施形態では、本発明の抗体によって認識されるペプチド又はポリペプチドのエピトープは、ＴＤＰ－４３の約５～約３０の間、約１０～約３０の間又は約１５～約３０の間の連続する又は連続しないアミノ酸を含有する。

【００６８】

「特異的に結合すること」及び「特異的に認識すること」という用語は、本明細書では相互交換可能に使用され、無作為で無関係なエピトープ又は抗原に結合するよりもさらに容易にエピトープ又は抗原に結合する結合分子（たとえば、抗体のようなポリペプチド）を一般に指す。当該技術で理解されるように、抗体は、非連続性エピトープの線形部分に対応するアミノ酸残基を含む又はそれから成る単離されたポリペプチドに特異的に結合し、又はそれを特異的に認識する。「特異性」という用語は特定のエピトープ又は抗原に特定の抗体が結合する相対的な親和性を特性づけるのに本明細書で使用される。たとえば、抗体「Ａ」は所与のエピトープに対して抗体「Ｂ」よりも高い特異性を有すると考えることができ、又は抗体「Ａ」は、関連するエピトープ「Ｄ」について有するよりも高い特異性でエピトープ「Ｃ」に結合すると言うことができる。たとえば、抗体「Ａ」は所与のエピトープに対して抗体「Ｂ」よりも高い特異性を有すると考えることができ、又は抗体「Ａ」は、関連するエピトープ「Ｄ」について有するよりも高い特異性でエピトープ「Ｃ」に結合すると言うことができる。同様に、抗体「Ａ」は所与の抗原に対して抗体「Ｂ」よりも高い特異性を有すると考えることができ、又は抗体「Ａ」は、関連する抗原「Ｄ」について有するよりも高い特異性で抗原「Ｃ」に結合すると言うことができる。

【００６９】

存在する場合、抗体の抗原との、「免疫的な結合特性」という用語又は他の結合特性は、その文法的形態のすべてにおいて、抗体の特異性、親和性、交差反応性、又は他の結合特性を指す。

【００７０】

「優先的に結合すること」は、結合分子、たとえば、抗体が、関連する、類似の、相同の、又は類似のエピトープ又は抗原に結合するよりもさらに容易にエピトープ又は抗原に特異的に結合することを意味する。従って、所与のエピトープ又は抗原に「優先的に結合する」抗体は、そのエピトープ又は抗原に、関連するエピトープ又は抗原よりも（そのような抗体はその関連するエピトープ又は抗原に交差反応することができるが）結合する可能性が高い。

【００７１】

非限定例の目的で、結合分子、たとえば、抗体は、第２のエピトープ又は抗原に対する抗体の解離定数（K_D）よりも低いK_Dで第１のエピトープ又は抗原に結合するのであれば、前記第１のエピトープ又は抗原に優先的に結合すると見なすことができる。別の非限定例では、抗体は、第２のエピトープ又は抗原に対する抗体のK_Dよりも少なくとも一桁小さい親和性で第１のエピトープ又は抗原と結合するのであれば、第１の抗原に優先的と結合すると見なすことができる。別の非限定例では、抗体は、第２のエピトープ又は抗原に対する抗体のK_Dよりも少なくとも二桁小さい親和性で第１のエピトープ又は抗原と結合するのであれば、第１のエピトープ又は抗原を優先的に結合すると見なすことができる。

【００７２】

別の非限定例では、結合分子、たとえば、抗体は、第２のエピトープ又は抗原に対する抗体のオフ速度（ｋ（ｏｆｆ））よりも小さい（ｋ（ｏｆｆ））で第１のエピトープ又は抗原と結合するのであれば、第１のエピトープ又は抗原を優先的に結合すると見なすことができる。別の非限定例では、抗体は、第２のエピトープ又は抗原に対する（ｋ（ｏｆｆ））よりも少なくとも一桁小さい親和性で第１のエピトープと結合するのであれば、第１の抗原に優先的と結合すると見なすことができる。別の非限定例では、抗体は、第２のエピトープ又は抗原に対する（ｋ（ｏｆｆ））よりも少なくとも二桁小さい親和性で第１のエピトープ又は抗原と結合するのであれば、第１のエピトープ又は抗原を優先的に結合す

ると見なすことができる。

【００７３】

一実施形態によれば、ＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、抗体の抗原結合性の断片又は変異体又はその誘導体を含む抗体）は、５×１０$^{-2}$秒$^{-1}$、１０$^{-2}$秒$^{-1}$、５×１０$^{-3}$秒$^{-1}$又は１０$^{-3}$秒$^{-1}$以下のオフ速度（ｋ（ｏｆｆ））でＴＤＰ－４３又はその断片若しくは変異体と結合する。別の実施形態では、ＴＤＰ－４３結合分子は、５×１０$^{-4}$秒$^{-1}$、１０$^{-4}$秒$^{-1}$、５×１０$^{-5}$秒$^{-1}$、又は１０$^{-5}$秒$^{-1}$、５×１０$^{-6}$秒$^{-1}$、１０$^{-6}$秒$^{-1}$、５×１０$^{-7}$秒$^{-1}$又は１０$^{-7}$秒$^{-1}$以下のオフ速度（ｋ（ｏｆｆ））でＴＤＰ－４３又はその断片若しくは変異体と結合する。

【００７４】

別の実施形態によれば、ＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、抗体の抗原結合性の断片又は変異体又はその誘導体を含む抗体）は、１０^{3}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、５×１０^{3}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、１０^{4}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$又は５×１０^{4}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上のｏｎ速度（ｋ（ｏｎ））でＴＤＰ－４３又はその断片若しくは変異体に結合する。別の実施形態では、本発明のＴＤＰ－４３結合分子は、１０^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、１０^{6}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、又は５×１０^{6}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$又は１０^{7}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上のｏｎ速度（ｋ（ｏｎ））でＴＤＰ－４３又はその断片若しくは変異体に結合する。

【００７５】

本発明はまた、ＴＤＰ－４３との結合について本発明の１以上のＴＤＰ－４３結合分子と競合するＴＤＰ－４３結合分子も包含する。本発明の目的で、ＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、抗体）は、それが、参照抗体のエピトープ又は抗原への結合をある程度阻害する程度に所与のエピトープ又は抗原に優先的に結合するのであれば、参照ＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、抗体）のそのエピトープ又は抗原への結合を競合的に阻害すると言われる。競合阻害は、当該技術で既知の方法、たとえば、競合ＥＬＩＳＡアッセイによって測定することができる。一実施形態によれば、ＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、抗体）は所与のエピトープ又は抗原への参照ＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、抗体）の結合を少なくとも９０％、少なくとも８０％、少なくとも７０％、少なくとも６０％又は少なくとも５０％競合的に阻害する。

【００７６】

本明細書で使用されるとき、「親和性」という用語は、個々のエピトープ又は抗原のＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、その断片、変異体又は誘導体を含む抗体）への結合の強さの尺度を指す。たとえば、Ｈａｒｌｏｗら、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，第２版（１９８８）、２７～２８ページを参照のこと。本明細書で使用されるとき、「結合活性」という用語は、免疫グロブリンの集団と抗原の間での複合体の全体的な安定性、すなわち、免疫グロブリン混合物の抗原との機能的な結合強度を指す。たとえば、Ｈａｒｌｏｗの２９－３４ページを参照のこと。結合活性は、特異的なエピトープ又は抗原との集団における個々の免疫グロブリン分子の親和性と免疫グロブリン及び抗原の価数の双方に関連する。たとえば、二価のモノクローナル抗体と、ポリマーのような高度に反復するエピトープ構造を持つ抗原との間での相互作用は高い結合活性の１つであろう。抗原に対する抗体の親和性又は結合活性は、好適な方法；たとえば、Ｂｅｒｚｏｆｓｋｙら、”Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ａｎｔｉｇｅｎ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ”Ｉｎ Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｐａｕｌ，Ｗ．Ｅ．編、Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ.Ｙ.（１９８４），Ｋｕｂｙ，Ｊａｎｉｓ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ.Ｙ.（１９９２）を参照、及び本明細書で記載される方法用いて実験的に決定することができる。抗原に対する抗体の親和性を測定する一般的な技法には、ＥＬＩＳＡ、ＲＩＡ及び表面プラスモン共鳴が挙げられる。特定の抗体／抗原相互作用の測定された親和性は異なる条件下、たとえば、塩濃度、ｐＨで測定されれば、変化し得る。従って、親和性及び他の抗原結合パラメータ、たとえば、K_D、IC_{50}の測定は好ましくは、抗体及び抗

原の標準化された溶液及び標準化された緩衝液で行う。

【００７７】

本発明のＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、抗体の抗原結合性の断片又は変異体又はその誘導体を含む抗体）は、その交差反応性の点でも記載され、特定される。本明細書で使用されるとき、「交差反応性」という用語は、１つの抗原に特異的なＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、抗体）の第２の異なる抗原と反応する能力を指し；多くの場合２つの異なる抗原性物質の間での同系性の程度を反映する尺度である。

【００７８】

たとえば、ある特定の抗体は、それらが、参照のエピトープ又は抗原に対して少なくとも９５％、少なくとも９０％、少なくとも８５％、少なくとも８０％、少なくとも７５％、少なくとも７０％、少なくとも６５％、少なくとも６０％、少なくとも５５％、及び少なくとも５０％の同一性（本明細書で記載される方法又はさもなければ当該技術で既知の方法を用いて算出されるとして）を持つ関連するが、同一ではないエピトープ又は抗原、たとえば、エピトープと結合するという点で、ある程度の交差反応性を有する。抗体は、それがエピトープ又は抗原の他の類似体、オルソログ又はホモログと結合しないのであれば、特定のエピトープに対して「高度に特異的」であると考えられる。一実施形態によれば、ＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、抗体の抗原結合性の断片及びその変異体又は誘導体を含む抗体）は、参照のエピトープ又は抗原に対して９５％未満、９０％未満、８５％未満、８０％未満、７５％未満、７０％未満、６５％未満、６０％未満、５５％未満、及び５０％未満の同一性（本明細書で記載される方法又はさもなければ当該技術で既知の方法を用いて算出されるとして）を持つエピトープと生理的な条件下で結合しない。

【００７９】

本発明のたとえば、抗体（抗体の抗原結合性の断片及びその変異体又は誘導体を含む）のようなＴＤＰ－４３結合分子は、ＴＤＰ－４３への結合親和性という点でも記載することができる。一実施形態によれば、ＴＤＰ－４３結合分子（たとえば、その抗原結合性の断片、変異体又は誘導体を含む抗体）の結合親和性は、5×10^{-2}Ｍ、10^{-2}Ｍ、5×10^{-3}Ｍ、10^{-3}Ｍ、5×10^{-4}Ｍ、10^{-4}Ｍ、5×10^{-5}Ｍ、10^{-5}Ｍ、5×10^{-6}Ｍ、10^{-6}Ｍ、5×10^{-7}Ｍ、10^{-7}Ｍ、5×10^{-8}Ｍ、10^{-8}Ｍ、5×10^{-9}Ｍ、10^{-9}Ｍ、5×10^{-10}Ｍ、10^{-10}Ｍ、5×10^{-11}Ｍ、10^{-11}Ｍ、5×10^{-12}Ｍ、10^{-12}Ｍ、5×10^{-13}Ｍ、10^{-13}Ｍ、5×10^{-14}Ｍ、10^{-14}Ｍ、5×10^{-15}Ｍ、又は10^{-15}Ｍ未満の解離定数又はＫｄを有するものを含む。

【００８０】

種々の免疫グロブリンクラスの定常領域のサブユニット構造及び三次元構造は周知である。本明細書で使用されるとき、「V_Hドメイン」という用語には、免疫グロブリン重鎖のアミノ末端可変ドメインが含まれ、「ＣＨ１ドメイン」という用語には、免疫グロブリン重鎖の第１（最もアミノ末端）の定常領域が含まれる。ＣＨ１ドメインはV_Hドメインに隣接し、免疫グロブリン重鎖分子のヒンジ領域に対してアミノ末端である。

【００８１】

本明細書で使用されるとき、「ＣＨ２ドメイン」という用語には、たとえば、従来の番号付けスキームを用いて抗体のほぼ残基２４４～残基３６０（残基２４４～３６０、Ｋａｂａｔ番号付け方式；及び残基２３１～３４０、ＥＵ番号付け方式、Ｋａｂａｔ　ＥＡら、ｏｐ．ｃｉｔを参照）に伸びる重鎖分子の部分が含まれる。ＣＨ２ドメインは別のドメインと密接に対合しないという点で独特である。むしろ、２つのＮ－結合分岐糖鎖が、無傷の天然のＩｇＧ分子の２つのＣＨ２ドメインの間に割り込む。ＣＨ３ドメインが、ＣＨ２ドメインからＩｇＧ分子のＣ末端に伸び、約１０８の残基を含むこともよく記録されている。

【００８２】

本明細書で使用されるとき、「ヒンジ領域」という用語には、ＣＨ１ドメインをＣＨ２ドメインに接続する重鎖分子の部分が含まれる。このヒンジ領域は約２５の残基を含み、

柔軟性なので、２つのＮ末端抗原結合領域が独立して移動するのを可能にする。ヒンジ領域は、３つの異なるドメイン、すなわち上部、中部及び下部のドメインにさらに分割することができる；Ｒｏｕｘら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６１（１９９８），４０８３を参照のこと。

【００８３】

本明細書で使用されるとき、「ジスルフィド結合」という用語には、２つのイオウ原子の間で形成される共有結合が含まれる。アミノ酸システインは、第２のチオール基とのジスルフィド結合又は架橋を形成することができるチオール基を含む。ほとんどの天然に存在するＩｇＧ分子では、ＣＨ１とＣＬ領域はジスルフィド結合によって連結され、２つの重鎖は、Ｋａｂａｔ番号付け方式を用いた２３９及び２４２（ＥＵ番号付け方式では２２６位又は２２９位）に対応する位置で２つのジスルフィド結合によって連結される。

【００８４】

本明細書で使用されるとき、「連結される」、「融合される」又は「融合」という用語は相互交換可能に使用される。これらの用語は、化学的抱合及び組換え手段を含む任意の手段を用いて２以上の要素又は成分を一緒に連結することを指す。「インフレーム融合」は、元々のオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）の正確な翻訳リーディングフレームを維持する方法で２以上のポリヌクレオチドのＯＲＦを連結して連続するさらに長いＯＲＦを形成することを指す。従って、組換え融合タンパク質は、元々のＯＲＦ（断片が正常では実際にはそのように連結されない）によってコードされるポリペプチドに相当する２以上の断片を含有する単一のタンパク質である。こうしてリーディングフレームが融合した断片全体にわたって連続にされるが、たとえば、インフレームのリンカー配列によって断片を物理的に又は空間的に分離することができる。たとえば、免疫グロブリン可変領域のＣＤＲをコードするポリヌクレオチドをインフレームで融合することができるが、「融合された」ＣＤＲが連続するポリペプチドの一部として同時翻訳される限り、少なくとも１つの免疫グロブリンのフレームワーク領域又は追加のＣＤＲ領域をコードするポリヌクレオチドによって分離することができる。

【００８５】

「発現」という用語は本明細書で使用されるとき、遺伝子が生体化学物質、たとえば、ＲＮＡ又はポリペプチドを産出する過程を指す。過程には、限定しないで、遺伝子のノックダウン、ならびに遺伝子の一過性の発現及び安定な発現の双方を含む、いかなる細胞内での遺伝子の機能的存在の発現も含まれる。それには、限定しないで、遺伝子のメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、転移ＲＮＡ（ｔＲＮＡ）、小分子ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、小分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）又は他のＲＮＡ産物への転写、及びそのようなｍＲＮＡのポリペプチドへの翻訳が含まれる。最終的な所望の産物が生体化学物質であれば、発現にはその生体化学物質及び任意の前駆物質の創生が含まれる。遺伝子の発現は「遺伝子産物」を作出する。本明細書で使用されるとき、遺伝子産物は、核酸、たとえば、遺伝子の転写によって作出されるメッセンジャーＲＮＡ、又は転写物から翻訳されるポリペプチドのいずれかであり得る。本明細書で記載される遺伝子産物にはさらに、転写後修飾、たとえば、ポリアデニル化を伴う核酸、又は翻訳後修飾、たとえば、メチル化、グリコシル化、脂質の付加、他のタンパク質サブユニットとの会合、タンパク分解切断等を伴うポリペプチドが含まれる。

【００８６】

本明細書で使用されるとき、「試料」という用語は対象又は患者から得られる生体物質を指す。一実施形態では、試料は、血液、脳脊髄液（「ＣＳＦ」）又は尿を含む。別の実施形態では、試料は、全血、血漿、血液試料から濃縮されたＢ細胞、又は培養された細胞（たとえば、対象からのＢ細胞）を含む。別の実施形態では、本発明の試料は、神経組織を含む生検試料又は組織試料を含む。さらなる実施形態では、本発明の試料は、全細胞又は細胞の溶解物を含む。血液試料及びＣＳＦ試料を含む本発明の試料は当該技術で既知の方法を用いて採取することができる。

【００８７】

本明細書で使用されるとき、「治療する」又は「治療」という用語は、治療上の処置及び予防的な又は保護的な対策を指し、その際、目的は認知症の発症のような望ましくない生理的変化又は疾病を防ぐこと又は遅らせる（減らす）ことである。有益な又は望ましい臨床的な結果には、検出可能であろうとなかろうと、症状の緩和、疾患の程度の低下、疾患の安定化した（すなわち、悪化しない）状態、疾患の進行の遅延又は遅れ、疾患の状態の改善又は緩和、及び寛解（部分的であれ、全体的であれ）が挙げられるが、これらに限定されない。「治療」はまた、治療を受けない場合に予想される生存に比べて延長する生存も意味することができる。治療の必要なものには、状態又は疾病をすでに持つものと同様に状態又は疾病を有する傾向にあるもの又は状態又は疾病の兆候が予防されるべきであるものが含まれる。

【００８８】

「対象」又は「個体」又は「動物」又は「患者」又は「哺乳類」は、診断、予後診断、予防又は治療が望まれる対象、特に哺乳類対象、たとえば、ヒト患者を意味する。

【００８９】

ＩＩ．抗体

ＴＤＰ－４３と選択的に結合する抗体が本発明によって包含される。本明細書で使用されるとき、抗体（単数）又は抗体（複数）という用語は、完全抗体、ならびにこれら完全抗体のＴＤＰ－４３結合性の抗体の断片及び変異体及び誘導体又はＴＤＰ－４３と結合する抗体断片を包含する。一実施形態では、本発明の抗体は、実施例及び本明細書のどこかで開示される抗体の構造特性（たとえば、配列）、免疫結合特性（たとえば、IC_{50}又はエピトープ結合）及び／又は生物特性のうちの少なくとも１、２、３、４、５、またそれ以上を示す。

【００９０】

いくつかの実施形態によれば、本発明の抗体は完全ヒト抗体である。本発明はまた、完全ヒト抗体の断片、変異体及び誘導体も包含する。実施例にて開示されるように、本明細書で開示される完全ヒト抗体は健常な対象の試料のプールから得た。潜在的興味のある抗体をクラス及び軽鎖サブクラスの決定のために分析し、選択したＢ細胞培養物からのメッセージをＲＴ－ＰＣＲによって転写し、組換え産生にために発現ベクターにクローニングし、組み合わせた。添付の実施例を参照のこと。次いで完全ヒト抗体を組換えによってＨＥＫ２９３細胞にて発現させ、その後、完全長のＴＤＰ－４３、切り詰めたＴＤＰ－４３及びＴＤＰ－４３の修飾した形態に対するそれらの結合特異性に基づいて性状分析した（図２、４～７、１０及び１１）。この性状分析は、ＴＤＰ－４３に高度に特異的であり、ＴＤＰ－４３タンパク質内の異なるエピトープを認識するヒト抗体が初めてクローニングされていることを確認した。

【００９１】

従って、一実施形態によれば、本発明は一般にＴＤＰ－４３を特異的に認識する抗体に関する。さらなる実施形態では、本発明はＴＤＰ－４３を特異的に認識するヒト抗体を対象とする。その上さらなる実施形態では、本発明はＴＤＰ－４３を特異的に認識する総体ヒト抗体を対象とする。追加の実施形態では、本発明は、本発明のＴＤＰ－４３と結合する無傷のヒト抗体（完全ヒト抗体を含む）のＴＤＰ－４３と結合する断片、変異体又は誘導体を包含する。別の実施形態では、本発明の抗体は、ウエスタンブロットにて完全長の、切り詰めた又は病的なヒトＴＤＰ－４３を特異的に認識する。さらなる実施形態では、本発明の抗体は、ウエスタンブロットにて完全長の又は病的なＴＤＰ－４３と選択的に結合する。別の実施形態では、本発明の抗体は、ＥＬＩＳＡにて完全長の、切り詰めた又は病的なヒトＴＤＰ－４３を特異的に認識する。さらなる実施形態では、本発明の抗体は、ＥＬＩＳＡにて完全長の又は病的なＴＤＰ－４３と選択的に結合する。別の実施形態では、本発明の抗体は、免疫組織化学にて完全長の、切り詰めた又は病的なヒトＴＤＰ－４３を特異的に認識する。さらなる実施形態では、本発明の抗体は、免疫組織化学にて完全長の又は病的なＴＤＰ－４３と選択的に結合する。別の実施形態では、本発明の抗体は、海馬の免疫組織化学にて完全長の、切り詰めた又は病的なヒトＴＤＰ－４３の任意の組み合

わせを特異的に認識する。さらなる実施形態では、本発明の抗体は、海馬の免疫組織化学にて完全長の又は病的なＴＤＰ－４３と選択的に結合する。さらなる実施形態では、本発明の抗体は、ヒトＦＴＬＤ-Ｕ海馬の免疫組織化学にて核のＴＤＰ－４３、細胞質のＴＤＰ－４３、軸索のＴＤＰ－４３、又は神経突起のＴＤＰ－４３のうちの１以上と選択的に結合する。別の実施形態では、本発明の抗体は、ヒトＦＴＬＤ-Ｕ海馬の免疫組織化学における海馬顆粒細胞にて細胞質のＴＤＰ－４３及び神経突起のＴＤＰ－４３のうちの１以上と選択的に結合する。一実施形態によれば、本発明の抗体は病的なヒトＴＤＰ－４３を特異的に認識する。

【００９２】

別の実施形態では、本発明は、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメインを有する参照抗体と同じＴＤＰ－４３のエピトープに特異的に結合する抗体（その抗原結合性の断片、変異体又は誘導体を含む）を包含する。さらなる実施形態では、抗体（その抗原結合性の断片、変異体又は誘導体を含む）は、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される参照抗体と同じＴＤＰ－４３のエピトープに特異的に結合する。

【００９３】

別の実施形態では、本発明は、ＱＹＧＤＶＭＤＶＦＩＰ（配列番号１２３）；ＡＡＩＧＷＧＳＡＳＮＡ（配列番号１２４）；ＤＭＴＥＤＥＬＲＥＦＦ（配列番号１２５）、ＥＤＥＮＤＥＰ（配列番号１２６）、ＶＱＶＫＫＤＬ（配列番号１２７）、ＫＥＹＦＳＴＦ（配列番号１２８）、ＩＩＫＧＩＳＶ（配列番号３１５）、ＮＱＳＧＰＳＧ（配列番号３１６）、ＦＮＧＧＦＧＳ（配列番号３１７）、ＦＧＮＳＲＧＧＧＡＧＬ（配列番号３１８）、ＳＮＡＧＳＧＳＧＦＮＧ（配列番号３１９）、ＱＬＥＲＳＧＲＦＧＧＮ（配列番号３２０）、ＥＩＰＳＥＤＤ（配列番号３２１）、ＦＮＧＧＦＧＳＳＭＤＳ（配列番号３２２）及びＳＩＮＰＡＭＭＡＡＡＱＡＡＬＱＳＳＷＧＭＭＧＭＬＡＳＱ（配列番号３２３）から選択されるＴＤＰ－４３のポリペプチド配列に特異的に結合する抗体（その抗原結合性の断片、変異体又は誘導体を含む）を包含する。別の実施形態では、本発明は、ＴＤＰ－４３ポリペプチドＦＧＮＳＲＧＧＧＡＧＬ（配列番号３１８）及びＳＮＡＧＳＧＳＧＦＮＧ（配列番号３１９）に特異的に結合する抗体（その抗原結合性の断片、変異体又は誘導体を含む）を包含する。別の実施形態では、本発明は、ＴＤＰ－４３ポリペプチドＳＩＮＰＡＭＭＡＡＡＱＡＡＬＱＳＳＷＧＭＭＧＭＬＡＳＱ（配列番号３２３）に特異的に結合するが、ＳＩＮＰＧＧＧＡＡＡＱＡＡＬＱＳＳＷＧＭＭＧＭＬＡＳＱ（配列番号３１４）には特異的に結合しない抗体（その抗原結合性の断片、変異体又は誘導体を含む）を包含する。

【００９４】

さらなる実施形態では、本発明は、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される参照抗体によるＴＤＰ－４３への結合を競合的に阻害する抗体（その抗原結合性の断片、変異体又は誘導体を含む）を包含する。

【００９５】

さらなる実施形態では、抗体（その抗原結合性の断片、変異体又は誘導体を含む）は、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される参照抗体によるＴＤＰ－４３への結合を競合的に阻害する。

【００９６】

実施例にて示されるように、本発明はＴＤＰ－４３の異なる部分及びエピトープに結合する抗体を包含する。いくつかの実施形態によれば、本発明の抗体はＴＤＰ－４３の線形エピトープと結合する。他の実施形態によれば、本発明の抗体はＴＤＰ－４３の立体配座エピトープに結合する。追加の実施形態では、本発明の抗体は、ＴＤＰ－４３ドメインＩ（配列番号９４のアミノ酸残基２～１０６）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩ（ア配列番号９４のミノ酸残基９９～２０４）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基１８３～２７３）、及びＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４）から成る群から選択されるＴＤＰ－４３のドメインと選択的に結合する。別の実施形態では、抗ＴＤＰ－４３抗体はＴＤＰ－４３の切り詰められた形態を認識しない。追加の実施形態では、本発明はＴＤＰ－４３のＮ末端$_{1\sim259}$断片を認識する抗ＴＤＰ－４３抗体を提供する。さらなる実施形態では、抗ＴＤＰ－４３抗体は病的なＴＤＰ－４３と選択的に結合する。さらなる実施形態では、抗ＴＤＰ－４３抗体はＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４）と特異的に結合するが、Ａ３２１Ｇ、Ｍ３２２Ｇ及びＭ３２３Ｇの置換を含むＴＤＰ－４３ドメインＩＶと特異的に結合しない。

【００９７】

本発明は、異なるＴＤＰ－４３特異性を有するヒト抗ＴＤＰ－４３抗体を包含するので、それは診断目的又は治療目的に特に有用である。本発明はまたＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９

Ｇ５から成る群から選択される参照抗体に存在するものから選択されるアミノ酸配列を有する抗原結合ドメインを含む抗体も対象とする。

【００９８】

実施例及び図面は、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示され、表２に列記されるアミノ酸配列のいずれか１つを含むV_H及び／又はV_Lの可変領域の少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）をその結合ドメインにて含有することを特徴とするＴＤＰ－４３結合分子を開示する。これらの可変領域をコードする対応するヌクレオチド配列を表３で示す。V_H及び／又はV_Lの領域の上記アミノ酸配列のＣＤＲの例となる組を図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示す。しかしながら、当業者によって理解されるように、ＴＤＰ－４３と特異的に結合するが、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３の場合、１、２、３又はそれ以上のアミノ酸によって図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒにて示すものとはアミノ酸配列が異なる追加の又は代わりのＣＤＲを使用することができる。

【００９９】

【表２－１】

表２．ＴＤＰ－４３に特異的な抗体のV_H領域、V_HＣＤＲ１、V_HＣＤＲ２、V_HＣＤＲ２、V_L領域、V_LＣＤＲ２、V_LＣＤＲ２、及びV_LＣＤＲ３の配列番号

抗体		V_H/V_L	CDR1	CDR2	CDR3
NI-205.3F10	V_H	配列番号 1	配列番号 3	配列番号 4	配列番号 5
	V_L	配列番号 6	配列番号 7	配列番号 8	配列番号 9
NI-205.51C1	V_H	配列番号 10	配列番号 11	配列番号 12	配列番号 13

【表２－２】

抗体		V_H /V_L	CDR1	CDR2	CDR3
	V_L	配列番号 14	配列番号 15	配列番号 16	配列番号 17
NI-205.21G2	V_H	配列番号 18	配列番号 19	配列番号 20	配列番号 21
	V_L	配列番号 22	配列番号 23	配列番号 24	配列番号 25
NI-205.8A2	V_H	配列番号 26	配列番号 28	配列番号 29	配列番号 30
	V_L	配列番号 31	配列番号 32	配列番号 33	配列番号 34
NI-205.15F12	V_H	配列番号:35	配列番号 37	配列番号 38	配列番号 39
	V_L	配列番号 40	配列番号 42	配列番号 43	配列番号 44
NI-205.113C4	V_H	配列番号 45	配列番号 46	配列番号 47	配列番号 48
	V_L	配列番号 49	配列番号 50	配列番号 51	配列番号 52
NI-205.25F3	V_H	配列番号 53	配列番号 54	配列番号 55	配列番号 56
	V_L	配列番号 57	配列番号 58	配列番号 59	配列番号 60
NI-205.87E7	V_H	配列番号 61	配列番号 62	配列番号 63	配列番号 64
	V_L	配列番号 65	配列番号 66	配列番号 67	配列番号 68
NI-205.21G1	V_H	配列番号 69	配列番号 70	配列番号 71	配列番号 72
	V_L	配列番号 73	配列番号 74	配列番号 75	配列番号 76
NI-205.68G5	V_H	配列番号 77	配列番号 79	配列番号 80	配列番号 81
	V_L	配列番号 82	配列番号 84	配列番号 85	配列番号 86
NI-205.20A1	V_H	配列番号 87	配列番号 88	配列番号 89	配列番号 90
	V_L	配列番号 122	配列番号 91	配列番号 92	配列番号 93
NI205.41D1	V_H	配列番号 130	配列番号 131	配列番号 132	配列番号 133
	V_L	配列番号 134	配列番号 135	配列番号 136	配列番号 137
NI205.29E11	V_H	配列番号 138	配列番号 139	配列番号 140	配列番号 141
	V_L	配列番号 142	配列番号 143	配列番号 144	配列番号 145
NI205.9E12	V_H	配列番号 146	配列番号 147	配列番号 148	配列番号 149
	V_L	配列番号 150	配列番号 326	配列番号 327	配列番号 328
	V_L	配列番号 151	配列番号 152	配列番号 153	配列番号 154
NI205.98H6	V_H	配列番号 155	配列番号 156	配列番号 157	配列番号 158
	V_L	配列番号 159	配列番号 160	配列番号 161	配列番号 162

【表２－３】

抗体		V_H/V_L	CDR1	CDR2	CDR3
NI205.10D3	V_H	配列番号 163	配列番号 164	配列番号 165	配列番号 166
	V_L	配列番号 167	配列番号 168	配列番号 169	配列番号 170
NI205.44B22	V_H	配列番号 171	配列番号 172	配列番号 173	配列番号 174
	V_L	配列番号 175	配列番号 176	配列番号 177	配列番号 178
NI205.38H2	V_H	配列番号 179	配列番号 180	配列番号 181	配列番号 182
	V_L	配列番号 183	配列番号 184	配列番号 185	配列番号 186
NI205.36D5	V_H	配列番号 187	配列番号 188	配列番号 189	配列番号 190
	V_L	配列番号 191	配列番号 192	配列番号 193	配列番号 194
NI205.58E11	V_H	配列番号 195	配列番号 196	配列番号 197	配列番号 198
	V_L	配列番号 199	配列番号 200	配列番号 201	配列番号 202
NI205.14H5	V_H	配列番号 203	配列番号 204	配列番号 205	配列番号 206
	V_L	配列番号 207	配列番号 208	配列番号 209	配列番号 210
NI205.31D2	V_H	配列番号 211	配列番号 212	配列番号 213	配列番号 214
	V_L	配列番号 215	配列番号 216	配列番号 217	配列番号 218
NI205.8F8	V_H	配列番号 219	配列番号 220	配列番号 221	配列番号 222
	V_L	配列番号 223	配列番号 224	配列番号 225	配列番号 226
NI205.31C11	V_H	配列番号 227	配列番号 228	配列番号 229	配列番号 230
	V_L	配列番号 231	配列番号 232	配列番号 233	配列番号 234
NI205.8C10	V_H	配列番号 235	配列番号 236	配列番号 237	配列番号 238
	V_L	配列番号 239	配列番号 240	配列番号 241	配列番号 242
NI205.10H7	V_H	配列番号 243	配列番号 244	配列番号 245	配列番号 246
	V_L	配列番号 247	配列番号 248	配列番号 249	配列番号 250
NI205.1A9	V_H	配列番号 251	配列番号 252	配列番号 253	配列番号 254
	V_L	配列番号 255	配列番号 256	配列番号 257	配列番号 258
NI205.14W3	V_H	配列番号 259	配列番号 260	配列番号 261	配列番号 262
	V_L	配列番号 263	配列番号 264	配列番号 265	配列番号 266
NI205.19G5	V_H	配列番号 267	配列番号 268	配列番号 269	配列番号 270
	V_L	配列番号 271	配列番号 272	配列番号 273	配列番号 274

【０１００】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号３～５、７～９、１１～１３、１５～１７、１９～２１、２３～２５、２８～３０、３２～３４、３７～３９、４２～４４、４６～４８、５０～５２、５４～５６、５８～６０、６２～６４、６６～６８、７０～７２、７４～７６、７９～８１、８４～８６、８８～９３、１３１～１３３、１３５～１３７、１３９～１４１、１４３～１４５、１４７～１４９、１５２～１５４、１５６～１５８、１６０～１６２、１６４～１６６、１６８～１７０、１７２～１７４、１７６～１７８、１８０～１８２、１８４～１８６、１８８～１９０、１９２～１９４、１９６～１９８、２００～２０２、２０４～２０６、２０８～２１０、２１２～２１４、２１６～２１８、２２０～２２２、２２４～２２６、２２８～２３０、２３２～２３４、２３６～２３８、２４０～２４２、２４４～２４６、２４８～２５０、２５２～２５４、２５６～２５８、２６０～２６２、２６４～２６６、２６８～２７０、２７２～２７４及び３２６～３２８から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む又はそれから成る少なくとも１つのＣＤＲを含む。

【０１０１】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号３～５、７～９、１１～１３、１５～１７

、１９～２１、２３～２５、２８～３０、３２～３４、３７～３９、４２～４４、４６～４８、５０～５２、５４～５６、５８～６０、６２～６４、６６～６８、７０～７２、７４～７６、７９～８１、８４～８６、８８～９３、１３１～１３３、１３５～１３７、１３９～１４１、１４３～１４５、１４７～１４９、１５２～１５４、１５６～１５８、１６０～１６２、１６４～１６６、１６８～１７０、１７２～１７４、１７６～１７８、１８０～１８２、１８４～１８６、１８８～１９０、１９２～１９４、１９６～１９８、２００～２０２、２０４～２０６、２０８～２１０、２１２～２１４、２１６～２１８、２２０～２２２、２２４～２２６、２２８～２３０、２３２～２３４、２３６～２３８、２４０～２４２、２４４～２４６、２４８～２５０、２５２～２５４、２５６～２５８、２６０～２６２、２６４～２６６、２６８～２７０、２７２～２７４及び３２６～３２８から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む又はそれから成る１、２、３、４、５又は６のＣＤＲを含む。

【０１０２】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号３～５及び７～９、１１～１３及び１５～１７、１９～２１及び２３～２５、２８～３０及び３２～３４、３７～３９及び４２～４４、４６～４８及び５０～５２、５４～５６及び５８～６０、６２～６４及び６６～６８、７０～７２及び７４～７６、７９～８１及び８４～８６、８８～９３、１３１～１３３及び１３５～１３７、１３９～１４１及び１４３～１４５、１４７～１４９及び１５２～１５４、１５６～１５８及び１６０～１６２、１６４～１６６及び１６８～１７０、１７２～１７４及び１７６～１７８、１８０～１８２及び１８４～１８６、１８８～１９０及び１９２～１９４、１９６～１９８及び２００～２０２、２０４～２０６及び２０８～２１０、２１２～２１４及び２１６～２１８、２２０～２２２及び２２４～２２６、２２８～２３０及び２３２～２３４、２３６～２３８及び２４０～２４２、２４４～２４６及び２４８～２５０、２５２～２５４及び２５６～２５８、２６０～２６２及び２６４～２６６、２６８～２７０及び２７２～２７４、並びに１４７～１４９及び３２６～３２８から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む又はそれから成る１、２、３、４、５又は６のＣＤＲを含む。

【０１０３】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号３～５、１１～１３、１９～２１、２８～３０、３７～３９、４６～４８、５４～５６、６２～６４、７０～７２、７９～８１、８８～９０、１３１～１３３、１３９～１４１、１４７～１４９、１５６～１５８、１６４～１６６、１７２～１７４、１８０～１８２、１８８～１９０、１９６～１９８、２０４～２０６、２１２～２１４、２２０～２２２、２２８～２３０、２３６～２３８、２４４～２４６、２５２～２５４、２６０～２６２、及び２６８～２７０から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む又はそれから成る１、２又は３のＶＨＣＤＲを含む。

【０１０４】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号７～９、１５～１７、２３～２５、３２～３４、４２～４４、５０～５２、５８～６０、６６～６８、７４～７６、８４～８６、９１～９３、１３５～１３７、１４３～１４５、１５２～１５４、１６０～１６２、１６８～１７０、１７６～１７８、１８４～１８６、１９２～１９４、２００～２０２、２０８～２１０、２１６～２１８、２２４～２２６、２３２～２３４、２４０～２４２、２４８～２５０、２５６～２５８、２６４～２６６、２７２～２７４及び３２６～３２８から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む又はそれから成る１、２又は３のＶＬＣＤＲを含む。

【０１０５】

一実施形態によれば、本発明の抗体は、配列番号３、１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０、若しくは２６８のＶＨＣＤＲ１；配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８

１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１、若しくは２６９のＶＨＣＤＲ２；又は配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２、若しくは２７０のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含む。別の実施形態によれば、抗体は、配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２若しくは３２６のＶＬＣＤＲ１；配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３若しくは３２７のＶＬＣＤＲ２；又は配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４若しくは３２８のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号３、１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０、若しくは２６８のＶＨＣＤＲ１；配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１、若しくは２６９のＶＨＣＤＲ２；又は配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２、若しくは２７０のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含み、さらに、配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２若しくは３２６のＶＬＣＤＲ１；配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３若しくは３２７のＶＬＣＤＲ２；又は配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４若しくは３２８のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１０６】

一実施形態によれば、本発明の抗体は、配列番号３、１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０、又は２６８のＶＨＣＤＲ１；配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１、又は２６９のＶＨＣＤＲ２；及び配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２、又は２７０のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含む。別の実施形態によれば、抗体は、配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２又は３２６のＶＬＣＤＲ１；配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２

２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３又は３２７のＶＬＣＤＲ２；及び配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４又は３２８のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号３、１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０、又は２６８のＶＨＣＤＲ１；配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１、又は２６９のＶＨＣＤＲ２；及び配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２、又は２７０のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含み、さらに、配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２又は３２６のＶＬＣＤＲ１；配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３又は３２７のＶＬＣＤＲ２；及び配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４又は３２８のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含む。

【０１０７】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号３のＶＨＣＤＲ１、配列番号４のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号５のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号７のＶＬＣＤＲ１、配列番号８のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号９のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１０８】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１１のＶＨＣＤＲ１、配列番号１２のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号１３のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号１５のＶＬＣＤＲ１、配列番号１６のＶ$_{L}$ＣＤＲ２、及び配列番号１７のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１０９】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１９のＶＨＣＤＲ１、配列番号２０のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号２１のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２３のＶＬＣＤＲ１、配列番号２４のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２５のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１１０】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号２８のＶＨＣＤＲ１、配列番号２９のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号３０のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号３２のＶＬＣＤＲ１、配列番号３３のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号３４のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１１１】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号３７のＶＨＣＤＲ１、配列番号３８のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号３９のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号４２のＶＬＣＤＲ１、配列番号４３のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号４４のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１１２】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号４６のＶＨＣＤＲ１、配列番号４７のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号４８のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号５０のＶＬＣＤＲ１、配列番号５１のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号５２のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１１３】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号５４のＶＨＣＤＲ１、配列番号５５のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号５６のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号５８のＶＬＣＤＲ１、配列番号５９のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号６０のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１１４】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号６２のＶＨＣＤＲ１、配列番号６３のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号６４のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号６６のＶＬＣＤＲ１、配列番号６７のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号６８のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１１５】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号７０のＶＨＣＤＲ１、配列番号７１のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号７２のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号７４のＶＬＣＤＲ１、配列番号７５のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号７６のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１１６】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号７９のＶＨＣＤＲ１、配列番号８０のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号８１のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号８４のＶＬＣＤＲ１、配列番号８５のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号８６のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１１７】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号８８のＶＨＣＤＲ１、配列番号８９のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号９０のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号９１のＶＬＣＤＲ１、配列番号９２のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号９３のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１１８】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１３１のＶＨＣＤＲ１、配列番号１３２のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号１３３のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号１３５のＶＬＣＤＲ１、配列番号１３６のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号１３７のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１１９】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１４７のＶＨＣＤＲ１、配列番号１４８のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号１４９のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号１５２のＶＬＣＤＲ１、配列番号１５３のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号１５４のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１２０】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１４７のＶＨＣＤＲ１、配列番号１４８のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号１４９のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号３２６のＶＬＣＤＲ１、配列番号３２７のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号３２８のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１２１】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１５６のＶＨＣＤＲ１、配列番号１５７のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号１５８のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号１６０のＶＬＣＤＲ１、配列番号１６１のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号１６２のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１２２】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１６４のＶＨＣＤＲ１、配列番号１６５のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号１６６のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号１６８のＶＬＣＤＲ１、配列番号１６９のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号１７０のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１２３】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１７２のＶＨＣＤＲ１、配列番号１７３のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号１７４のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号１７６のＶＬＣＤＲ１、配列番号１７７のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号１７８のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１２４】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１８０のＶＨＣＤＲ１、配列番号１８１のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号１８２のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号１８４のＶＬＣＤＲ１、配列番号１８５のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号１８６のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１２５】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１８８のＶＨＣＤＲ１、配列番号１８９のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号１９０のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号１９２のＶＬＣＤＲ１、配列番号１９３のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号１９４のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１２６】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１９６のＶＨＣＤＲ１、配列番号１９７のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号１９８のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２００のＶＬＣＤＲ１、配列番号２０１のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２０２のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１２７】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号２０４のＶＨＣＤＲ１、配列番号２０５のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号２０６のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２０８のＶＬＣＤＲ１、配列番号２０９のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２１０のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１２８】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号２１２のＶＨＣＤＲ１、配列番号２１３のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号２１４のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２１６のＶＬＣＤＲ１、配列番号２１７のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２１８のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１２９】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号２２０のＶＨＣＤＲ１、配列番号２２１のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号２２２のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２２４のＶＬＣＤＲ１、配列番号２２５のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２２６のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１３０】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号２２８のＶＨＣＤＲ１、配列番号２２９のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号２３０のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２３２のＶＬＣＤＲ１、配列番号２３３のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２３４のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１３１】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号２３６のＶＨＣＤＲ１、配列番号２３７のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号２３８のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２４０のＶＬＣＤＲ１、配列番号２４１のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２４２のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１３２】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号２４４のＶＨＣＤＲ１、配列番号２４５のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号２４６のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２４８のＶＬＣＤＲ１、配列番号２４９のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２５０のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１３３】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号２５２のＶＨＣＤＲ１、配列番号２５３のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号２５４のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２５６のＶＬＣＤＲ１、配列番号２５７のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２５８のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１３４】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号２６０のＶＨＣＤＲ１、配列番号２６１のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号２６２のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２６４のＶＬＣＤＲ１、配列番号２６５のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２６６のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１３５】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号２６８のＶＨＣＤＲ１、配列番号２６９のＶＨＣＤＲ２、及び配列番号２７０のＶＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域を含むことができ、さらに配列番号２７２のＶＬＣＤＲ１、配列番号２７３のＶＬＣＤＲ２、及び配列番号２７４のＶＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域を含むことができる。

【０１３６】

一実施形態では、本発明の抗体は、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに描かれるようなV_H及び／又はV_L領域のアミノ酸配列を含む抗体である。

【０１３７】

別の実施形態では、本発明の抗体は、ヒトＢ細胞に存在する重鎖及び軽鎖の同族の対合の保存を特徴とする。

【０１３８】

一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１、１０、１８、２６、３５、４５、５３、６１、６９、７７、８７、１３０、１３８、１４６、１５５、１６３、１７１、１７９、１８７、１９５、２０３、２１１、２１９、２２７、２３５、２４３、２５１、２５９、及び２６７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む又はそれから成る重鎖可変領域（ＶＨ）を含む。一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号６、１４、２２、３１、４０、４９、５７、６５、７３、８２、１２２、１３４、１４２、１５０、１５１、１５９、１６７、１７５、１８３、１９１、１９９、２０７、２１５、２２３、２３１、２３９、２４７、２５５、２６３、及び２７１から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む又はそれから成る軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む。一実施形態では、本発明の抗体は、配列番号１、１０、１８、２６、３５、４５、５３、６１、６９、７７、８７、１３０、１３８、１４６、１５５、１６３、１７１、１７９、１８７、１９５、２０３、２１１、２１９、２２７、２３５、２４３、２５１、２５９、及び２６７から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む又はそれから成る重鎖可変領域（ＶＨ）を含み、さらに配列番号６、１４、２２、３１、４０、４９、５７、６５、７３、８２、１２２、１３４、１４２、１５０、１５１、１５９、１６７、１７５、１８３、１９１、１９９、２０７、２１５、２２３、２３１、２３９、２４７、２５５、２６３、及び２７１から成る群から選択されるアミノ酸配列を含む又はそれから成る軽鎖可変領域（ＶＬ）を含む。特定の実施形態では、抗体は、配列番号１のＶＨ及び配列番号６のＶＬ；又は配列番号１０のＶＨ及び配列番号１４のＶＬ；又は配列番号１８のＶＨ及び配列番号２２のＶＬ；又は配列番号２６のＶＨ及び配列番号３１のＶＬ；又は配列番号３５のＶＨ及び配列番号４０のＶＬ、又は配列番号４５のＶＨ及び配列番号４９のＶＬ；又は配列番号５３のＶＨ及び配列番号５７のＶＬ；又は配列番号６１のＶＨ及び配列番号６５のＶＬ；又は配列番号６９のＶＨ及び配列番号７３のＶＬ；又は配列番号７７のＶＨ及び配列番号８２のＶＬ、又は配列番号８７のＶＨ及び配列番号１２２のＶＬ、又は配列番号１３０のＶＨ及び配列番号１３４のＶＬ、又

は配列番号１３８のＶＨ及び配列番号１４２のＶＬ、又は配列番号１４６のＶＨ及び配列番号１５０のＶＬ、又は配列番号１４６のＶＨ及び配列番号１５１のＶＬ、又は配列番号１５５のＶＨ及び配列番号１５９のＶＬ、又は配列番号１６３のＶＨ及び配列番号１６７のＶＬ、又は配列番号１７１のＶＨ及び配列番号１７５のＶＬ、又は配列番号１７９のＶＨ及び配列番号１８３のＶＬ、又は配列番号１８７のＶＨ及び配列番号１９１のＶＬ、又は配列番号１９５のＶＨ及び配列番号１９９のＶＬ、又は配列番号２０３のＶＨ及び配列番号２０７のＶＬ、又は配列番号２１１のＶＨ及び配列番号２１５のＶＬ、又は配列番号２１９のＶＨ及び配列番号２２３のＶＬ、又は配列番号２２７のＶＨ及び配列番号２３１のＶＬ、又は配列番号２３５のＶＨ及び配列番号２３９のＶＬ、又は配列番号２４３のＶＨ及び配列番号２４７のＶＬ、又は配列番号のＶＨ：２５１及び配列番号２５５のＶＬ、又は配列番号のＶＨ：２５９及び配列番号２６３のＶＬ、又は配列番号２６７のＶＨ及び配列番号２７１のＶＬを含む。

【０１３９】

或いは、本発明のＴＤＰ－４３結合分子は、ＴＤＰ－４３への結合について、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに描かれるような$Ｖ_{H}$及び／又は$Ｖ_{L}$領域を有する少なくとも１つの抗体と競合する抗体（抗体の抗原結合性の断片又はその誘導体又は変異体を含む）のようなポリペプチドである。これらの抗体は特に治療応用については、ヒト抗体でもあり得る。或いは、動物における診断方法及び有効性や安全性の試験に特に有用であるマウス抗体、マウス化抗体又はマウス／ヒトのキメラ抗体である。

【０１４０】

本明細書で論じられるように、完全ヒト抗体のＴＤＰ－４３エピトープは、抗体がヒトの免疫応答の結果として当初生成されたという事実のために診断及び治療の応用について特に適切である。従って、本発明のヒトの完全ヒト抗体は、特に生理学的に関連する、及び、たとえば、マウスのモノクローナル抗体及びファージディスプレイライブラリの試験管内のスクリーニングに由来する抗体の生成のための従来の免疫及び他の抗体スクリーニング工程を用いて達成できない又はあまり免疫原性ではないエピトープを認識する。従って、本発明はまた一般に、ＴＤＰ－４３への特異的な結合について本発明のヒトモノクローナル抗体と競合する抗ＴＤＰ－４３抗体及び他のＴＤＰ－４３結合分子に拡張する。一実施形態によれば、抗体又は他のＴＤＰ－４３結合分子は、ＴＤＰ－４３との結合について図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒにて開示される可変ドメインを含有する抗体と競合する。別の実施形態では、抗体又は他のＴＤＰ－４３結合分子は、ＴＤＰ－４３との結合について、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される参照抗体と競合する。

【０１４１】

本発明はまた、本発明のヒトモノクローナル抗体と同じＴＤＰ－４３のエピトープに結合する抗ＴＤＰ－４３抗体及び他のＴＤＰ－４３結合分子を包含する。一実施形態によれば、抗体（ＴＤＰ－４３結合性の抗体の断片及びその変異体又は誘導体を含む）又は他のＴＤＰ－４３結合分子は、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒにて開示される可変ドメインを含有する抗体と同じＴＤＰ－４３のエピトープに結合する。別の実施形態では、抗体（ＴＤＰ－４３結合性の抗体の断片及びその変異体又は誘導体を含む）又は他のＴＤＰ－４３結合分子は、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５

．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される参照抗体と同じＴＤＰ－４３のエピトープに結合する。

【０１４２】

別の実施形態では、本発明は、ＱＹＧＤＶＭＤＶＦＩＰ（配列番号１２３）；ＡＡＩＧＷＧＳＡＳＮＡ（配列番号１２４）；ＤＭＴＥＤＥＬＲＥＦＦ（配列番号１２５）、ＥＤＥＮＤＥＰ（配列番号１２６）、ＶＱＶＫＫＤＬ（配列番号１２７）、ＫＥＹＦＳＴＦ（配列番号１２８）、ＩＩＫＧＩＳＶ（配列番号３１５）、ＮＱＳＧＰＳＧ（配列番号３１６）、ＦＮＧＧＦＧＳ（配列番号３１７）、ＦＧＮＳＲＧＧＧＡＧＬ（配列番号３１８）、ＳＮＡＧＳＧＳＧＦＮＧ（配列番号３１９）、ＱＬＥＲＳＧＲＦＧＧＮ（配列番号３２０）、ＥＩＰＳＥＤＤ（配列番号３２１）、ＦＮＧＧＦＧＳＳＭＤＳ（配列番号３２２）及びＳＩＮＰＡＭＭＡＡＡＱＡＡＬＱＳＳＷＧＭＭＧＭＬＡＳＱ（配列番号３２３）から選択されるＴＤＰ－４３ポリペプチドに特異的に結合する抗体（抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体を含む）を包含する。別の実施形態では、本発明は、ＴＤＰ－４３ポリペプチドＦＧＮＳＲＧＧＧＡＧＬ（配列番号３１８）及びＳＮＡＧＳＧＳＧＦＮＧ（配列番号３１９）に特異的に結合する抗体（抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体を含む）を包含する。別の実施形態では、本発明は、ＴＤＰ－４３ポリペプチドＳＩＮＰＡＭＭＡＡＡＱＡＡＬＱＳＳＷＧＭＭＧＭＬＡＳＱ（配列番号３２３）に特異的に結合するが、ＳＩＮＰＧＧＧＡＡＡＱＡＡＬＱＳＳＷＧＭＭＧＭＬＡＳＱ（配列番号３１４）に特異的に結合しない抗体（抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体を含む）を包含する。

【０１４３】

抗体間の競合は、試験されている免疫グロブリンがＴＤＰ－４３のような共通の抗原への参照抗体の特異的な結合を阻害するアッセイによって測定される。たとえば、固相の直接又は間接の放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）、固相の直接又は間接の酵素免疫アッセイ（ＥＩＡ）、サンドイッチ競合アッセイ；Ｓｔａｈｌｉら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ、９（１９８３），２４２－２５３；ｓｏｌｉｄ ｐｈａｓｅ ｄｉｒｅｃｔ ｂｉｏｔｉｎ－ａｖｉｄｉｎ ＥＩＡ；Ｋｉｒｋｌａｎｄら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３７（１９８６），３６１４－３６１９，及びＣｈｅｕｎｇら、Ｖｉｒｏｌｏｇｙ、１７６（１９９０），５４６－５５２を参照のこと;固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ；Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ（１９８８）を参照のこと；^{125}Ｉを用いた固相直接標識ＲＩＡ；Ｍｏｒｅｌら、Ｍｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２５（１９８８），７－１５及びＭｏｌｄｅｎｈａｕｅｒら、Ｓｃａｎｄ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３２（１９９０），７７－８２を参照；のような多数の種類の競合結合アッセイが当該技術で既知であり、抗原への結合について競合する２つの化合物の能力を調べるために日常的に適用し、改変することができる。通常、そのようなアッセイには、そのいずれかを運ぶ固相表面又は細胞に結合した精製ＴＤＰ－４３又はその会合体、未標識の試験免疫グロブリン及び標識された参照免疫グロブリン、たとえば、本発明のヒトモノクローナル抗体が含まれる。競合阻害は、試験免疫グロブリンの存在下で固相表面又は細胞に結合した標識の量を決定することによって測定される。普通、試験免疫グロブリンは過剰に存在する。一実施形態では、競合結合アッセイは添付の実施例におけるＥＬＩＳＡアッセイについて記載されるような条件下で実施される。競合アッセイによって特定される抗体（競合する抗体）には、参照抗体と同一のエピトープに結合する抗体、及び参照抗体が結合するエピトープに立体障害が生じるのに十分近い隣接エピトープに結合する抗体が挙げられる。普通、競合する抗体が過剰に存在する場合、それは、共通する抗原への参照抗体の特異的な結合を少なくとも５０％又は７５％阻害するであろ

う。従って、本発明はさらに、抗体がＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５から成る群から選択される参照抗体によるＴＤＰ－４３への結合を競合して阻害する抗体（たとえば、抗体の抗原結合性断片）を対象とする。

【０１４４】

本発明はまた、本明細書で記載される抗体分子（たとえば、V_H領域及び／又はV_L領域）の変異体（誘導体を含む）を含む、それから本質的に成る、又は成る抗体を提供し、その抗体はＴＤＰ－４３ポリペプチド又はその断片又は変異体に免疫特異的に結合する。たとえば、アミノ酸置換を生じる部位特異的変異誘発及びＰＣＲが介在する変異誘発を含む当該技術で既知の常法を用いて本発明の分子をコードするヌクレオチド配列に変異を導入することができる。好ましくは、変異体（誘導体を含む）は、参照のV_H領域、V_HＣＤＲ１、V_HＣＤＲ２、V_HＣＤＲ３、V_L領域、V_LＣＤＲ１、V_LＣＤＲ２、又はV_LＣＤＲ３に対して５０未満のアミノ酸置換、４０未満のアミノ酸置換、３０未満のアミノ酸置換、２５未満のアミノ酸置換、２０未満のアミノ酸置換、１５未満のアミノ酸置換、１０未満のアミノ酸置換、５未満のアミノ酸置換、４未満のアミノ酸置換、３未満のアミノ酸置換、又は２未満のアミノ酸置換をコードする。

【０１４５】

一実施形態によれば、本発明は、免疫グロブリン重鎖可変領域（V_H）含む、それから本質的に成る、又は成る単離されたポリペプチドを提供し、その際、重鎖可変領域のV_H－ＣＤＲの少なくとも１つ又は重鎖可変領域のV_H－ＣＤＲの少なくとも２つは、本明細書で開示される抗体に由来する参照重鎖V_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２又はV_H－ＣＤＲ３のアミノ酸配列と少なくとも８０％，８５％，９０％，９５％，９６％，９７％，９８％又は９９％同一である。或いは、V_HのV_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２及びV_H－ＣＤＲ３領域は、本明細書で開示される抗体に由来する参照重鎖V_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２又はV_H－ＣＤＲ３のアミノ酸配列と少なくとも８０％，８５％，９０％，９５％，９６％，９７％，９８％又は９９％同一である。従って、この実施形態によれば、本発明の重鎖可変領域は、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示される群に関連するV_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２及びV_H－ＣＤＲ３のポリペプチド配列を有する。図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３ＲはＫａｂａｔ方式によって定義されたV_H－ＣＤＲを示すが、他のＣＤＲの定義、たとえば、Ｃｈｏｔｈｉａ方式によって定義されるV_H－ＣＤＲも本発明に含められ、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒにて提示されるデータを用いて当業者が容易に特定することができる。一実施形態では、参照V_H－ＣＤＲ１のアミノ酸配列は、配列番号３、１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０、又は２６８であり；参照ＶＨ－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は、配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１、又は２６９であり；参照ＶＨ－ＣＤＲ３のアミノ酸配列は、配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２、又は２７０である。

【０１４６】

別の実施形態では、本発明は、V_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２及びV_H－ＣＤＲ３領域が図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示されるV_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２及びV_H－ＣＤＲ３の群と同一であるポリペプチド配列を有する免疫グロブリン重鎖可変領域（V_H）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。一実施形態では、V_H－ＣＤＲ１のアミノ酸配列は配列番号３、１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０、又は２６８であり；参照V_H－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１、又は２６９であり；参照V_H－ＣＤＲ３のアミノ酸配列は、配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２、又は２７０である。

【０１４７】

別の実施形態では、本発明は、任意のV_H－ＣＤＲの１つにおける１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０のアミノ酸置換を除いて、V_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２及びV_H－ＣＤＲ３領域が図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示されるV_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２及びV_H－ＣＤＲ３の群と同一であるポリペプチド配列を有する免疫グロブリン重鎖可変領域（V_H）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。ある特定の実施形態では、アミノ酸置換は保存的である。一実施形態では、V_H－ＣＤＲ１のアミノ酸配列は配列番号３、１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０、又は２６８であり；参照V_H－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１、又は２６９であり；参照V_H－ＣＤＲ３のアミノ酸配列は、配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２、又は２７０である。

【０１４８】

別の実施形態では、本発明は、軽鎖可変領域のV_L-ＣＤＲの少なくとも１つ又は軽鎖可変領域のV_L-ＣＤＲの少なくとも２つが、本明細書で開示される抗体に由来する参照軽鎖V_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２又はV_L－ＣＤＲ３のアミノ酸配列と少なくとも８０％，８５％，９０％，９５％，９６％，９７％，９８％又は９９％同一である免疫グロブリン軽鎖可変領域（V_L）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。或いは、V_LのV_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２及びV_L－ＣＤＲ３領域は、本明細書で開示される抗体に由来する参照軽鎖V_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２又はV_L－ＣＤＲ３のアミノ酸配列と少なくとも８０％，８５％，９０％，９５％，９６％，９７％，９８％又は９９％同一である。従って、この実施形態によれば、本発明の軽鎖可変領域は、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示されるポリペプチドに関連するV_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２及びV_L－ＣＤＲ３のポリペプチド配列を有する。図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３ＲはＫａｂａｔ方式によって定義されたV_L－ＣＤＲを示すが、他のＣＤＲの定義、たとえば、Ｃｈｏｔｈｉａ方式によって定義されるV_L－ＣＤＲも本発明に含められる。一実施形態では、参照V_L－ＣＤＲ１のアミノ酸配列は、配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２又は３２６であり；参照ＶＬ－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は、配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１

３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３又は３２７；であり；参照ＶＬ－ＣＤＲ３のアミノ酸配列は、配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４又は３２８である。

【０１４９】

別の実施形態では、本発明は、V_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２及びV_L－ＣＤＲ３領域が図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示されるV_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２及びV_L－ＣＤＲ３の群と同一であるポリペプチド配列を有する免疫グロブリン軽鎖可変領域（V_L）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。一実施形態では、ＶＬ－ＣＤＲ１のアミノ酸配列は、配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２又は３２６であり；ＶＬ－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は、配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３又は３２７；であり；ＶＬ－ＣＤＲ３のアミノ酸配列は、配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４又は３２８である。

【０１５０】

別の実施形態では、本発明は、任意のV_L－ＣＤＲの１つにおける１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０のアミノ酸置換を除いて、V_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２及びV_H－ＣＤＲ３領域が図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示されるV_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２及びV_H－ＣＤＲ３の群と同一であるポリペプチド配列を有する免疫グロブリン重鎖可変領域（V_H）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。ある特定の実施形態では、アミノ酸置換は保存的である。一実施形態では、ＶＬ－ＣＤＲ１のアミノ酸配列は、配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２又は３２６であり；ＶＬ－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は、配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３又は３２７；であり；ＶＬ－ＣＤＲ３のアミノ酸配列は、配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４又は３２８である。

【０１５１】

一実施形態によれば、本発明は、本明細書で開示される抗体に由来する参照重鎖可変領域（V_H）のアミノ酸配列と少なくとも８０％，８５％，９０％，９５％，９６％，９７％，９８％又は９９％同一である免疫グロブリン重鎖可変領域（V_H）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。従って、この実施形態によれば、本発明の重鎖可変領域は図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示される重鎖可変領域に関連するポリペプチド配列を有する。一実施形態では、参照重鎖可変領域（V_H）のアミノ酸配列は、配列番号１、１０、１８、２６、３５、４５、５３、６１、６９、７７、８７、１３０、１３８、１４６、１５５、１６３、１７１、１７９、１８７、１９５、２０３、２１１、２１９、２２７、２３５、２４３、２５１、２５９、又は２６７である。

【０１５２】

別の実施形態では、本発明は、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示される参照重鎖可変領域と同一である免疫グロブリン重鎖可変領域（V_H）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。一実施形態では、参照重鎖可変領域のアミノ酸配列は、配列番号１、１０、１８、２６、３５、４５、５３、６１、６９、７７、８７、１３０、１３８、１４６、１５５、１６３、１７１、１７９、１８７、１９５、２０３、２１１、２１９、２２７、２３５、２４３、２５１、２５９、又は２６７である。

【０１５３】

別の実施形態では、本発明は、１、２、３、４、５、６、７、８、９又は１０のアミノ酸置換を除いて、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示される参照重鎖可変領域（V_H）の配列と同一である免疫グロブリン重鎖可変領域（V_H）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。ある特定の実施形態では、アミノ酸置換は保存的である。一実施形態では、参照重鎖可変領域配列のアミノ酸配列は、配列番号１、１０、１８、２６、３５、４５、５３、６１、６９、７７、８７、１３０、１３８、１４６、１５５、１６３、１７１、１７９、１８７、１９５、２０３、２１１、２１９、２２７、２３５、２４３、２５１、２５９、又は２６７である。

【０１５４】

一実施形態によれば、本発明は、本明細書で開示される抗体に由来する参照軽鎖可変領域（V_L）のアミノ酸配列と少なくとも８０％，８５％，９０％，９５％，９６％，９７％，９８％又は９９％同一である免疫グロブリン軽鎖可変領域（V_L）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。従って、この実施形態によれば、本発明の軽鎖可変領域は図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示される軽鎖可変領域に関連するポリペプチド配列を有する。一実施形態では、参照軽鎖可変領域（V_L）のアミノ酸配列は、配列番号６、１４、２２、３１、４０、４９、５７、６５、７３、８２、１２２、１３４、１４２、１５０、１５１、１５９、１６７、１７５、１８３、１９１、１９９、２０７、２１５、２２３、２３１、２３９、２４７、２５５、２６３、及び２７１である。

【０１５５】

別の実施形態では、本発明は、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示される参照軽鎖可変領域と同一である免疫グロブリン軽鎖可変領域（V_L）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。一実施形態では、参照軽鎖可変領域のアミノ酸配列は、配列番号６、１４、２２、３１、４０、４９、５７、６５、７３、８２、１２２、１３４、１４２、１５０、１５１、１５９、１６７、１７５、１８３、１９１、１９９、２０７、２１５、２２３、２３１、２３９、２４７、２５５、２６３、及び２７１である。

【０１５６】

別の実施形態では、本発明は、１、２、３、４、５、６、７、８、９又は１０のアミノ酸置換を除いて、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示される参照軽鎖可変領域（V_L）の配列と同一である免疫グロブリン軽鎖可変領域（V_L）を含む、それから本質的に成る又は成る単離されたポリペプチドを提供する。ある特定の実施形態では、アミノ酸置換は保存的である。一実施形態では、参照軽鎖可変領域配列のアミノ酸配列は、配列番号６、１４、２２、３１、４０、４９、５７、６５、７３、８２、１２２、１３４、１４２、１５０、１５１、１５９、１６７、１７５、１８３、１９１、１９９、２０７、２１５、２２３、２３１、２３９、２４７、２５５、２６３、及び２７１である。

【０１５７】

免疫グロブリン又はそれをコードする核酸（たとえば、ｃＤＮＡ）をさらに修飾することができる。従って、さらなる実施形態では、本発明の方法は、キメラ抗体、マウス化抗体、単鎖抗体、Ｆａｂ断片、二重特異性抗体、標識抗体又はそれらのいずれか１つの類似体を作出するステップのいずれか１つを含む。対応する方法は当該技術で既知であり、たとえば、Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ”Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ”，ＣＳＨ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ（１９

８８）に記載されている。前記抗体の誘導体が、たとえば、ファージディスプレイ法によって得られる場合、ＢＩＡｃｏｒｅシステムで採用されるような表面プラスモン共鳴を用いて、本明細書で記載される抗体のいずれか１つと同じエピトープに結合するファージ抗体の効率性を高めることができる（Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmborg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13)）。キメラ抗体の作出は、たとえば、国際出願公開番号ＷＯ８９／０９６２２に記載されている。ヒト化抗体を作出する方法は、たとえば、欧州出願ＥＰ－Ａ１０２３９４００及び国際出願ＷＯ９０／０７８６１に記載されている。本発明に従って利用される抗体のさらなる供給源はいわゆる異種抗体である。マウスにおけるヒト様抗体のような異種抗体の作出の一般的な原理は国際出願公開番号ＷＯ９１／１０７４１、ＷＯ９４／０２６０２、ＷＯ９６／３４０９６及びＷＯ９６／３３７３５に記載されている。上で論じられたように、本発明の抗体は、たとえば、Ｆｖ、Ｆａｂ及びＦ（ａｂ）$_2$、並びに単鎖を含む、完全抗体に加えて種々の形態で存在することができる。たとえば、国際出願公開番号ＷＯ８８／０９３４４を参照のこと。

【０１５８】

当該技術で既知の従来の技法を用いて、たとえば、アミノ酸の欠失、挿入、置換、付加及び／又は組換え及び／又は当該技術で既知の他の修飾を単独で又は組み合わせで用いて、本発明の抗体又はその対応する免疫グロブリン鎖をさらに修飾することができる。免疫グロブリンのアミノ酸配列をコードする核酸配列にそのような修飾を導入する方法は当業者に周知であり；たとえば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（１９８９）Ｎ．Ｙ．及びＡｕｓｕｂｅｌ，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，Ｎ．Ｙ．（１９９４）を参照のこと。本発明の抗体の修飾には、アセチル化、ヒドロキシル化、メチル化、アミド化及び糖部分又は脂質部分、補因子等の結合を含む、側鎖の修飾、主鎖の修飾、及びＮ－末端やＣ－末端の修飾を含む、１以上の構成アミノ酸における化学的な及び／又は酵素的な誘導体化が挙げられる。同様に、本発明は、カルボキシ末端での免疫刺激リガンドのような非相同分子に融合されたアミノ末端での抗体のようなＴＤＰ－４３結合ポリペプチドを含むキメラタンパク質（すなわち、融合タンパク質）の作出を包含する。対応する技術的な詳細については、たとえば、国際出願公開番号ＷＯ００／３０６８０を参照のこと。

【０１５９】

さらに、本発明は、ＴＤＰ－４３と特異的に結合するペプチド及びポリペプチドを包含する。たとえば、重鎖ＣＤＲ３（ＨＣＤＲ３）は程度の大きい変異性及び抗原／抗体相互作用への優勢な関与を有する領域であることが認められることが多いので、言及される抗体のいずれか１つの可変領域のＣＤＲ３領域、特に重鎖のＣＤＲ３を含有すること。そのようなペプチド及びポリペプチドは、容易に合成、あるいは組換え手段によって作出し、本発明のＴＤＰ－４３結合分子を作出することができる。そのような方法は当業者に既知である。ペプチドは、たとえば、市販されている自動ペプチド合成機を用いて合成することができる。ペプチドを発現するＤＮＡを発現ベクターに組み入れ、発現ベクターで細胞を形質転換してペプチドを作出することによる組み換え技術よってもペプチドを作出することができる。従って、本発明は、本明細書で記載されるＴＤＰ－４３結合分子の１以上の特性を提示する抗体（たとえば、抗体のＴＤＰ－４３結合断片）のようなＴＤＰ－４３結合分子に関する。たとえば、そのような抗体及び結合分子は、たとえば、本明細書で記載されるようなＥＬＩＳＡ又はウエスタンブロット及び免疫組織化学によってその結合特異性及び親和性について調べることができる。たとえば、実施例を参照のこと。実施例２で開示されるように、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８７Ｅ７、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、Ｎ

Ｉ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．２０Ａ１、ＮＩ２０５．４１Ｄ１、ＮＩ２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ２０５．９Ｅ１２、ＮＩ２０５．９８Ｈ６、ＮＩ２０５．１０Ｄ３、ＮＩ２０５．４４Ｂ２、ＮＩ２０５．３８Ｈ２、ＮＩ２０５．３６Ｄ５、ＮＩ２０５．５８Ｅ１１、ＮＩ２０５．１４Ｈ５、ＮＩ２０５．３１Ｄ２、ＮＩ２０５．８Ｆ８、ＮＩ２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ２０５．８Ｃ１０、ＮＩ２０５．１０Ｈ７、ＮＩ２０５．１Ａ９、ＮＩ２０５．１４Ｗ３、及びＮＩ２０５．１９Ｇ５の５０％効果濃度（$ＥＣ_{５０}$）は、ヒトＴＤＰ－４３について直接ＥＬＩＳＡによって、中程度以下のナノモル$ＥＣ_{５０}$（０．１８～１７．２ｎＭ）での高い親和性でヒトＴＤＰ－４３と結合することが判定された。

【０１６０】

不死化したＢ細胞又はＢ記憶細胞の培養物から直接免疫グロブリンを得ることの代替として、その後の発現及び／又は遺伝子操作のための再構成された重鎖及び軽鎖の遺伝子座の供給源として不死化した細胞を使用することができる。再構成された抗体遺伝子を適当なｍＲＮＡから逆転写してｃＤＮＡを作出することができる。所望であれば、重鎖定常領域を異なるアイソタイプに交換する又は完全に排除することができる。可変領域を接続して単鎖Ｆｖ領域をコードすることができる。複数のＦｖ領域を接続して１を超える標的への結合能力を付与することができ、又はキメラの重鎖及び軽鎖の組み合わせを採用することができる。遺伝子素材がいったん利用可能になれば、所望の標的と結合する能力を保持する類似体の設計は容易である。抗体の可変領域をクローニングし、組換え抗体を生成する方法は当該技術で既知であり、たとえば、Ｇｉｌｌｉｌａｎｄら、Ｔｉｓｓｕｅ　Ａｎｔｉｇｅｎｓ、４７（１９９６），１－２０；Ｄｏｅｎｅｃｋｅｒら、Ｌｅｕｋｅｍｉａ、１１（１９９７），１７８７－１７９２に記載されている。

【０１６１】

いったん適当な遺伝子素材が得られ、望まれる場合類似体をコードするように修飾されると、最低、重鎖及び軽鎖の可変領域をコードするものを含むコーディング配列を、標準の組換え宿主細胞で形質移入することができるベクターに含有される発現系に挿入することができる。種々のそのような宿主細胞を使用することができるが、効率的な処理には、哺乳類細胞が考慮され得る。この目的に有用な哺乳類の細胞株には、ＣＨＯ細胞、ＨＥＫ２９３細胞又はＮＳＯ細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１６２】

次いで、宿主細胞の増殖及びコーディング配列の発現に適当な培養条件下で修飾された組換え宿主を培養することによって抗体又は類似体の産生に着手する。次いで培養物から抗体を単離することによってそれを回収する。得られた抗体が培地に分泌されるようにシグナルペプチドを含むように発現系が設計されるが、細胞内の産生も可能である。

【０１６３】

上記によれば、本発明はまた、本発明の抗体又は同等の結合分子をコードするポリヌクレオチドにも関する。一実施形態では、ポリヌクレオチドは上述の抗体の免疫グロブリン鎖の少なくとも可変領域をコードする。通常、ポリヌクレオチドにコードされる前記可変領域は前記抗体の可変領域の$Ｖ_{Ｈ}$及び／又は$Ｖ_{Ｌ}$の少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む。

【０１６４】

当業者は、上述の可変ドメインを有する抗体の可変ドメインを所望の特異性及び生物学的機能の他のポリペプチド又は抗体の構築に使用できることを容易に十分に理解するであろう。従って、本発明はまた、上述の可変ドメインの少なくとも１つのＣＤＲを含み、且つ添付の実施例で記載される抗体と実質的に同一の又は類似する結合特性を有利に有するポリペプチド及び抗体も包含する。当該技術で一般に理解されるように、ＣＤＲ内での又はＫａｂａｔによって定義されたＣＤＲと部分的に重複する超可変ループ（Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196 (1987), 901-917）内でのアミノ酸置換を行うことによって結合親和性を高めることができる；たとえば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎら、Ｎａｔｕｒｅ、３３２（１９８８），３２３－３２７を参照のこと。従って、本発明はまた、言及されたＣＤＲの１以上が１以上の又は２以下のアミノ酸置換を含む抗体にも関する。一実施

形態では、本発明の抗体は、免疫グロブリン鎖の一方又は双方にて、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示されるような可変領域の２又は３すべてのＣＤＲを含む。

【０１６５】

本発明の抗体（抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体を含む）は、１以上のエフェクター機能に介在する定常領域を含むことができる。たとえば、抗体定常領域への補体のＣ１成分の結合は補体系を活性化することができる。補体の活性化は細胞病原体のオプソニン化及び溶解において重要である。補体の活性化はまた、炎症反応を刺激し、自己免疫性の過敏症にも関与することができる。さらに、抗体はＦｃ領域を介して種々の細胞上の受容体に結合し、Ｆｃ受容体は、細胞上でのＦｃ受容体（ＦｃＲ）に結合する抗体のＦｃ領域における部位に結合する。ＩｇＧ（ガンマ受容体）、ＩｇＥ（イプシロン受容体）、ＩｇＡ（アルファ受容体）及びＩｇＭ（ミュー受容体）を含む抗体の様々なクラスに特異的である多数のＦｃ受容体がある。細胞表面におけるＦｃ受容体への抗体の結合は、抗体で覆われた粒子の貪食及び破壊、免疫複合体のクリアランス、キラー細胞による抗体コーティング標的細胞の溶解（抗体依存性細胞介在性の細胞傷害性又はＡＤＣＣと呼ばれる）、炎症メディエータの放出、免疫グロブリンの胎盤移行及び免疫グロブリン産生の制御を含む多数の重要で多様な生物反応を引き起こす。

【０１６６】

従って、本発明のある特定の実施形態には、ほぼ同一の免疫原性のすべてを含んだ未変化の抗体と比べた場合、たとえば、低下したエフェクター機能、非共有性に二量体化する能力の低下、ＴＤＰ－４３の会合及び沈着の部位で局在化する高い能力、血清半減期の低下、又は血清半減期の増加のような所望の生化学的な特性を提供するように定常領域ドメインの１以上の分画が置換され、欠失され、又はさもなければ変化させられている抗体（抗体の抗原結合性断片、その変異体又は誘導体を含む）が含まれる。たとえば、本明細書で記載される診断法及び治療法で使用するための特定の抗体は、免疫グロブリン重鎖に類似するポリペプチド鎖を含むが、１以上の重鎖ドメインの少なくとも一部を欠くドメイン欠失抗体である。たとえば、特定の実施形態では、本発明の抗体はＣＨ２ドメインのすべて又は一部のような修飾された抗体の定常領域の完全なドメインを失くしている。他の実施形態では、たとえば、診断法及び治療法で有用な本発明の抗体は、定常領域、たとえば、グリコシル化を排除するように変化させる、本明細書の他ではグリコシル化されていない又は「ａｇｌｙ」抗体と呼ばれるＩｇＧ重鎖定常領域を有する。そのような「ａｇｌｙ」抗体は、酵素的に調製することができ、又は、たとえば、定常領域のコンセンサスグリコシル化部位を操作することを含む当該技術で既知の他の技法によって調製することができる。理論によって束縛されるものではないが、「ａｇｌｙ」抗体は生体内で改善された安全性及び安定性を有することができると考えられている。所望のエフェクター機能を有するグリコシル化されていない抗体を作出する方法は、たとえば、その全体が参照によって本明細書に組み入れられる国際出願公開番号ＷＯ２００５／０１８５７２にて見出される。

【０１６７】

本明細書で記載される抗原結合性の抗体の断片及び変異体を含む特定の抗体では、当該技術で既知の技法を用いてエフェクター機能を低下させるようにＦｃ部分を変異させることができる。たとえば、定常領域ドメインの（点突然変異又は他の手段を介した）欠失又は不活化は、循環している修飾抗体のＦｃ受容体結合を低下させることができ、それによってＴＤＰ－４３の局在を高めることができる。他の場合では、本発明と整合性のある定常領域の修飾は補体結合を抑えるので、血清半減期及び抱合される細胞毒素の非特異的会合を低下させる。定常領域のさらに他の修飾を用いて、高い抗原特異性又は抗体柔軟性により高い局在性を可能にするジスルフィド結合又はオリゴ糖部分を修飾する。たとえば、得られた生理的特性、生体利用効率、及びＴＤＰ－４３の局在、生体分布及び血清半減期のような修飾の他の生化学的な効果は、当該技術で既知の技法を用いて日常的に測定することができる。

【０１６８】

特定の実施形態では、例として、Ｆｃγ受容体、ＬＲＰ又はＴｈｙ１受容体を介した又は危害を加えることなく抗体が生細胞に運ばれるのを可能にすると言われる「スーパー抗体法」による抗体の受容体介在性のエンドサイトーシスを高めることによって抗体の細胞取り込みを高めるように、代わりのタンパク質配列について本発明の抗体のＦｃ部分を変異させる又は交換する（Muller, S., et al., Expert Opin. Biol. Ther. (2005), 237-241）。たとえば、抗体結合領域と細胞表面受容体の同族タンパク質との、又はＴＤＰ－４３ならびに細胞表面受容体に結合する特異的な配列を持つ二重特異性又は多重特異性の抗体との融合タンパク質の生成は、当該技術で既知の技法を用いて操作することができる。

【０１６９】

本明細書で記載される抗原結合性の抗体の断片及び変異体を含む特定の抗体では、脳血管関門の浸透を高めるように、代わりのタンパク質配列についてＦｃ部分を変異させる又は交換することができ、または抗体を化学的に修飾することができる。

【０１７０】

本発明の抗体（たとえば、抗体の抗原結合断片、及びその変異体又は誘導体）の修飾された形態は、当該技術で既知の技法を用いてすべてを含んだ前駆体又は親抗体から作製することができる。例となる技法は本明細書でさらに詳細に論じられる。本明細書で記載される抗原結合抗体断片及び変異体含む本発明の抗体は、当該技術で既知の技法を用いて日常的に作製する又は製造することができる。ある特定の実施形態では、抗体（抗体断片及び変異体含む）は「組換えで作出される」、すなわち、組換えＤＮＡ技術を用いて作出される。抗体を作製するための例となる技法は本明細書の他のどこかでさらに詳細に議論される。

【０１７１】

本発明の抗体（抗体の抗原結合断片、及びその変異体又は誘導体を含む）にはまた、たとえば、共有結合が同族エピトープに抗体が特異的に結合するのを妨げないように抗体に任意の種類の分子を共有結合することによって修飾される誘導体も含まれる。たとえば、しかし、限定するものではなく、抗体の誘導体には、たとえば、既知の保護基／保護基、タンパク分解切断、細胞リガンド又は他のタンパク質への結合等によるグリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、誘導体化によって修飾されている抗体が含まれる。多数の化学修飾のいずれをも、特異的な化学切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成を含むが、これらに限定されない既知の技法によって実施することができる。さらに、誘導体は１以上の非標準のアミノ酸を含有することができる。

【０１７２】

特定の実施形態では、本発明のＴＤＰ－４３結合分子は、治療される動物、たとえば、ヒトにおいて有害な免疫応答を誘発しない抗体（抗原結合断片、その変異体又は誘導体を含む）のようなポリペプチドである。ある特定の実施形態では、本発明の結合分子、たとえば、抗体（抗体の抗原結合断片）は、患者、たとえば、ヒト患者に由来し、それらが由来する同一種、たとえば、ヒトにて実質的に使用されるので、有害な免疫応答の発生を緩和し、できるだけ抑える。

【０１７３】

脱免疫化を用いて抗体の免疫原性を低下させることができる。本明細書で使用されるとき、「脱免疫化」という用語には、Ｔ細胞エピトープを修飾する抗体の変化が含まれる；たとえば、国際出願公開番号ＷＯ９８／５２９７６及びＷＯ００／３４３１７を参照のこと。たとえば、出発抗体のV_H及びV_Lの配列を解析し、各Ｖ領域からのヒトＴ細胞エピトープの「マップ」は、相補性決定領域（ＣＤＲ）及び配列内の他の重要な残基に関連してエピトープの位置を示す。最終抗体の活性を変化させるリスクの低い代わりのアミノ酸置換を特定するために、Ｔ細胞エピトープのマップからの個々のＴ細胞エピトープを解析する。アミノ酸置換の組み合わせを含む代わりのV_H及びV_Lの配列の範囲を設計し、その後、本明細書で開示される診断法及び治療法で使用するために、これらの配列を様々な結合ポリペプチド、たとえば、その免疫特異的な断片を含むＴＤＰ－４３特異的な抗体に

組み入れ、次いで機能について調べる。通常１２～２４の間の変異体抗体が生成され、調べられる。次いで、修飾されたＶ及びヒトのＣ領域を含む完全な重鎖及び軽鎖の遺伝子を発現ベクターにクローニングし、すべてを含む抗体の産生のために、その後のプラスミドを細胞株に導入する。次いで適当な生化学的アッセイ及び生物学的アッセイにて抗体を比較し、最適な変異体を特定する。

【０１７４】

ハイブリドーマの使用、組換え技術及びファージディスプレイ技術、又はそれらの組み合わせを含む当該技術で既知の多種多様な技法を用いてモノクローナル抗体を調製することができる。たとえば、当該技術で既知の及び、たとえば、それぞれその全体が参照によって本明細書に組み入れられるＨａｒｌｏｗら、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，第2版（１９８８）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇら、ｉｎ：Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，５６３－６８１（１９８１）にて教示されるものを含むハイブリドーマ法を用いてモノクローナル抗体を作出することができる。「モノクローナル抗体」という用語は本明細書で使用されるとき、ハイブリドーマ技術を介して作出される抗体に限定されない。「モノクローナル抗体」という用語は、真核クローン、原核クローン又はファージクローンを含む単一の単離されたクローンに由来する抗体を指すのであって、それが作出された方法を指すものではない。従って、「モノクローナル抗体」という用語はハイブリドーマ技術を介して作出される抗体に限定されない。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、本明細書で記載されるように、エプステイン・バーウイルスによる形質転換を介して不死化されているヒトＢ細胞に由来する。明瞭化のために、「モノクローナル抗体」という用語は本明細書で使用されるとき、宿主生物の血漿から単離することができる内因性の抗体を包含しない。

【０１７５】

周知のハイブリドーマ工程（Kohler et al., Nature 256 (1975), 495）では、哺乳類由来の相対的に短命の、又は死すべき運命のリンパ球、たとえば、本明細書で記載されるようなヒト対象に由来するＢ細胞を不死の腫瘍細胞株（たとえば、骨髄腫細胞株）と融合し、こうしてハイブリッド細胞又は「ハイブリドーマ」を作出し、それは、不死であると共にＢ細胞の遺伝的にコードされた抗体を産生することが可能である。得られたハイブリッドは、選抜、希釈、及び単一抗体の形成のための特定の遺伝子を含む各個々の株による再増殖によって分離される。選抜されたハイブリドーマは抗体を産生し、それは、所望の抗原に対して、及び純粋な遺伝的起源を参照して均質であり、「モノクローナル」と称される。

【０１７６】

こうして調製されたハイブリドーマを、融合しなかった親の骨髄腫細胞の増殖及び生存を阻害する１以上の物質を含有する好適な培養培地において播種し、増殖させる。ハイブリドーマを形成し、選抜し、増殖させるための試薬、細胞株及び方法は当該技術で既知である。一般に、所望の抗原に対するモノクローナル抗体の産生についてハイブリドーマ細胞が増殖している培養培地をアッセイする。ハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、たとえば、本明細書で記載されるような免疫沈降、放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）又は酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）のような試験管内のアッセイによって測定される。所望の特異性、親和性及び／又は活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞を特定した後、クローンを限界希釈法によってさらにクローニングし、常法によって増殖させることができる；たとえば、Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，ｐｐ．５９－１０３（１９８６）を参照のこと。ハイブリドーマのサブクローンによって分泌されるモノクローナル抗体は、たとえば、プロテインＡ、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィ、ゲル電気泳動、透析又はアフィニティクロマトグラフィのような従来の精製手順によって培養培地、腹水又は血清から分離することが

できることがさらに十分に理解されるであろう。

【０１７７】

別の実施形態では、顕微操作及び単離されたバリアブル遺伝子によってリンパ球を選択する。たとえば、免疫された哺乳類又は天然の免疫哺乳類、たとえば、ヒトから末梢血単核細胞を単離し、試験管内で約７日間培養することができる。次いで、スクリーニング基準を満たす特定のＩｇＧについてＰＢＭＣ培養をスクリーニングし、陽性ウェルから細胞を単離する。ＦＡＣＳによって又は補体介在性の溶血プラークアッセイにてそれを特定することによって個々のＩｇ産生Ｂ細胞を単離することができる。Ｉｇ産生Ｂ細胞を試験管に顕微操作することができ、たとえば、ＲＴ－ＰＣＲを用いてV_H及びV_L遺伝子を増幅することができる。V_H及びV_L遺伝子を抗体発現ベクターにクローニングし、発現のために細胞（たとえば、真核細胞又は原核細胞）に形質移入することができる。

【０１７８】

或いは、当該技術で既知の技法を用いて又はそれを日常的に改変して、抗体産生細胞株を選抜し、培養することができる。そのような技法は種々の実験室マニュアル及び基本的な出版物に記載されている。この点で、以下に記載されるような本発明での使用に好適な技法は、補足も含めてその全体が参照によって本明細書に組み入れられるＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｃｏｌｉｇａｎら編、Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ－Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９１）に記載されている。

【０１７９】

特定の抗原及び／又はエピトープを認識する抗体断片は当該技術で既知の技法を用いて生成することができる。たとえば、Ｆａｂ及びＦ（ａｂ’）$_2$の断片は、組換えで作出することができ、又はパパイン（Ｆａｂ断片を作出するために）又はペプシン（Ｆ（ａｂ’）$_2$断片を作出するために）のような酵素を用いて免疫グロブリン分子をタンパク分解切断することによって作出することができる。Ｆ（ａｂ’）$_2$断片は、可変領域、軽鎖定常領域及び重鎖のＣＨ１ドメインを含有する。そのような断片は、たとえば、放射性同位元素のような検出試薬に免疫グロブリンの免疫特異的な部分を結合させることを含む免疫診断手順で使用するのに十分である。

【０１８０】

本明細書で記載されるもののような完全ヒト抗体は、ヒト患者の治療上の処置に特に望ましい。本発明のヒト抗体は、たとえば、その年齢のために疾病、たとえば、筋委縮性側索硬化症及び／又は前頭側頭葉変性症を発症するリスクを疑うことができる高齢の健常対象、又は疾病があるが、著しく安定な疾患経過にある患者から単離される。しかしながら、高齢の健常な及び症状のない対象がそれぞれ、より若年の対象よりも定期的に保護的な抗ＴＤＰ－４３抗体を発現させていることを予期するのは良識的ではあるが、後者も同様に供給源として本発明のヒト抗体を得るために使用することができる。免疫系及び免疫応答機能が老年成人よりも効率的であるので、このことは、ＴＤＰ－４３タンパク質症の家族性形態を発現する素養のある若年患者については特に真実である。

【０１８１】

本発明の抗体は、特に、本明細書に記載されるような化学合成又は組換え発現法を含む、抗体の合成についての当該技術で既知の方法によって作出することができる。

【０１８２】

一実施形態では、本発明の抗体、又はその抗原結合性の断片、変異体又は誘導体は、１以上のドメインが部分的に又は全体的に欠失している合成定常領域を含む（「ドメイン欠失抗体」）。ある特定の実施形態では、適合する修飾抗体はＣＨ２ドメイン全体が取り除かれているドメイン欠失の構築物又は変異体（ΔＣＨ２構築物）を含む。他の実施形態については、欠失ドメインに短い接続ペプチドを置換し、可変領域の動きの柔軟性及び自由を提供することができる。当業者は、そのような構築物が抗体の異化速度におけるＣＨ２ドメインの調節特性のために価値があり得ることを十分に理解するであろう。ドメイン欠

失構築物は、ＩｇＧ$_1$ヒト定常ドメインをコードするベクターを用いて導出することができる；たとえば、国際出願ＷＯ０２／０６０９５５及びＷＯ０２／０９６９４８Ａ２を参照のこと。このベクターは、ＣＨ２ドメインを欠失し、ＩｇＧ$_1$定常領域を欠失したドメインを発現する合成ベクターを提供するように操作される。

【０１８３】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体（抗原結合断片、その変異体又は誘導体を含む）は低分子化抗体（ｍｉｎｉｂｏｄｙ）である。低分子化抗体は、当該技術で既知の方法を用いて作製することができる；たとえば、米国特許第５，８３７，８２１号又は国際出願公開番号ＷＯ９４／０９８１７を参照のこと。

【０１８４】

一実施形態では、本発明の抗体（たとえば、抗体の抗原結合断片、その変異体又は誘導体）は、単量体サブユニット間の会合が可能である限り、２、３の又はさらに単一のアミノ酸の欠失又は置換を有する免疫グロブリンの重鎖を含む。たとえば、ＣＨ２ドメインの選択された領域での単一アミノ酸の変異はＦｃ結合を実質的に低減するのに十分であり、それによってＴＤＰ－４３の局在を高めることができる。同様に、調節されるエフェクター機能（たとえば、補体結合）を制御する１以上の定常領域ドメインのその部分を単に欠失することが望ましくあり得る。定常領域のそのような部分的な欠失が、対象の定常領域ドメインの関連する他の望ましい機能をそのままにしながら、抗体の選択された特性（血清半減期）を改善することができる。さらに、上で暗に示したように、開示される抗体の定常領域は、得られる構築物の特性を向上させる１以上のアミノ酸の変異又は置換を介して合成され得る。この点で、修飾抗体の構造及び免疫原性特性を実質的に維持しながら、保存された結合部位（たとえば、Ｆｃ結合）によって提供される活性を妨害することが可能であり得る。さらに他の実施形態は、定常領域への１以上のアミノ酸の付加を含んでエフェクター機能のような所望の特性を向上させ、又は細胞毒素若しくは糖の結合を提供する。そのような実施形態では、選択された定常領域ドメインに由来する特定の配列を挿入する又は複製することが望ましくあり得る。

【０１８５】

本発明はまた、本明細書で記載される抗体（たとえば、Ｖ$_H$領域及び／又はＶ$_L$領域）の変異体（誘導体を含む）を含む、それから本質的に成る、又は成る抗体を提供し、抗体（抗体断片を含む）はＴＤＰ－４３に免疫特異的に結合する。結果的にアミノ酸の置換を生じる部位特異的変異誘発及びＰＣＲが介在する変異誘発を含むが、これらに限定されない、当業者に既知の標準の技法を用いて抗体をコードするヌクレオチド配列に変異を導入することができる。一実施形態では、変異体（誘導体を含む）は、参照のＶ$_H$領域、Ｖ$_H$－ＣＤＲ１、Ｖ$_H$－ＣＤＲ２、Ｖ$_H$－ＣＤＲ３、Ｖ$_L$領域、Ｖ$_L$－ＣＤＲ１、Ｖ$_L$－ＣＤＲ２、又はＶ$_L$－ＣＤＲ３に対して５０未満のアミノ酸置換、４０未満のアミノ酸置換、３０未満のアミノ酸置換、２５未満のアミノ酸置換、２０未満のアミノ酸置換、１５未満のアミノ酸置換、１０未満のアミノ酸置換、５未満のアミノ酸置換、４未満のアミノ酸置換、３未満のアミノ酸置換、又は２未満のアミノ酸置換をコードする。「保存的なアミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の電荷を持つ側鎖を有するアミノ酸残基によって置き換えられるものである。類似の電荷を持つ側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当該技術で定義されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖を持つアミノ酸（たとえば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を持つアミノ酸（たとえば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、電荷のない極性側鎖を持つアミノ酸（たとえば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖を持つアミノ酸（たとえば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、β分岐の側鎖を持つアミノ酸（たとえば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、及び芳香族側鎖を持つアミノ酸（たとえば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が挙げられる。或いは、変異は、たとえば、飽和変異誘発によってコーディング配列のすべて又は一部に沿って無作為に導入することができ、得られた変異体を生物活性についてスクリーニングして活性（たとえ

ば、ＴＤＰ－４３と結合する活性）を保持する変異体を特定することができる。

【０１８６】

たとえば、抗体のフレームワーク領域のみに又はＣＤＲ領域のみに変異を導入することが可能である。導入された変異は、サイレント又は中性のミスセンス変異であることができ、たとえば、抗原に結合する抗体の能力に影響を有さない又はほとんど有さず、実際、一部のそのような変異は何であれ、アミノ酸配列を変化させることはない。この種の変異はコドン使用頻度を最適化する又はハイブリドーマの抗体産生を改善するのに有用であり得る。或いは、中性ではないミスセンス変異は抗原に結合する抗体の能力を変化させることができる。ほとんどのサイレント又は中性のミスセンス変異はフレームワーク領域にあると思われるが、これが絶対的な要件ではないとはいえ、中性ではないミスセンス変異はＣＤＲにあると思われる。当業者は、たとえば、抗原結合活性における改善又は抗体特異性における変化を含む所望の特性について変化した分子を設計し、調べることができる。変異誘発に続いて、所望の特性を提示するタンパク質を日常的に発現させることができ、当該技術で既知の日常的に改変している技法を用いて、コードされたタンパク質の機能及び／又は生物活性（たとえば、ＴＤＰ－４３の少なくとも１つのエピトープに免疫特異的に結合する能力）を測定することができる。

【０１８７】

本発明のＴＤＰ－４３抗体は、ＴＤＰ－４３タンパク質症の生体内又は試験管内のモデルを用いて性状分析することができる。技量のある熟練者は、たとえば、実施例５に記載されるＴＤＰ－４３タンパク質症の動物モデルのいずれか１つの限定されないＴＤＰ－４３タンパク質症のマウスモデルにて性状分析することができることを容易に理解する。Ｗｅｇｏｒｚｅｗｓｋａら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．１０６（２００９），１８８０９－１４；Ｇｕｒｎｅｙら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２６４（１９９４），１７７２－７５；Ｓｈａｎら、Ｎｅｕｒｏｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｌｅｔｔｅｒｓ、４５８（２００９），７０－７４；Ｗｉｌｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ．１０６（２０１０），３８５８－６３；Ｄｕｃｈｅｎ及びＳｔｒｉｃｈ，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｌ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．Ｐｓｙｃｈｉａｔｒｙ、３１（１９６８），５３５－４２；Ｄｅｎｎｉｓ及びＣｉｔｒｏｎ，Ｎｅｕｒｏｓｃｉｅｎｃｅ、１８５（２００９），７４５－５０；Ｓｗａｒｕｐら、Ｂｒａｉｎ、１３４（２０１１），２６１０－２６２６；Ｉｇａｚら、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．１２１（２）：７２６－３８（２０１１）；Ｃａｃｃａｍｏら、Ａｍ．Ｊ．Ｐａｔｈｏｌ．１８０（１）：２９３－３０２（２０１２），Ｃａｎｎｏｎら、Ａｃｔａ．Ｎｅｕｒｏｐａｔｈｏｌ．１２３（６）：８０７－２３（２０１２），Ｃｕｓｔｅｒら、Ｈｕｍ Ｍｏｌ.Ｇｅｎｅｔ．１９（９）：１７４１－５５（２０１０）；並びにＴａｔｏｍら、Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１７（２００９），６０７－６１３。

【０１８８】

技量のある熟練者は、ＴＤＰ－４３タンパク質症の実験モデルが予防状況にて使用され得ること又は治療状況にて使用され得ることを理解する。予防状況では、ＴＤＰ－４３タンパク質症又はその症状の発症に先立って動物の投与が始まる。予防状況では、ＴＤＰ－４３タンパク質症又はその症状の発症を防ぐ、減らす又は遅らせるその能力について本発明の抗ＴＤＰ－４３抗体が評価される。治療状況では、ＴＤＰ－４３タンパク質症又はその症状の発症後に動物の投与が始まる。治療状況では、ＴＤＰ－４３タンパク質症又はその症状を治療する、軽減する又は緩和するその能力について本発明の抗ＴＤＰ－４３抗体が評価される。ＴＤＰ－４３タンパク質症の症状には、実験対象物のニューロン、脳、脊髄、脳脊髄液又は血清における病的ＴＤＰ－４３沈着の蓄積、病的ＴＤＰ－４３の分布、リン酸化されたＴＤＰ－４３又は不溶性ＴＤＰ－４３の分画が挙げられるが、これらに限定されない。技量のある熟練者は、ＴＤＰ－４３タンパク質症の動物モデルにおける陽性の予防又は治療に転帰は、特定の抗ＴＤＰ－４３抗体が実験的モデル生物以外の対象にて予防目的又は治療目的で使用されることができ、たとえば、それを必要とするヒト対象にてＴＤＰ－４３タンパク質症を治療するためにそれを使用することができることを示すこ

とを理解する。

【０１８９】

一実施形態では、本発明の抗ＴＤＰ－４３抗体は、ＴＤＰ－４３タンパク質症のマウスモデル及び相当する対照の野生型マウスに投与することができる。投与される抗体は本発明のマウス化抗体又は本発明のヒト－マウスキメラ抗体である。当該技術で既知の手段、たとえば、腹腔内、頭蓋内、筋肉内、静脈内、皮下、経口、及びエアゾールの投与によって抗ＴＤＰ－４３抗体を投与することができる。実験動物に１、２、３、４、５回以上抗ＴＤＰ－４３抗体又はＰＢＳのような対照組成物を与えることができる。一実施形態では、実験動物は、１又は２回用量の抗ＴＤＰ－４３抗体を投与されるであろう。別の実施形態では、数週間又は数カ月にわたって抗ＴＤＰ－４３抗体が動物に慢性的に投与される。技量のある熟練者は、実験目的に適合する投与計画、たとえば、急性試験用の投与計画、慢性試験用の投与計画、毒性試験用の投与計画、予防試験又は治療試験のための投与計画を容易に設計することができる。たとえば、血清、血液、脳脊髄液、脳組織などであるが、それらに限定されない、実験動物の特定の組織区分における抗ＴＤＰ－４３抗体の存在は、当該技術で周知の方法を用いて立証することができる。一実施形態では、本発明の抗ＴＤＰ－４３抗体は脳血管関門を貫通することが可能である。別の実施形態では、本発明の抗ＴＤＰ－４３抗体はニューロンに侵入することが可能である。技量のある熟練者は、抗ＴＤＰ－４３抗体の用量及び投与回数を調整することによって、実験動物にて所望の抗ＴＤＰ－４３抗体の濃度を維持することができることを理解する。ＴＤＰ－４３タンパク質症モデルにおける本発明の抗ＴＤＰ－４３抗体の効果は治療された動物及び対照動物におけるＴＤＰ－４３のレベル、生化学的な特性又は分布を比較することによって評価することができる。一実施形態では、本発明の抗体は動物モデルの脳又は脊髄におけるＴＤＰ－４３封入体のレベル、量又は濃度を下げることが可能である。抗体は、少なくとも約５％、１０％、２０％、３０％、５０％、７０％、９０％、またはそれ以上、ＴＤＰ－４３封入体のレベル、量又は濃度を下げることができる。別の実施形態では、本発明の抗体は、動物モデルの脳又は脊髄におけるＴＤＰ－４３封入体陽性のニューロンの数及び頻度を、たとえば、少なくとも約５％、１０％、２０％、３０％、５０％、７０％、９０％、またはそれ以上減らすことができる。本発明の抗体の効果は、抗体投与に続くＴＤＰ－４３の分布及び生化学特性を調べることによっても評価することができる。一実施形態では、本発明の抗体は、動物モデルの脳又は脊髄における細胞質ＴＤＰ－４３タンパク質の量又は濃度をたとえば、少なくとも約５％、１０％、２０％、３０％、５０％、７０％、９０％、またはそれ以上減らすことができる。別の実施形態では、本発明の抗体は、動物モデルの脳又は脊髄における神経突起のＴＤＰ－４３タンパク質の量又は濃度をたとえば、少なくとも約５％、１０％、２０％、３０％、５０％、７０％、９０％、またはそれ以上減らすことができる。さらなる実施形態では、本発明の抗体は、動物モデルの脳又は脊髄におけるリン酸化されたＴＤＰ－４３タンパク質の量又は濃度をたとえば、少なくとも約５％、１０％、２０％、３０％、５０％、７０％、９０％、またはそれ以上減らすことができる。リン酸化されたＴＤＰ－４３は、たとえば、ｐ４０３／ｐ４０４及びｐ４０９／ｐ４１０のような病的にリン酸化されたＴＤＰ－４３に特異的な抗体を用いて検出することができる。Ｈａｓｅｇａｗａら、Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ，６４（１）：６０－７０（２００８）。本発明の抗体は、動物モデルの血液、血清又は脳脊髄液におけるＴＤＰ－４３の濃度を、例えば少なくとも約５％、１０％、２０％、３０％、５０％、７０％、９０％、またはそれ以上変化させることができ、たとえば、減らす又は増やすことができる。一実施形態では、増減％は、治療前に存在したレベル、数、頻度、量又は濃度に比べて又は未治療の対象／対照治療された対象に存在するレベル、数、頻度、量又は濃度に比べて相対的である。

【０１９０】

一実施形態では、本発明の抗体は対象におけるＴＤＰ－４３タンパク質症の少なくとも１つの症状の発症を防ぐ又は遅らせることができる。一実施形態では、本発明の抗体は対象におけるＴＤＰ－４３タンパク質症の少なくとも１つの症状を軽減する又は排除するこ

とができる。症状は、病的なＴＤＰ－４３の沈着、リン酸化されたＴＤＰ－４３の沈着又は不溶性ＴＤＰ－４３の沈着の形成であり得る。症状はまた、血清、血液、尿又は脳脊髄液におけるＴＤＰ－４３の存在又は高い濃度若しくは量であることができ、その際、高い濃度又は量は健常対象と比較される。症状は、神経症状、たとえば、変化した条件付け味覚嫌悪、変化した文脈上の恐怖条件付け、記憶の損傷、運動機能の喪失であり得る。一実施形態では、記憶の損傷は２試行Ｙ迷路試験を用いて評価される。一実施形態では、少なくとも１つの症状が少なくとも約５％、１０％、１５％、２０％、３０％、５０％、７０％、又は９０％軽減される。別の実施形態では、２試行Ｙ迷路試験の比率が対照の対象よりも抗体治療された対象で有意に高い。特定の実施形態では、２試行Ｙ迷路試験の比率が少なくとも約５％、１０％、２０％、３０％、５０％、６０％、７０％、８０％又は９０％高められる。別の実施形態では、２試行Ｙ迷路試験の比率が少なくとも約２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍又は２０倍高い。本発明はまた、治療上有効な量の本明細書で記載される抗ＴＤＰ－４３抗体を投与することを含む、それを必要とする対象にてＴＤＰ－４３タンパク質症の少なくとも１つの症状の発症を予防する又は遅らせる方法も提供する。本発明はさらに、治療上有効な量の本明細書で記載される抗ＴＤＰ－４３抗体を投与することを含む、それを必要とする対象にてＴＤＰ－４３タンパク質症の少なくとも１つの症状を軽減する又は排除する方法を提供する。一実施形態では、対象は、トランスジェニックマウスのような、しかし、これらに限定されない実験生物である。一実施形態では、対象はヒトである。

【０１９１】

ＩＩＩ．抗体をコードするポリヌクレオチド

抗体、又は抗原結合断片、その変異体又は誘導体をコードするポリヌクレオチドは未修飾のＲＮＡ若しくはＤＮＡ又は修飾されたＲＮＡ若しくはＤＮＡであり得るポリリボヌクレオチド又はポリデオキシリボヌクレオチドで構成され得る。たとえば、抗体、又は抗原結合断片、その変異体又は誘導体をコードするポリヌクレオチドは、一本鎖及び二本鎖のＤＮＡ、一本鎖及び二本鎖の領域の混合物であるＤＮＡ、一本鎖及び二本鎖のＲＮＡ、一本鎖及び二本鎖の領域の混合物であるＲＮＡ、一本鎖、又はさらに通常では、二本鎖であり得る若しくは一本鎖及び二本鎖の領域の混合物であり得るＤＮＡ及びＲＮＡを含むハイブリッド分子で構成され得る。加えて、抗体、又は抗原結合断片、その変異体又は誘導体をコードするポリヌクレオチドは、ＲＮＡ又はＤＮＡ又はＲＮＡとＤＮＡの双方を含む三本鎖領域で構成され得る。抗体（抗体の抗原結合断片、その変異体又は誘導体を含む）をコードするポリヌクレオチドは、安定性又は他の理由のために修飾された１以上の塩基又は修飾されたＤＮＡ又はＲＮＡの主鎖も含有することができる。「修飾された」塩基には、たとえば、トリチル化塩基及びイノシンのような通常ではない塩基が含まれる。種々の修飾をＤＮＡ及びＲＮＡに対して行うことができるので、「ポリヌクレオチド」は、化学的に、酵素的に又は代謝的に修飾された形態を含む。

【０１９２】

免疫グロブリン（免疫グロブリンの重鎖部分又は軽鎖部分）に由来する非天然の変異体をコードする単離されたポリヌクレオチドは、１以上のアミノ酸の置換、付加又は欠失がコードされたタンパク質に導入されるように、免疫グロブリンをコードするヌクレオチド配列に１以上のヌクレオチドの置換、付加又は欠失を導入することによって創ることができる。変異は、たとえば、部位特異的変異誘発及びＰＣＲが介在する変異誘発のような常法によって導入することができる。一実施形態では、必須ではない１以上のアミノ酸残基の位置にて保存的なアミノ酸の置換を行う。

【０１９３】

ＲＮＡは、たとえば、グアニジニウムイソチオシアネート抽出及び沈殿、その後の遠心又はクロマトグラフィのような常法によって元々のＢ細胞、ハイブリドーマ細胞又は他の形質転換細胞から単離することができる。所望であれば、ｍＲＮＡは、たとえば、オリゴｄＴセルロース上でのクロマトグラフィのような常法を用いて全ＲＮＡから単離することができる。好適な技法は当該技術ではよく知られている。一実施形態では、抗体の軽鎖及

び重鎖をコードするｃＤＮＡは、既知の方法に従って逆転写酵素及びＤＮＡポリメラーゼを用いて同時に又は別々に作製することができる。定常領域のコンセンサスプライマーによって又は公開された重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列に基づくさらに特異的なプライマーによってＰＣＲを開始することができる。上で論じたように、ＰＣＲを用いて抗体の軽鎖及び重鎖をコードするＤＮＡクローンを単離することができる。この場合、コンセンサスプライマー、又はたとえば、ヒト定常領域のプローブのようなさらに大きな相同プローブによってライブラリをスクリーニングすることができる。

【０１９４】

ＤＮＡ、通常、プラスミドＤＮＡは、当該技術で既知の方法を用いて細胞から単離することができ、たとえば、組換えＤＮＡ法に関連する前述の文献にて詳細に示された標準の既知の技法に従って、制限マッピングされ、配列決定される。当然、ＤＮＡは、単離工程又はその後の解析の間の任意の時点で本発明に従って合成であり得る。

【０１９５】

一実施形態では、本発明は、免疫グロブリンの重鎖可変領域（V_H）をコードする核酸を含む、それから本質的に成る、又は成る単離されたポリヌクレオチドを提供するが、その際、重鎖可変領域のＣＤＲの少なくとも１つ又は重鎖可変領域のV_H－ＣＤＲの少なくとも２つは、本明細書で開示される参照重鎖　V_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２又はV_H－ＣＤＲ３のアミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９８％又は９９％同一である。あるいは、V_HのV_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２又はV_H－ＣＤＲ３の領域は、本明細書で開示される参照重鎖　V_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２又はV_H－ＣＤＲ３のアミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９８％又は９９％同一である。従って、この実施形態によれば、本発明の重鎖可変領域は、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示されるポリペプチドに関連するV_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２又はV_H－ＣＤＲ３のポリペプチド配列を有する。一実施形態では、参照V_H－ＣＤＲ１のアミノ酸配列は、配列番号３、１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０又は２６８であり；参照V_H－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は、配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１又は２６９であり；参照V_H－ＣＤＲ３のアミノ酸配列は、配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２又は２７０である。一実施形態では、本発明は、免疫グロブリンの重鎖可変領域（V_H）をコードする核酸を含む、それから本質的に成る、又は成る単離されたポリヌクレオチドを提供するが、その際、V_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２又はV_H－ＣＤＲ３の領域は、V_H－ＣＤＲの任意の１つにおける１、２、３、４、５、６、７、８、９又は１０のアミノ酸置換を除いて、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示されるV_H－ＣＤＲ１、V_H－ＣＤＲ２又はV_H－ＣＤＲ３の群のポリペプチド配列を有する。特定の実施形態では、アミノ酸置換は保存的である。一実施形態では、V_H－ＣＤＲ１のアミノ酸配列は、配列番号３、１１、１９、２８、３７、４６、５４、６２、７０、７９、８８、１３１、１３９、１４７、１５６、１６４、１７２、１８０、１８８、１９６、２０４、２１２、２２０、２２８、２３６、２４４、２５２、２６０又は２６８であり；V_H－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は、配列番号４、１２、２０、２９、３８、４７、５５、６３、７１、８０、８９、１３２、１４０、１４８、１５７、１６５、１７３、１８１、１８９、１９７、２０５、２１３、２２１、２２９、２３７、２４５、２５３、２６１又は２６９であり；V_H－ＣＤＲ３のアミノ酸配列は、配列番号５、１３、２１、３０、３９、４８、５６、６４、７２、８１、９０、１３３、１４１、１４９、１５８、１６６、１７４、１８２、１９０、１９８、２０６、２１４、２２２、２３０、２３８、２４６、２５４、２６２又は２７０である。

【０１９６】
別の実施形態では、本発明は、免疫グロブリンの軽鎖可変領域（V_L）をコードする核酸を含む、それから本質的に成る、又は成る単離されたポリヌクレオチドを提供するが、その際、軽鎖可変領域のV_L－ＣＤＲの少なくとも１つ又は軽鎖可変領域のV_L－ＣＤＲの少なくとも２つは、本明細書で開示される参照軽鎖　V_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２又はV_L－ＣＤＲ３のアミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９８％又は９９％同一である。あるいは、V_LのV_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２又はV_L－ＣＤＲ３の領域は、本明細書で開示される参照軽鎖V_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２又はV_L－ＣＤＲ３のアミノ酸配列と少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９８％又は９９％同一である。従って、この実施形態によれば、本発明の軽鎖可変領域は、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示されるポリペプチドに関連するV_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２又はV_L－ＣＤＲ３のポリペプチド配列を有する。一実施形態では、参照V_L－ＣＤＲ１のアミノ酸配列は、配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２又は３２６であり；参照V_L－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は、配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３又は３２７であり；参照V_L－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は、配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４又は３２８である。

【０１９７】
別の実施形態では、本発明は、免疫グロブリンの重鎖可変領域（V_L）をコードする核酸を含む、それから本質的に成る、又は成る単離されたポリヌクレオチドを提供するが、その際、V_L－ＣＤＲ１、V_L－ＣＤＲ２又はV_L－ＣＤＲ３の領域は、V_L－ＣＤＲの任意の１つにおける１、２、３、４、５、６、７、８、９又は１０のアミノ酸置換を除いて、図１Ａ～１Ｋ及び３Ａ～３Ｒに示されるＶＬ－ＣＤＲ１、ＶＬ－ＣＤＲ２又はＶＬ－ＣＤＲ３の群のポリペプチド配列を有する。ある特定の実施形態では、アミノ酸置換は保存的である。一実施形態では、ＶＬ－ＣＤＲ１のアミノ酸配列は、配列番号７、１５、２３、３２、４２、５０、５８、６６、７４、８４、９１、１３５、１４３、１５２、１６０、１６８、１７６、１８４、１９２、２００、２０８、２１６、２２４、２３２、２４０、２４８、２５６、２６４、２７２又は３２６であり；ＶＬ－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は、配列番号８、１６、２４、３３、４３、５１、５９、６７、７５、８５、９２、１３６、１４４、１５３、１６１、１６９、１７７、１８５、１９３、２０１、２０９、２１７、２２５、２３３、２４１、２４９、２５７、２６５、２７３又は３２７であり；ＶＬ－ＣＤＲ２のアミノ酸配列は、配列番号９、１７、２５、３４、４４、５２、６０、６８、７６、８６、９３、１３７、１４５、１５４、１６２、１７０、１７８、１８６、１９４、２０２、２１０、２１８、２２６、２３４、２４２、２５０、２５８、２６６、２７４又は３２８である。

【０１９８】
当該技術で知られるように、２つのポリペプチド間又は２つのポリヌクレオチド間の「配列同一性」は、一方のポリペプチド又はポリヌクレオチドのアミノ酸配列又は核酸配列を第２のポリペプチド又はポリヌクレオチドの配列と比較することによって決定される。本明細書で考察する場合、特定のポリペプチドが別のポリペプチドと少なくとも約４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％又は９５％同一であるかどうかは、たとえば、ＢＥＳＴＦＩＴプログラム（ウィスコンシン州５３７１１、サイエンス通り５７５、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｐａｒｋ、Ｕｎｉｘ（登録商標），Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　Ｃｏｍｐｕｔｅｒ　Ｇｒｏｕｐのた

めのウィスコンシン配列解析パッケージ、バージョン８）に限定されない当該技術で既知の方法及びコンピュータプログラム／ソフトウエアを用いて決定することができる。ＢＥＳＴＦＩＴは、Ｓｍｉｔｈ及びＷａｔｅｒｍａｎのＡｄｖａｎｃｅｓ　ｉｎ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｍａｔｈｅｍａｔｉｃｓ、２（１９８１），４８２－４８９のローカル相同性アルゴリズムを用いて、２つの配列間の相同性の最良の断片を見つけ出す。ＢＥＳＴＦＩＴ又は他の配列配置プログラムを用いて特定の配列が本発明に係る参照配列と、たとえば、９５％同一であるかどうかを判定する場合、パラメータは当然、同一性の比率が参照ポリペプチド配列の完全長にわたって算出され、参照配列におけるアミノ酸の総数の５％までの相同性におけるギャップが許されるように設定される。

【０１９９】

本発明の一実施形態では、ポリヌクレオチドは、表３に列記されるＴＤＰ－４３に結合する抗体のV_H又はV_Lの領域のポリヌクレオチド配列を有する核酸を含む、それから本質的に成る、又は成る。この点で、当業者は、軽鎖及び／又は重鎖の少なくとも可変ドメインをコードするポリヌクレオチドは免疫グロブリン鎖の双方の又は一方だけの可変ドメインをコードすることができることを容易に十分に理解するであろう。

【０２００】

【表３－１】

表３．ＴＤＰ－４３に特異的な抗体のV_H及びV_L領域のヌクレオチド配列

抗体	可変領域（V_H）及び可変領域（V_L）の鎖のヌクレオチド配列	
NI-205.3F10	V_H	配列番号 95
	V_L	配列番号 96
NI-205.51C1	V_H	配列番号 97
	V_L	配列番号 98
NI-205.21G2	V_H	配列番号 99
	V_L	配列番号 100
NI-205.8A2	V_H	配列番号 101
	V_L	配列番号 102
NI-205.15F12	V_H	配列番号 103
	V_L	配列番号 104
NI-205.113C4	V_H	配列番号 105
	V_L	配列番号 106
NI-205.25F3	V_H	配列番号 107
	V_L	配列番号 108
NI-205.87E7	V_H	配列番号 109
	V_L	配列番号 110
NI-205.21G1	V_H	配列番号 111

【表３－２】

抗体	可変領域（V_H）及び可変領域（V_L）の鎖のヌクレオチド配列	
	V_L	配列番号 112
NI-205.68G5	V_H	配列番号 113
	V_L	配列番号 114
NI-205.20A1	V_H	配列番号 115
	V_L	配列番号 116
NI205.41D1	V_H	配列番号 275
	V_L	配列番号 276
NI205.29E11	V_H	配列番号 277
	V_L	配列番号 278
NI205.9E12	V_H	配列番号 279
	V_L	配列番号 280
	V_L	配列番号 281
NI205.98H6	V_H	配列番号 282
	V_L	配列番号 283
NI205.10D3	V_H	配列番号 284
	V_L	配列番号 285
NI205.44B22	V_H	配列番号 286
	V_L	配列番号 287
NI205.38H2	V_H	配列番号 288
	V_L	配列番号 289
NI205.36D5	V_H	配列番号 290
	V_L	配列番号 291
NI205.58E11	V_H	配列番号 292
	V_L	配列番号 293
NI205.14H5	V_H	配列番号 294
	V_L	配列番号 295
NI205.31D2	V_H	配列番号 296

【表３－３】

抗体	可変領域（V_H）及び可変領域（V_L）の鎖のヌクレオチド配列	
	V_L	配列番号 297
NI205.8F8	V_H	配列番号 298
	V_L	配列番号 299
NI205.31C11	V_H	配列番号 300
	V_L	配列番号 301
NI205.8C10	V_H	配列番号 302
	V_L	配列番号 303
NI205.10H7	V_H	配列番号 304
	V_L	配列番号 305
NI205.1A9	V_H	配列番号 306
	V_L	配列番号 307
NI205.14W3	V_H	配列番号 308
	V_L	配列番号 309
NI205.19G5	V_H	配列番号 310
	V_L	配列番号 310

【０２０１】
一実施形態では、本発明は、参照重鎖V_Hと少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９８％、又は９９％又は９５％同一である免疫グロブリン重鎖可変領域をコードする核酸を含む、それから本質的に成る、又は成る単離されたポリヌクレオチドを提供する。一実施形態では、参照の重鎖可変領域のアミノ酸配列は、配列番号１、１０、１８、２６、３５、４５、５３、６１、６９、７７、８７、１３０、１３８、１４６、１５５、１６３、１７１、１７９、１８７、１９５、２０３、２１１、２１９、２２７、２３５、２４３、２５１、２５９、又は２６７である。
【０２０２】
一実施形態では、本発明は、参照軽鎖V_Lと少なくとも８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９８％、又は９９％又は９５％同一である免疫グロブリン軽鎖可変領域をコードする核酸を含む、それから本質的に成る、又は成る単離されたポリヌクレオチドを提供する。一実施形態では、参照軽鎖可変領域のアミノ酸配列は、配列番号６、１４、２２、３１、４０、４９、５７、６５、７３、８２、１２２、１３４、１４２、１５０、１５１、１５９、１６７、１７５、１８３、１９１、１９９、２０７、２１５、２２３、２３１、２３９、２４７、２５５、２６３、又は２７１である。
【０２０３】
本発明はまた、本発明のポリヌクレオチドの断片も含む。好ましくは、ポリヌクレオチドはＴＤＰ－４３と結合するポリペプチドをコードする。さらに、本明細書で記載されるような融合ポリヌクレオチド、Ｆａｂ断片及び他の誘導体をコードするポリヌクレオチド

も本発明によって包含される。

【０２０４】

当該技術で既知の適当な方法によってポリヌクレオチドを作出する又は製造することができる。たとえば、抗体のヌクレオチド配列が知られているのであれば、たとえば、Ｋｕｔｍｅｉｅｒら、ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、１７（１９９４），２４２に記載されるような化学的に合成されたオリゴヌクレオチドから抗体をコードするポリヌクレオチドを組み立てることができ、それには手短に、抗体をコードする配列の一部を含有する重複するオリゴヌクレオチドの合成、それらオリゴヌクレオチドのアニーリングと連結、次いで連結されたオリゴヌクレオチドのＰＣＲによる増幅が関与する。

【０２０５】

或いは、抗体（抗体の抗原結合性の断片又はその誘導体又は変異体を含む）は、好適な供給源に由来する核酸から生成することができる。特定の抗体をコードする核酸を含有するクローンが利用可能ではないが、抗体の配列が知られている場合、抗体をコードする核酸は、化学的に合成することができ、又は配列の３’及び５’末端にハイブリッド形成する合成プライマーを用いたＰＣＲ増幅によって若しくは特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを用いてクローニングして、たとえば、抗体をコードするｃＤＮＡライブラリからｃＤＮＡを特定することによって、好適な供給源（たとえば、抗体を発現するように選抜されたハイブリドーマのようなＴＤＰ－４３に特異的な抗体を発現している組織又は細胞から生成される抗体ｃＤＮＡライブラリ又はｃＤＮＡライブラリ、又はそれから単離される核酸、好ましくはポリＡ$^{+}$ＲＮＡ）から得ることができる。次いで当該技術で既知の方法を用いて、ＰＣＲによって生成される増幅された核酸を複製可能なクローニングベクターにクローニングすることができる。

【０２０６】

抗体、又は抗原結合断片、その変異体又は誘導体のヌクレオチド配列及び相当するアミノ酸配列がいったん決定されると、ヌクレオチド配列の操作についての当該技術で既知の方法、たとえば、組換えＤＮＡ法、部位特異的変異誘発、ＰＣＲ等（たとえば、その内容が全体として参照によって本明細書に組み入れられるＳａｍｂｒｏｏｋら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，第２版、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．（１９９０）及びＡｕｓｕｂｅｌら編、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，ＮＹ（１９９８）に記載された技法を参照のこと）用いてそのヌクレオチド配列を操作し、異なるアミノ酸配列を有する抗体を生成することができ、たとえば、アミノ酸の置換、欠失及び／又は挿入を創ることができる。

【０２０７】

ＩＶ．抗体ポリペプチドの発現

本発明の抗体（抗体の抗原結合性の断片及びその変異体又は誘導体を含む）を提供するための単離された遺伝素材の操作に続いて、抗体をコードするポリヌクレオチドは通常、所望の量の抗体を産生するのに使用することができる宿主細胞への導入のために発現ベクターに挿入される。抗体、又はその断片、誘導体又は類似体、たとえば、標的分子に結合する抗体の重鎖又は軽鎖の組換え発現が本明細書で記載される。本発明の抗体又は抗体の重鎖若しくは軽鎖又はその一部（好ましくは重鎖又は軽鎖の可変ドメインを含有する）をコードするポリヌクレオチドがいったん得られると、当該技術で既知の技法を用いた組換えＤＮＡ法によって抗体産生にためのベクターを作出することができる。従って、抗体をコードするヌクレオチド配列を含有するポリヌクレオチドを発現させることによってタンパク質を調製する方法が本明細書で記載される。当業者に既知の方法を用いて抗体をコードする配列及び適当な転写及び翻訳の制御シグナルを含有する発現ベクターを構築することができる。これらの方法には、たとえば、試験管内の組換えＤＮＡ法、合成法、及び生体内の遺伝子組換えが挙げられる。こうして本発明は、プロモータに操作可能に連結された本発明の抗体又はその重鎖若しくは軽鎖、又は重鎖若しくは軽鎖の可変ドメインをコー

ドするヌクレオチド配列を含む複製可能なベクターを提供する。そのようなベクターは、抗体の定常領域をコードするヌクレオチド配列（たとえば、国際出願公開番号ＷＯ８６／０５８０７及び米国特許第５，１２２，４６４号を参照）を含むことができ、抗体の可変ドメインは、重鎖又は軽鎖全体を発現するために、そのようなベクターにクローニングすることができる。

【０２０８】

「ベクター」又は「発現ベクター」という用語は、宿主細胞に所望の遺伝子を導入し、そこではそれを発現させるための媒体として本発明に従って使用されるベクターを意味するように本明細書で使用される。当該技術で知られるように、そのようなベクターは、プラスミド、ファージ、ウイルス及びレトロウイルスから成る群から容易に選択することができる。一般に、本発明に適合するベクターは、選抜マーカー、所望の遺伝子のクローニングを円滑にする制限部位及び真核細胞又は原核細胞に侵入し及び／又はそこで複製する能力を含むであろう。本発明の目的のために多数の発現ベクター系を採用することができる。たとえば、ベクターのクラスの１つは、たとえば、ウシパピローマウイルス、ポリオーマウイルス、アデノウイルス、ワクシニアウイルス、バキュロウイルス、レトロウイルス（ＲＳＶ、ＭＭＴＶ又はＭＯＭＬＶ）又はＳＶ４０ウイルスのような動物ウイルスに由来するＤＮＡ要素を利用する。他には内部リボソーム結合部位を持つポリシストロン系の使用が関与する。さらに、形質移入された宿主細胞の選抜を可能にする１以上のマーカーを導入することによって染色体にＤＮＡを統合している細胞を選抜することができる。マーカーは、栄養要求性の宿主に対して原栄養性、殺生物剤耐性（たとえば、抗生剤）又は銅のような重金属に対する耐性を提供する。選抜可能なマーカーは、発現されるＤＮＡ配列に直接連結することができるか、又は同時形質転換によって同一細胞に導入することができる。ｍＲＮＡの最適な合成のために追加の要素が必要とされ得る。これらの要素には、シグナル配列、スプライスシグナルと同様に転写プロモータ、エンハンサ及び終結シグナルを挙げることができる。

【０２０９】

特定の実施形態では、上で論じたように重鎖及び軽鎖定常領域をコードする配列（たとえば、ヒトの重鎖又は軽鎖定常領域の遺伝子）と共に、クローニングされた可変領域の遺伝子を発現ベクターに挿入する。一実施形態では、米国特許第６，１５９，７３０号にて開示されるＮＥＯＳＰＬＡと呼ばれるＢｉｏｇｅｎ　ＩＤＥＣ社の所有権のある発現ベクターを用いてこれが達成される。このベクターは、サイトメガロウイルスのプロモータ／エンハンサ、マウスのβグロビン主要プロモータ、ＳＶ４０の複製開始点、ウシ成長ホルモンのポリアデニル化配列、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼのエクソン１とエクソン２、ジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子及びリーダー配列を含有する。このベクターは、可変領域遺伝子及び定常領域遺伝子の組み入れ、ＣＨＯ細胞での形質移入、その後のＧ４１８含有培地での選抜及びメソトレキセート増幅の際、抗体の非常に高いレベルの発現を生じることが見い出されている。当然、真核細胞における発現を引き出すことができる、いかなる発現ベクターをも本発明で使用することができる。好適なベクターの例には、プラスミドｐｃＤＮＡ３、ｐＨＣＭＶ／Ｚｅｏ、ｐＣＲ３．１、ｐＥＦ１／Ｈｉｓ、ｐＩＮＤ／ＧＳ、ｐＲｃ／ＨＣＭＶ２、ｐＳＶ４０／Ｚｅｏ２、ｐＴＲＡＣＥＲ－ＨＣＭＶ、ｐＵＢ６／Ｖ５－Ｈｉｓ、ｐＶＡＸ１、及びｐＺｅｏＳＶ２（カリフォルニア州、サンディエゴのＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎから入手可能）、及びプラスミドｐＣＩ（ウィスコンシン州、マジソンのＰｒｏｍｅｇａから入手可能）が挙げられるが、これらに限定されない。一般に、好適に高いレベルの免疫グロブリンの重鎖及び軽鎖を発現するものについて多数の形質転換細胞をスクリーニングすることは、たとえば、ロボット系によって実施することができる日常の実験である。ベクター系はまた、それぞれその全体が参照によって本明細書に組み入れられる米国特許第５，７３６，１３７号及び同第５，６５８，５７０号にて教示されている。この系は高い発現レベル、たとえば、３０ｐｇ／細胞／日超を提供する。他の例となるベクター系はたとえば、米国特許第６，４１３，７７７号にて開示されている。

【０２１０】
他の実施形態では、本発明の抗体（たとえば、抗体の抗原結合性の断片及びその変異体又は誘導体）は、米国特許出願公開番号２００３－０１５７６４１Ａ１にて開示され、その全体が参照によって本明細書に組み入れられるポリシストロン構築物を用いて発現することができる。これらの発現系では、抗体の重鎖及び軽鎖のような複数の当該遺伝子産物が単一のポリシストロン構築物から作出され得る。これらの系は内部リボソーム侵入部位（ＩＲＥＳ）を有利に用いて相対的に高いレベルの抗体を提供する。適合するＩＲＥＳ配列は、本明細書に組み入れられる米国特許第６，１９３，９８０号にて開示されている。当業者は、そのような発現系を用いて本出願で開示される、すべての抗体を効果的に作出することができることを十分に理解するであろう。

【０２１１】
さらに一般的には、抗体の単量体サブユニットをコードするベクター又はＤＮＡ配列がいったん調製されると、発現ベクターを適切な宿主細胞に導入することができる。プラスミドの宿主細胞への導入は、当業者に既知の種々の技法によって達成することができる。これらには、たとえば、Ｆｕｇｅｎｅ又はリポフェクトアミンを用いたリポ形質移入、原形質融合、リン酸カルシウム沈殿、エンベロープＤＮＡとの細胞融合、微量注入、及び無傷のウイルスによる感染を含む形質移入が挙げられるが、これらに限定されない。通常、宿主へのプラスミドの導入は、当該技術で既知の常法、たとえば、リン酸カルシウム共沈殿を介する。発現構築物を抱く宿主細胞を軽鎖及び重鎖の産生に適する条件下で増殖させ、重鎖及び／又は軽鎖のタンパク質合成についてアッセイする。非限定の例となるアッセイ法には、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）又は蛍光活性化細胞ソーター解析（ＦＡＣＳ）及び免疫組織化学が挙げられる。

【０２１２】
発現ベクターを従来の技法によって宿主細胞に移し、次いで、形質移入された細胞を従来に技法によって培養して本明細書で記載される方法で使用するための抗体を作出する。従って、本発明には、非相同のプロモータに操作可能に連結された本発明の抗体又はその重鎖若しくは軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含有する宿主細胞が含まれる。二本鎖抗体の発現のための特定の実施形態では、以下に詳述されるように、免疫グロブリン分子全体を発現するための宿主細胞にて重鎖及び軽鎖の双方をコードするベクターを同時発現させることができる。

【０２１３】
本発明の２つの発現ベクターによって宿主細胞に同時形質移入することができ、第１のベクターは重鎖由来のポリペプチドをコードし、第２のベクターは軽鎖由来のポリペプチドをコードする。２つのベクターは重鎖と軽鎖のポリペプチドの同等の発現を可能にする同一の選択可能なマーカーを含有することができる。或いは、重鎖と軽鎖のポリペプチド双方をコードする単一のベクターを使用することができる。そのような状況では、過剰な毒性の遊離の重鎖を回避するために重鎖の前に軽鎖を有利に置く；Ｐｒｏｕｄｆｏｏｔ，Ｎａｔｕｒｅ、３２２（１９８６），５２；Ｋｏｈｌｅｒ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、７７（１９８０），２１９７を参照のこと。重鎖及び軽鎖のコーディング配列はｃＤＮＡ又はゲノムＤＮＡを含むことができる。

【０２１４】
本明細書で使用されるとき、「宿主細胞」は、組換えＤＮＡ法を用いて構築され、少なくとも１以上の遺伝子をコードするベクターを抱く細胞を指す。組換え宿主からの抗体の単離についての工程の記載では、「細胞」及び「細胞培養物」という用語は相互交換可能に使用されて、明瞭に特定されない限り、抗体の供給源を示す。言い換えれば、「細胞」からのポリペプチドの回収は、全細胞の遠心から又は培地及び浮遊細胞の双方を含有する培養物からのいずれかを意味する。

【０２１５】
種々の宿主／発現ベクター系を利用して本明細書で記載される方法で使用するための抗体を発現させることができる。そのような宿主／発現ベクター系は、それによって当該コ

ーディング配列が作出され、その後精製される媒体を表すが、適当なヌクレオチドコーディング配列で形質転換される又は形質移入される場合、その場で本発明の抗体を発現することができる細胞も表す。これらには、抗体のコーディング配列を含有する組換えバクテリオファージＤＮＡ、プラスミドＤＮＡ又はコスミドＤＮＡの発現ベクターで形質転換された細菌（たとえば、Ｅ．ｃｏｌｉ，Ｂ．ｓｕｂｔｉｌｉｓ）；抗体のコーディング配列を含有する組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（たとえば、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ，Ｐｉｃｈｉａ）；抗体のコーディング配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（たとえば、バキュロウイルス）を感染させた昆虫細胞系；抗体のコーディング配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（たとえば、カリフラワーモザイクウイルスＣａＭＶ、タバコモザイクウイルスＴＭＶ）を感染させた、又は抗体のコーディング配列を含有する組換えプラスミド発現ベクター（たとえば、Ｔｉプラスミド）で形質転換された植物細胞系；又は、哺乳類細胞のゲノムに由来する（たとえば、メタロチオネインプロモータ）又は哺乳類ウイルス（たとえば、アデノウイルス後期プロモータ、ワクシニアウイルス７．５Ｋプロモータ）に由来するプロモータを含有する組換え発現構築物を抱く哺乳類細胞系（たとえば、ＣＯＳ、ＣＨＯ、ＮＳＯ、ＢＬＫ、２９３、３Ｔ３細胞）が挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態では、特に全長組換え抗体の発現用の大腸菌細胞のような細菌細胞、及び真核細胞を組換え抗体の発現に使用する。たとえば、ヒトのサイトメガロウイルスに由来する主要最初期遺伝子プロモータ要素のようなベクターと併せたチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞のような哺乳類細胞は、抗体のための有効な発現系である。たとえば、Ｆｏｅｃｋｉｎｇら、Ｇｅｎｅ、４５（１９８６），１０１；Ｃｏｃｋｅｔｔら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、８（１９９０），２を参照のこと。

【０２１６】

本発明のＴＤＰ－４３結合分子のタンパク質発現に使用される宿主細胞株には、たとえば、哺乳類起源の細胞が含まれ；当業者は、その中で発現される所望の遺伝子産物に最適である特定の宿主細胞を決定する能力を有する。例となる宿主細胞株には、ＣＨＯ（チャイニーズハムスター卵巣）、ＤＧ４４及びＤＵＸＢ１１（チャイニーズハムスター卵巣株、ＤＨＦＲマイナス）、ＨＥＬＡ（ヒト子宮頸癌）、ＣＶＩ（サル腎臓株）、ＣＯＳ（ＳＶ４０のＴ抗原を持つＣＶＩの誘導体）、ＶＥＲＹ、ＢＨＫ（幼若ハムスター腎臓）、ＭＤＣＫ、ＷＩ３８、Ｒ１６１０（チャイニーズハムスター線維芽細胞）ＢＡＬＢＣ／３Ｔ３（マウス線維芽細胞）、ＨＡＫ（ハムスター腎臓株）、ＳＰ２／Ｏ（マウス骨髄腫）、Ｐ３ｘ６３－Ａｇ３．６５３（マウス骨髄腫）、ＢＦＡ－１ｃ１ＢＰＴ（ウシ内皮細胞）、ＲＡＪＩ（ヒトリンパ球）及び２９３（ヒト腎臓）が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、宿主細胞株はＣＨＯ細胞又は２９３細胞である。宿主細胞株は容易に入手可能であり、通常、米国組織培養コレクション（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ）のような商業的サービス又は公開された文献から入手可能である。

【０２１７】

加えて、挿入された配列の発現を調節する又は所望の特定の方式で遺伝子産物を修飾し、処理する宿主細胞の株を選択することができる。タンパク質産物のそのような修飾（たとえば、グリコシル化）及び処理（たとえば、切断）はタンパク質の機能に重要であり得る。異なる宿主細胞はタンパク質及び遺伝子産物の翻訳後の処理及び修飾について特徴的で特異的なメカニズムを有する。適当な細胞株又は宿主系を選択して発現される異種タンパク質の正しい修飾及び処理を確実にする。この目的で、一次転写物の適正なプロセッシング、遺伝子産物のグリコシル化及びリン酸化についての細胞機構を持つ真核宿主細胞を使用することができる。

【０２１８】

長期にわたる、組換えタンパク質の高い収率、好適な発現が好まれる。たとえば、抗体を安定して発現する細胞株を操作することができる。ウイルスの複製開始点を含有する発現ベクターを用いるのではなく、適当な発現制御要素（たとえば、プロモータ、エンハン

サ、転写ターミネータ、ポリアデニル化部位等）によって制御されたＤＮＡと選抜可能なマーカーによって宿主細胞を形質転換することができる。異種ＤＮＡの導入に続いて、操作した細胞を強化培地で１～２日間培養し、次いで選抜培地に交換する。組換えプラスミドにおける選抜可能なマーカーは、選抜に対する耐性を付与し、細胞がその染色体にプラスミドを統合し、順にクローニングし、細胞株に増殖させる巣状物を形成するように増殖するのを可能にする。この方法を有利に用いて安定に抗体を発現する細胞株を操作することができる。

【０２１９】

以下を含むが、これに限定されない多数の選抜系を本発明に従って使用することができ：単純性ヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ（Wigler et al., Cell 11 (1977), 223）、ヒポキサンチン／グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(Szybalska & Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48 (1992), 202)）及びアデノシンホスホリボシルトランスフェラーゼ(Lowy et al., Cell 22 (1980), 817)は、それぞれ、ｔｋ細胞、ｈｇｐｒｔ細胞又はａｐｒｔ細胞にて採用することができる。また、以下の遺伝子、メソトレキセートに対する耐性を付与するｄｈｆｒ(Wigler et al., Natl. Acad. Sci. USA 77 (1980), 357; O'Hare et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (1981), 1527); ミコフェノール酸に対する耐性を付与するｇｐｔ(Mulligan & Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (1981), 2072); アミノグリコシドＧ４１８に対する耐性を付与するｎｅｏ（Goldspiel et al., Clinical Pharmacy 12 (1993), 488-505; Wu and Wu, Biotherapy 3 (1991), 87-95; Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32 (1993), 573-596; Mulligan, Science 260 (1993), 926-932; and Morgan and Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62 (1993), 191-217; TIB TECH 11 (1993), 155-215）; 及びハイグロマイシンに対する耐性を付与するｈｙｇｒｏ，(Santerre et al., Gene 30 (1984), 147）についての選抜の基礎として抗代謝体耐性を使用することができる。使用することができる組換えＤＮＡ法の当該技術で既知である方法は、それぞれそ全体が参照によって本明細書に組み入れられる、Ａｕｓｕｂｅｌら（編），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ & Ｓｏｎｓ，ＮＹ（１９９３）；Ｋｒｉｅｇｌｅｒ，Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ ａｎｄ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ（１９９０）；並びにｉｎ Ｃｈａｐｔｅｒｓ １２及び１３，Ｄｒａｃｏｐｏｌｉら、（編），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ & Ｓｏｎｓ，ＮＹ（１９９４）；Ｃｏｌｂｅｒｒｅ－Ｇａｒａｐｉｎら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５０：１（１９８１）に記載されている。

【０２２０】

たとえば、ベクターの増幅によるものを含む当該技術で既知の技法を用いて抗体の発現レベルを高めることができる；たとえば、Ｂｅｂｂｉｎｇｔｏｎ及びＨｅｎｔｓｃｈｅｌ，Ｔｈｅ ｕｓｅ ｏｆ ｖｅｃｔｏｒｓ ｂａｓｅｄ ｏｎ ｇｅｎｅ ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｆｏｒ ｔｈｅ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ｃｌｏｎｅｄ ｇｅｎｅｓ ｉｎ ｍａｍｍａｌｉａｎ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ＤＮＡ ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｖｏｌ．３．（１９８７）を参照のこと。抗体を発現するベクター系におけるマーカーが増幅可能である場合、宿主細胞の培養物に存在する阻害剤のレベルの上昇はマーカー遺伝子のコピー数を高めるであろう。増幅された領域が抗体遺伝子と関係するので、抗体の産生も高まるであろう；Ｃｒｏｕｓｅら、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．３（１９８３），２５７を参照のこと。

【０２２１】

試験管内の生産は大量の所望のポリペプチドを提供するように規模拡大を可能にする。組織培養条件下での哺乳類細胞培養の技法は当該技術で既知であり、それには、たとえば、気泡ポンプ反応器若しくは連続撹拌反応器における均質浮遊培養、又はたとえば、中空繊維、マイクロカプセル、若しくはアガロースマイクロビーズ若しくはセラミックカート

リッジにおける不動化された若しくは捕捉された細胞の培養が挙げられる。必要に応じて及び／又は所望であれば、ポリペプチドの溶液を、たとえば、合成ヒンジ領域ポリペプチドの優先的な生合成の後での、又は本明細書で記載されるＨＩＣクロマトグラフィステップに先立って又はそれに続いての慣行のクロマトグラフィ法、たとえば、ゲル濾過、イオン交換クロマトグラフィ、ＤＥＡＥセルロース上でのクロマトグラフィ又は（免疫）アフィニティクロマトグラフィによって精製することができる。

【０２２２】

本発明の抗体（抗体の抗原結合性の断片又はその誘導体又は変異体を含む）をコードする遺伝子を細菌又は昆虫又は酵母又は植物細胞のような非哺乳類細胞でも発現させることができる。核酸を容易に取り込む細菌には、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ又はＳａｌｍｏｎｅｌｌａの株のような腸内細菌；Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｓｕｂｔｉｌｉｓのようなＢａｃｉｌｌａｃｅａｅ；Ｐｎｅｕｍｏｃｏｃｃｕｓ；Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ，及びＨａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａｅのメンバーが挙げられる。細菌で発現させる場合、非相同のポリペプチドは通常封入体の一部になることがさらに十分に理解されるであろう。非相同のポリペプチドは、単離され、精製され、次いで機能分子に組立てられなければならない。抗体の四価形態が所望される場合、サブユニットは四価抗体に自己集合するであろう；たとえば、国際出願公開番号ＷＯ０２／０９６９４８を参照のこと。

【０２２３】

細菌の系では、発現される抗体の用途に応じて多数の発現ベクターが有利に選択される。たとえば、大量のそのようなタンパク質が生産されるべきである場合、抗体の医薬組成物の生成については、容易に精製される融合タンパク質産物の高レベルの発現を指示するベクターが望ましくあり得る。そのようなベクターには、融合タンパク質が生産されるように抗体のコーディング配列を個々のベクターにてインフレームでｌａｃＺコーディング領域に連結することができる大腸菌発現ベクターｐＵＲ２７８（Ruther et al., EMBO J. 2 (1983), 1791）；ｐＩＮベクター（Inouye & Inouye, Nucleic Acids Res. 13 (1985), 3101-3109; Van Heeke & Schuster, J. Biol. Chem. 24 (1989), 5503-5509）等が挙げられるが、これらに限定されない。ｐＧＥＸベクターを用いてグルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼとの融合タンパク質として異種ポリペプチドを発現させることができる。一般に、そのような融合タンパク質は可溶性であり、グルタチオン／アガロースビーズのマトリクスへの吸着及び結合、その後の遊離のグルタチオンの存在下での溶出によって溶解細胞から容易に精製することができる。ｐＧＥＸベクターは、クローニングされた標的遺伝子産物がＧＳＴ部分から放出され得るようにトロンビン又は因子Ｘａプロテアーゼの切断部位を含めるように設計される。

【０２２４】

原核生物に加えて、真核微生物も使用することができる。一般的なパン製造の酵母であるＳａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅが真核微生物の間では最も一般に使用されるが、多数の他の株、たとえば、Ｐｉｃｈｉａ ｐａｓｔｏｒｉｓが一般に利用可能である。Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓにおける発現のためには、たとえば、プラスミドＹＲｐ７（Stinchcomb et al., Nature 282 (1979), 39; Kingsman et al., Gene 7 (1979), 141; Tschemper et al., Gene 10 (1980), 157）が一般に使用される。このプラスミドは、トリプトファンの中で増殖する能力を欠く変異株、たとえば、ＡＴＣＣ番号４４０７６又はＰＥＰ４－１（Jones, Genetics 85 (1977), 12）のための選抜マーカーを提供するＴＲＰ１遺伝子をすでに含有している。次いで、酵母宿主細胞ゲノムの特徴としてのｔｒｐ１損傷の存在はトリプトファンの非存在下での増殖によって形質転換を検出するための効果的な環境を提供する。

【０２２５】

昆虫の系では、Ａｕｔｏｇｒａｐｈａ ｃａｌｉｆｏｒｎｉｃａ核多角体病ウイルス（ＡｃＮＰＶ）が通常、異種遺伝子を発現させるためのベクターとして使用される。ウイルスはＳｐｏｄｏｐｔｅｒａ ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ細胞にて増殖する。抗体のコーディン

グ配列をウイルスの非必須領域（たとえば、ポリヘドリン遺伝子）に個々にクローニングし、ＡｃＮＰＶプロモータ（たとえば、ポリヘドリンプロモータ）の制御のもとに置くことができる。

【０２２６】

本発明の抗体がいったん組換えで発現されると、たとえば、クロマトグラフィ（たとえば、イオン交換、アフィニティ、特にプロテインＡ及びサイズカラムクロマトグラフィ後の特異的な抗原に対する親和性）、遠心、差次的溶解性、たとえば、硫安沈殿を含む当該技術の標準的な手順に従って、又はタンパク質の精製のための他の標準的な技法によって本発明の全長抗体、その二量体、個々の軽鎖及び重鎖、又は他の免疫グロブリン形態を精製することができる；たとえば、Ｓｃｏｐｅｓ，”Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ”，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ，Ｎ．Ｙ．（１９８２）を参照のこと。或いは、本発明の抗体の親和性を高める別の方法が、米国特許公開番号２００２－０１２３０５７Ａ１にて開示されている。

【０２２７】

Ｖ．融合タンパク質及び複合体

ある特定の実施形態では、抗体ポリペプチドは正常では抗体に伴わないアミノ酸配列又は１以上の部分を含む。例となる修飾は以下でさらに詳しく記載される。たとえば、本発明の単鎖ｆｖ抗体断片は柔軟なリンカー配列を含むことができ、又は官能性部分（たとえば、ＰＥＧ、薬剤、毒素、又は蛍光、放射線、酵素、核磁気、重金属等）を付加するように修飾することができる。

【０２２８】

本発明の抗体ポリペプチドは、融合タンパク質を含む、それから本質的に成る、又は成ることができる。融合タンパク質は、たとえば、少なくとも１つの標的結合部位、及び少なくとも１つの非相同部分、すなわち、天然では実際に連結されない部分を伴った免疫グロブリンのＴＤＰ－４３結合ドメインを含むキメラ分子である。アミノ酸配列は、融合ポリペプチドで一緒になる別々のタンパク質で正常では存在することができ、又は正常では同一のタンパク質に存在することができるが、融合ポリペプチドでは新しい配置に置かれ得る。融合タンパク質は、たとえば、化学合成によって、又はペプチド領域が所望の関係でコードされるポリヌクレオチドを創り、翻訳することによって創ることができる。

【０２２９】

「非相同の」という用語は、ポリヌクレオチド又はポリペプチドに適用されるとき、ポリヌクレオチド又はポリペプチドが比較される実体の他の部分のそれとは異なる実体に由来することを意味する。たとえば、本明細書で使用されるとき、抗体、又は抗原結合断片、その変異体又は類似体に融合される「非相同のポリペプチド」は、同一種の非免疫グロブリンポリペプチド又は異なる種の免疫グロブリンポリペプチド若しくは非免疫グロブリンポリペプチドに由来する。

【０２３０】

本明細書の他でさらに詳細に論じるように、本発明の抗体（たとえば、抗体の抗原結合性の断片及びその変異体又は誘導体）又は抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体はさらに、Ｎ末端若しくはＣ末端にて非相同のポリペプチドに組換えで融合することができ、又はポリペプチド若しくは他の組成物に化学的に複合体化することができる（共有結合及び非共有結合の複合体化を含む）。たとえば、検出アッセイにて標識として有用な分子及び、たとえば、非相同のポリペプチド、薬剤、放射性核種、若しくは毒素のようなエフェクター分子に抗体を組換えで融合する又は複合体化することができる；たとえば、国際出願公開番号ＷＯ９２／０８４９５；ＷＯ９１／１４４３８；ＷＯ８９／１２６２４；米国特許第５，３１４，９９５号；及び欧州特許出願番号ＥＰ０３９６３８７を参照のこと。

【０２３１】

本発明の抗体（たとえば、抗体の抗原結合性の断片及びその変異体又は誘導体）は、ペプチド結合又は修飾されたペプチド結合、すなわち、ペプチド同配体によって互いに連結されたアミノ酸によって構成されることができ、２０の遺伝子がコードするアミノ酸以外

のアミノ酸を含有することができる。たとえば、翻訳後処理のような天然の過程によって又は当該技術で既知の化学修飾法によって抗体を修飾することができる。そのような修飾は、教科書にて及びさらに詳細な研究論文にて同様に多数の研究文献にて十分に記載されている。修飾は抗体のペプチド主鎖、アミノ酸側鎖、及びアミノ末端又はカルボキシ末端、又は糖類のような部分を含むどこでも生じ得る。同一種の修飾は所与の抗体の幾つかの部位にて同一程度で又は様々な程度で存在することができることが十分に理解されるであろう。また、所与の抗体が多数の種類の修飾を含有することができる。たとえば、ユビキチン化の結果として抗体を分岐させることができ、分岐を伴って又は伴わずに環状であることができる。環状の、分岐した及び分岐した環状の抗体は、翻訳後の天然の過程の結果生じ得る、又は合成方法によって作製することができる。修飾には、アセチル化、アシル化、ＡＤＰ－リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチド又はヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質又は脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合の形成、脱メチル化、共有架橋の形成、システインの形成、ピログルタミンの形成、ホルミル化、γ－カルボキシル化、グリコシル化、ＧＰＩアンカーの形成、ヒドロキシル化、ヨード化、メチル化、ミリストイル化、酸化、ペグ化、タンパク分解処理、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、たとえば、アルギニン化のような転移ＲＮＡが介在するタンパク質へのアミノ酸の付加、及びユビキチン化が挙げられる；たとえば、Ｐｒｏｔｅｉｎｓ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　Ａｎｄ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ，Ｔ．Ｅ．Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、第２版（１９９３）；Ｐｏｓｔｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ　Ｃｏｖａｌｅｎｔ　Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ　Ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，Ｂ．Ｃ．Ｊｏｈｎｓｏｎ編、Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，ｐｇｓ．１－１２（１９８３）；Ｓｅｉｆｔｅｒら、Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１８２（１９９０），６２６－６４６；Ｒａｔｔａｎら、Ａｎｎ．ＮＹ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．６６３（１９９２），４８－６２）を参照のこと。

【０２３２】

本発明はまた、抗体又は抗原結合断片、その変異体又は誘導体、及び非相同のポリペプチドを含む融合タンパク質も提供する。一実施形態では、本発明の融合タンパク質は、本発明の抗体のV_H領域の１以上のアミノ酸配列、又は本発明の抗体若しくはその断片若しくは変異体のV_L領域の１以上のアミノ酸配列、及び非相同のポリペプチド配列を有するポリペプチドを含む、それから本質的に成る、又は成る。別の実施形態では、本明細書で開示される診断法及び治療法で使用するための融合タンパク質は、本発明の抗体若しくはその断片、変異体若しくは誘導体のV_H－ＣＤＲの１、２、３のアミノ酸配列、又は本発明の抗体若しくはその断片、変異体若しくは誘導体のV_L－ＣＤＲの１、２、３のアミノ酸配列、及び非相同のポリペプチド配列を有するポリペプチドを含む、それから本質的に成る、又は成る。一実施形態では、融合タンパク質は、本発明の抗体若しくはその断片、誘導体若しくは変異体のV_H－ＣＤＲ３のアミノ酸配列、及び非相同のポリペプチド配列を有するポリペプチドを含み、その融合タンパク質はＴＤＰ－４３に特異的に結合する。別の実施形態では、融合タンパク質は、本発明の抗体の少なくとも１つのV_H領域のアミノ酸配列及び本発明の抗体若しくはその断片、誘導体若しくは変異体の少なくとも１つのV_L領域のアミノ酸配列、及び非相同のポリペプチド配列を有するポリペプチドを含む。一実施形態では、融合タンパク質のV_H及びV_L領域は、ＴＤＰ－４３に特異的に結合する単一源の抗体（又はｓｃＦｖ又はＦａｂ断片）に対応する。さらに別の実施形態では、本明細書で開示される診断法及び治療法で使用するための融合タンパク質は、抗体のV_H－ＣＤＲの１、２、３のアミノ酸配列及び抗体又はその断片又は変異体のV_L－ＣＤＲの１、２、３のアミノ酸配列、及び非相同のポリペプチド配列を有するポリペプチドを含む。一実施形態では、V_H－ＣＤＲ又はV_L－ＣＤＲの２、３、４、５、６以上が本発明の単一源の抗体（又はｓｃＦｖ又はＦａｂ断片）に対応する。これらの融合タンパク質をコードする核酸分子も本発明によって包含される。

【０２３３】
文献にて報告された例となる融合タンパク質には、Ｔ細胞受容体(Gascoigne et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 (1987), 2936-2940; CD4 (Capon et al., Nature 337 (1989), 525-531; Traunecker et al., Nature 339 (1989), 68-70; Zettmeissl et al., DNA Cell. Biol. USA 9 (1990), 347-353; and Byrn et al., Nature 344 (1990), 667-670); Ｌ－セレクチン（ホーミング受容体）(Watson et al., J. Cell. Biol. 110 (1990), 2221-2229; and Watson et al., Nature 349 (1991), 164-167); ＣＤ４４ (Aruffo et al., Cell 61 (1990), 1303-1313);ＣＤ２８及びＢ７(Linsley et al., J. Exp. Med. 173 (1991),721-730); ＣＴＬＡ－４(Lisley et al., J. Exp. Med. 174 (1991), 561-569);ＣＤ２２(Stamenkovic et al., Cell 66 (1991), 1133-1144);ＴＮＦ受容体(Ashkenazi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88 (1991), 10535-10539; Lesslauer et al., Eur. J. Immunol. 27 (1991), 2883-2886; and Peppel et al., J. Exp. Med. 174 (1991), 1483-1489 (1991);及びＩｇＥ受容体a (Ridgway and Gorman, J. Cell. Biol. 115 (1991), Abstract No. 1448)の融合が挙げられる。

【０２３４】
本明細書の他で論じられるように、本発明の抗体（たとえば、無傷の抗体及び、抗体の抗原結合性の断片及びその変異体又は誘導体）は、ポリペプチドの生体内での半減期を高めるために、又は当該技術で既知の方法を用いた免疫アッセイで使用するために非相同のポリペプチドと融合することができる。たとえば、一実施形態では、ＰＥＧを本発明の抗体に複合体化させて生体内での半減期を高めることができる；たとえば、Ｌｅｏｎｇら、Ｃｙｔｏｋｉｎｅ、１６（２００１），１０６－１１９；Ａｄｖ．ｉｎ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ．Ｒｅｖ．５４（２００２），５３１；又はＷｅｉｒら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓａｃｔｉｏｎｓ、３０（２００２），５１２を参照のこと。

【０２３５】
さらに、本発明の抗体（たとえば、無傷の抗体及び、抗体の抗原結合性の断片及びその変異体又は誘導体）は、その精製又は検出を円滑にするペプチドのようなマーカー配列に融合することができる。特定の実施形態では、マーカーのアミノ酸配列は、ｐＱＥベクター（QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, Calif., 91311）で提供されるタグのようなヘキサ－ヒスチジンペプチド（ＨＩＳ）であり、とりわけ、その多くは市販されている。Ｇｅｎｔｚら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８６（１９８９），８２１－８２４にて考察されたように、たとえば、ヒスチジンは融合タンパク質の好都合な精製を提供する。精製に有用な他のペプチドタグには、インフルエンザ血球凝集素タンパク質に由来するエピトープに対応する「ＨＡ」タグ（Wilson et al., Cell 37 (1984), 767）及び「ｆｌａｇ」タグが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２３６】
融合タンパク質は、当該技術で周知の方法を用いて調製することができる；たとえば、米国特許第５，１１６，９６４号及び同第５，２２５，５３８号を参照のこと。融合が行われる正確な部位を経験的に選択して融合タンパク質の分泌特性又は結合特性を最適化することができる。次いで融合タンパク質をコードするＤＮＡを発現のために宿主細胞に形質移入する。

【０２３７】
本発明の抗体は、非複合体化形態で使用するか、たとえば、分子の治療特性を改善し、標的の検出を円滑にし、又は患者の画像診断若しくは治療のために、種々の分子の少なくとも１つに複合体化することができる。本発明の抗体（たとえば、無傷の抗体及び、抗体の抗原結合性の断片及びその変異体又は誘導体）は、精製が実施される場合、精製の前又は後で標識する又は複合体化することができる。特に、本発明の抗体は、治療剤、プロドラッグ、ペプチド、タンパク質、酵素、ウイルス、脂質、生物反応調節剤、医薬剤又はＰ

ＥＧに複合体化することができる。

【０２３８】

従来の抗体を含む免疫毒素である複合体は当該技術で広く記載されている。従来のカップリング技術によって毒素を抗体に結合することができ、又はタンパク質の毒素部分を含有する免疫毒素は融合タンパク質として作出することができる。本発明の抗体を対応する方法で用いてそのような免疫毒素を得ることができる。そのような免疫毒素の例示説明はＢｙｅｒｓ，Ｓｅｍｉｎａｒｓ Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．２（１９９１），５９－７０及びＦａｎｇｅｒ，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｔｏｄａｙ、１２（１９９１），５１－５４によって記載されたものである。

【０２３９】

複合体化される選択された剤に応じて様々な技法を用いて複合体を組み立てることもできることを当業者は十分に理解するであろう。たとえば、ビオチンとの複合体は、たとえば、ＴＤＰ－４３結合ポリペプチドを、ビオチンＮ－ヒドロキシスクシンイミドエステルのようなビオチンの活性化エステルと反応させることによって調製される。同様に、蛍光マーカーとの複合体は、カップリング剤、たとえば、本明細書で列記されたものの存在下で、又はイソチオシアネート若しくはフルオレセインイソチオシアネートとの反応によって調製することができる。本発明の複合体は類似の方法で調製される。

【０２４０】

本発明はさらに診断剤又は治療剤に複合体化された本発明の抗体（たとえば、無傷の抗体及び、抗体の抗原結合性の断片及びその変異体又は誘導体）を包含する。抗体を診断上用いて、たとえば、神経疾患の存在を明らかにし、神経疾患に罹るリスクを示し、臨床試験手順の一部として神経疾患、すなわち、ＴＤＰ－４３タンパク質症の発症又は進行をモニターして、たとえば、所与の治療計画及び／又は予防計画の有効性を判定することができる。抗体、抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体を検出可能な物質に結合させることによって検出を円滑にすることができる。検出可能な物質の例には、種々の酵素、補欠基、蛍光物質、発光物質、生体発光物質、放射性物質、種々のポジトロン放出断層撮影を用いたポジトロン放出金属、及び非放射性の常磁性の金属イオンが挙げられる；たとえば、本発明に係る診断として使用するために抗体に複合体化することができる金属イオンについては米国特許第４，７４１，９００号を参照のこと。好適な酵素の例には、西洋ワサビのペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼが挙げられ；好適な補欠基複合体の例には、ストレプトアビジン／ビオチン及びアビジン／ビオチンが挙げられ；好適な蛍光物質の例にはウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、塩化ダンシル又はフィコエリスリンが挙げられ；発光物質の例にはルミノールが挙げられ；生体発光物質の例にはルシフェラーゼ、ルシフェリン及びエクオリンが挙げられ；放射性物質の例には^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{111}Ｉｎ又は^{99}Ｔｃが挙げられる。

【０２４１】

抗体、抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体はまた、化学発光化合物にそれを結合させることによって検出可能に標識することもできる。次いで化学発光のタグを付けた抗体の存在は、化学反応の経過の間に生じる発光を検出することによって判定される。特に有用な化学発光標識化合物の例にはルミノール、イソルミノール、セロマティックアクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩及びシュウ酸エステルである。

【０２４２】

抗体、抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体を検出可能に標識することができる方法の１つは、それを酵素に連結し、連結した生成物を酵素免疫アッセイ（ＥＩＡ）にて用いることによるものである（Voller, A., "The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)" Microbiological Associates Quarterly Publication, Walkersville, Md., Diagnostic Horizons 2 (1978), 1-7); Voller et al., J. Clin. Pathol. 31 (1978), 507-520; Butler, Meth. Enzymol. 73 (1981), 482-523; Maggio, E. (ed.), Enzyme Immunoassay, CRC Press, Boca Raton, Fla., (19

80); Ishikawa, E. et al., (eds.), Enzyme Immunoassay, Kgaku Shoin, Tokyo (1981))。抗体に結合する酵素は、たとえば、分光光度計、蛍光測定又は視覚的な手段によって検出することができる化学部分を生じるような方法で、適当な基質、好ましくは発色性基質と反応するであろう。抗体を検出可能に標識するのに使用することができる酵素には、リンゴ酸脱水素酵素、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、デルタ－５－ステロイドイソメラーゼ、酵母アルコール脱水素酵素、α－グリセロリン酸脱水素酵素、チロースリン酸イソメラーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、β－ガラクトシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、グルコース－６－リン酸脱水素酵素、グルコアミラーゼ及びアセチルコリンエステラーゼが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、酵素に対する発色性基質を用いる比色法によって検出を達成することができる。類似して調製した標準との比較において基質の酵素反応の程度を視覚的に比較することによっても検出を達成することができる。

【０２４３】

種々の他の免疫アッセイのいずれを用いても検出を達成することができる。たとえば、抗体、又は抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体を放射性標識することによって、放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）の使用を介して抗体を検出することが可能である（たとえば、その全体が参照によって本明細書に組み入れられるWeintraub, B., Principles of Radioimmunoassays, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques, The Endocrine Society, (March, 1986)を参照）。ガンマカウンタ、シンチレーションカウンタ又はオートラジオグラフィを含むが、それらに限定されない手段によって放射性同位元素を検出することができる。

【０２４４】

抗体、又は抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体はまた、たとえば、^{152}Euのような蛍光放出金属、又はランタニドシリーズの他のものによって検出可能に標識することもできる。これらの金属は、たとえば、ジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＤＴＰＡ）又はジエチレンジアミンテトラ酢酸（ＥＤＴＡ）のような金属キレート剤を用いて抗体に連結することができる。

【０２４５】

抗体、又は抗原結合性の断片、その変異体又は誘導体に種々の部分を複合体化させる技法は当該技術で既知である；たとえば、Arnonら、”Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”, in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeldら、(編), pp. 243－56（Alan R. Liss, Inc.（１９８５）；Hellstromら、”Antibodies For Drug Delivery”, in Controlled Drug Delivery（2nd Ed.）, Robinsonら、(編), Marcel Dekker, Inc., pp. 623－53（１９８７）；Thorpe, ”Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy：A Review”, in Monoclonal Antibodies”84：Biological And Clinical Applications, Pincheraら、(編), pp. 475－506（１９８５）；”Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”, in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwinら、(編), Academic Press pp. 303－16（１９８５）, 及びThorpeら、”The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody－Toxin Conjugates”, Immunol. Rev. 62（１９８２）, 119－158を参照のこと。

【０２４６】
言及したように、特定の実施形態では、結合分子、たとえば、結合ポリペプチド、たとえば、抗体又は、その免疫特異的な断片の安定性又は有効性を高める部分を複合体化することができる。たとえば、一実施形態では、ＰＥＧを本発明の結合分子に複合体化して生体内での半減期を高めることができる；Ｌｅｏｎｇら、Ｃｙｔｏｋｉｎｅ、１６（２００１），１０６；Ａｄｖ．ｉｎ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ．Ｒｅｖ．５４ （２００２），５３１；又はＷｅｉｒら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓａｃｔｉｏｎｓ、３０（２００２），５１２。
【０２４７】
ＶＩ．組成物及び使用方法
本発明は、前述のＴＤＰ－４３結合分子、たとえば、本発明の抗体、又は抗原結合性の断片、又はその変異体又は誘導体、又は本発明のポリヌクレオチド、ベクター又は細胞を含む組成物に関する。本発明の組成物はさらに薬学上許容可能な担体も含むことができる。その上、本発明の医薬組成物はさらに医薬組成物の用途に応じてインターロイキン又はインターフェロンのような剤を含むことができる。たとえば、ＴＤＰ－４３タンパク質症の治療での使用のために、追加の剤は、有機小分子、抗ＴＤＰ－４３抗体及びそれらの組み合わせから成る群から選択することができる。従って、特定の実施形態では、本発明は、ＴＤＰ－４３タンパク質症の予防的処置及び治療的処置のための医薬組成物若しくは診断用組成物を調製するための、対象におけるＴＤＰ－４３タンパク質症の進行若しくはＴＤＰ－４３タンパク質症の治療に対する応答をモニターするための、又はＴＤＰ－４３タンパク質症を発症する対象のリスクを判定するための、ＴＤＰ－４３結合分子、たとえば、本発明の抗体若しくはその抗原結合断片の使用、又はその１つの実質的に同一の結合特異性を有する結合分子の使用、本発明のベクター又は細胞の使用に関する。
【０２４８】
従って、一実施形態では、本発明は、それぞれ、脳及び中枢神経系におけるＴＤＰ－４３の異常な蓄積及び／又は沈着を特徴とする神経疾病を治療する方法に関するものであり、方法は、それを必要とする対象に治療上有効な量の、本発明の前述のＴＤＰ－４３結合分子、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター又は細胞を投与することを含む。「ＴＤＰ－４３タンパク質症」という用語には、嗜銀性顆粒痴呆、アルツハイマー病、筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、グアムのＡＬＳ／パーキンソン型認知症複合体、大脳皮質基底核変性症、レビー小体認知症、ハンチントン病、レビー小体病、運動ニューロン病、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、前頭側頭認知症、ユビキチン陽性の封入体を伴った前頭側頭葉変性症、海馬硬化症、封入体ミオパシー、封入体筋炎、パーキンソン病、パーキンソン病認知症、Ｋｉｉ半島におけるパーキンソン／認知症複合体、及びピック病のようなＴＤＰ－４３タンパク質症、並びに他の運動障害、神経変性疾患及び中枢神経系（ＣＮＳ）の疾患が一般に挙げられるが、これらに限定されない。特に述べられない限り、用語、神経変性、神経性又は神経精神病的は、本明細書では相互交換可能に使用される。
【０２４９】
本発明の治療アプローチの特定の利点は、本発明の抗体が、ＡＬＳ及び／又はＦＴＬＤの兆候のない健常なヒト対象からのＢ細胞又はＢ記憶細胞に由来するので、ある特定の確率で、臨床的に明瞭なＴＤＰ－４３タンパク質症を防ぐことができ、臨床的に明瞭な疾患を発生するリスクを減らすことができ、又は臨床的に明瞭な疾患の発症を遅らせることができるという事実にある。通常、本発明の抗体はまた、体細胞成熟、すなわち、抗体の可変領域の体細胞変異による標的ＴＤＰ－４３分子への高親和性結合における標的特異性及び有効性に関する最適化を上手く経ている。
【０２５０】
たとえば、ヒトにおけるそのような細胞が自己免疫反応又はアレルギー反応
という意味で関連する又は他の生理的なタンパク質又は細胞構造によって活性化されていないという知識は、これが臨床試験フェーズを上手く乗り切る相当に高い機会を意味するので、医学的な重要性が大きい。言わば、少なくとも１人のヒト対象にて予防的又は治療

上の抗体の前臨床及び臨床開発の前に有効性、受容性及び認容性がすでに明らかにされている。従って、本発明のヒト抗ＴＤＰ－４３抗体は、治療剤としてのその標的構造特異的な効率性と副作用の低い確率の双方が成功の臨床的確率を有意に高めることが期待され得る。

【０２５１】

本発明はまた、本発明の上述の成分、たとえば、抗ＴＤＰ－４３抗体、その結合断片、誘導体又は変異体、ポリヌクレオチド、ベクター又は細胞の１以上が充填された１以上の容器を含むそれぞれ医薬上及び診断上のパック又はキットも提供する。そのような容器には、医薬製品又は生物製品の製造、使用又は販売を規制する政府当局によって規定された形態の通知書が関連付けられ得るが、通知書はヒトへの投与についての製造、使用又は販売の当局による認可を反映する。加えて又は代わりに、キットは適当な診断アッセイで使用するための試薬及び／又は指示書を含む。本発明の組成物、たとえば、キットは当然、ＴＤＰ－４３の存在が伴う疾病のリスク評価、診断、予防及び治療に特に好適であり、神経変性疾患、ＴＤＰ－４３タンパク質症、嗜銀性顆粒痴呆、アルツハイマー病、筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、グアムのＡＬＳ／パーキンソン型認知症複合体、大脳皮質基底核変性症、レビー小体認知症、ハンチントン病、レビー小体病、運動ニューロン病、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、前頭側頭認知症、ユビキチン陽性の封入体を伴った前頭側頭葉変性症、海馬硬化症、封入体ミオパシー、封入体筋炎、パーキンソン病、パーキンソン病認知症、Ｋｉｉ半島におけるパーキンソン／認知症複合体、及びピック病の治療に特に適用可能である。

【０２５２】

特定の実施形態では、本発明の組成物は無菌の水溶液の形態である。別の実施形態では、本発明の組成物の１以上の成分は凍結乾燥されている。追加の実施形態では、本発明の組成物は血清を含有しない。さらなる実施形態では、本発明の組成物に含有される１以上の抗体は組換えで作出される。別の実施形態では、本発明の組成物の抗体の集団は組成物における免疫グロブリン集団の少なくとも１０％を構成する。

【０２５３】

本発明の医薬組成物は、当該技術で既知の方法に従って製剤化される；たとえば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ（２０００）ｂｙ ｔｈｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｉｎ Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，ＩＳＢＮ０－６８３－３０６４７２を参照のこと。好適な医薬担体の例は当該技術で既知であり、それには、リン酸緩衝化生理食塩水、水、油／水エマルジョンのようなエマルジョン、種々の種類の湿潤剤、無菌の溶液等が挙げられる。そのような担体を含む組成物は既知の従来の方法によって製剤化することができる。これらの医薬組成物を好適な用量で対象に投与することができる。好適な組成物の投与は、様々な方法によって、たとえば、静脈内の、腹腔内の、皮下の、筋肉内の、局所の又は皮内の投与によって達成することができる。たとえば、鼻内スプレー製剤のようなエアゾール製剤は保存剤及び等張剤と共に活性剤の精製された水溶液又は他の溶液を含む。そのような製剤は鼻粘膜に適合するｐＨ及び等張状態に調整される。直腸投与又は膣投与のための製剤は、好適な担体を伴った座薬として提示することができる。

【０２５４】

さらに詳しくは、注射用途に好適な医薬組成物は、無菌の水溶液（水溶性の場合）又は分散液及び無菌の注射用の溶液又は分散液の即時の調製のための無菌の粉末を含む。そのような場合、組成物は無菌でなければならないし、容易なシリンジ操作性が存在する程度に流体であるべきである。それは、製造及び保存の条件下で安定であるべきであり、好ましくは細菌や真菌のような微生物の汚染作用に対して保護されるであろう。担体は、たとえば、水、エタノール、ポリオール（たとえば、グリセロール、プロピレングリコール及び液体ポリエチレングリコール等）及びその好適な混合物を含有する溶媒又は分散媒であることができる。たとえば、レシチンのようなコーティングの使用によって、分散液の場合、必要とされる粒度の維持によって及び界面活性剤の使用によって、適正な流動性を維

持することができる。

【０２５５】

さらに、本発明は、本発明の薬剤を投与するために頭蓋骨に小さな穴を開ける現在の（幸運なことに、多くは行われない）標準手順を含むが、態様の１つでは、本発明の結合分子、特に抗体又は抗体に基づく薬剤は脳血管関門を横切ることができ、それは静脈内投与又は経口投与を可能にする。

【０２５６】

主治医及び臨床因子によって投与計画が決定されるであろう。医学技術で知られるように、いかなる各人の患者に対する投与量も、患者の大きさ、体表面積、年齢、投与される特定の化合物、性別、投与の時間及び経路、全身状態、及び同時に投与される他の薬剤を含む多数の要因に左右される。典型的な用量は、０．００１～１０００μｇ（又はこの範囲での発現のための又は発現の阻害のための核酸の）の範囲であり得るが、特に前述の要因を考慮して、この経験的な範囲を下回る又は上回る用量が想定される。一般に、投与量は、宿主体重について、たとえば、約０．０００１～１００ｍｇ／ｋｇ、及びさらに普通には０．０１～５ｍｇ／ｋｇ（たとえば、０．０２ｍｇ／ｋｇ、０．２５ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／ｋｇ、０．７５ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ等）の範囲であり得る。たとえば、投与量は、１ｍｇ／ｋｇ体重又は１０ｍｇ／ｋｇ体重、又は１～１０ｍｇ／ｋｇの範囲内、又は少なくとも１ｍｇ／ｋｇであり得る。上記範囲内の中間用量も本発明の範囲内であることも意図される。そのような用量が毎日、隔日で、毎週、又は経験的な分析によって決定された任意の他のスケジュールに従って対象に投与され得る。例となる治療は、長期間にわたる、たとえば、少なくとも６ヵ月にわたる複数投与量での投与を伴う。追加の例となる治療計画は、２週間に１回又は１ヵ月に１回又は３～６ヵ月に１回の投与を伴う。例となる投与スケジュールには、毎日の１～１０ｍｇ／ｋｇ又は１５ｍｇ／ｋｇ、隔日での３０ｍｇ／ｋｇ又は毎週の６０ｍｇ／ｋｇが含まれる。いくつかの方法では、異なる結合特性を持つ２以上のモノクローナル抗体が同時に投与され、その場合、投与される各抗体の投与量は示された範囲内に入る。定期的な評価によって進展をモニターすることができる。

【０２５７】

非経口投与用の調製物には無菌の水性又は非水性の溶液、懸濁液及びエマルジョンが含まれる。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油及びオレイン酸エチルのような注射用の有機エステルである。水性担体には、水、生理食塩水及び緩衝化媒体を含むアルコール性／水性の溶液、エマルジョン又は懸濁液が挙げられる。非経口媒体には、塩化ナトリウム溶液、リンガーのデキストロース、デキストロース及び塩化ナトリウム、乳酸加リンガー溶液、又は不揮発性油が挙げられる。静脈内媒体には、流体及び栄養補充剤、電解質補充剤（たとえば、リンガーのデキストロースに基づくもの）等が含まれる。保存剤及び、たとえば、抗微生物剤、抗酸化剤、キレート剤、及び不活性気体等のような他の添加剤も存在することができる。その上、本発明の医薬組成物は、さらに、医薬組成物の用途に応じて、たとえば、ドーパミン又は精神薬理剤のような剤を含むことができる。

【０２５８】

その上、本発明の特定の実施形態では、医薬組成物は、たとえば、本発明の組成物が受動免疫のための抗ＴＤＰ－４３抗体又はその結合断片、誘導体又は変異体を含むのであれば、ワクチンとして製剤化することができる。本発明のヒト抗ＴＤＰ－４３抗体又は同等のＴＤＰ－４３結合分子が、たとえば、筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、嗜銀性顆粒痴呆、アルツハイマー病、グアムのＡＬＳ／パーキンソン型認知症複合体、大脳皮質基底核変性症、レビー小体認知症、ハンチントン病、レビー小体病、運動ニューロン病、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、前頭側頭認知症、ユビキチン陽性の封入体を伴った前頭側頭葉変性症、海馬硬化症、封入体ミオパシー、封入体筋炎、パーキンソン病、パーキンソン病認知症、Ｋｉｉ半島におけるパーキンソン／認知症複合体、ピック病、マシャド・ジョセフ病等のようなＴＤＰ－４３タンパク質症の予防又は改善にワクチンとして特に有用である

ことを期待するのは良識的である。

【０２５９】

一実施形態では、本発明の抗体の組換えＦａｂ（ｒＦａｂ）及び単鎖断片（ｓｃＦｖ）を使用することは有益であり得、それは、細胞膜をさらに容易に貫通し得る。たとえば、先行してオンラインで公開されたＲｏｂｅｒｔら、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．Ｄｅｓ．Ｓｅｌ．（２００８）Ｏｃｔ.１６；Ｓ１７４１－０１３４は、ＡβのＮ末端におけるエピトープを認識するモノクローナル抗体ＷＯ－２のキメラ組換えＦａｂ（ｒＦａｂ）及び単鎖断片（ｓｃＦｖ）の使用を記載している。操作された断片は、（ｉ）アミロイドの線維化を防ぎ、（ｉｉ）事前に形成されたＡβ１～４２小線維をバラバラにし、（ｉｉｉ）ＩｇＧ全長分子と同様に効率的に試験管内でＡβ１～４２が介在する神経毒性を阻害することができた。エフェクター機能を欠く小型Ｆａｂ及びｓｃＦｖの操作された抗体形式を使用することの認識される利点には、脳血管関門のさらに効率的な通過及び炎症性の副反応を誘発するリスクを最小にするることが挙げられる。その上、ｓｃＦｖ及び単一ドメイン抗体は完全長抗体の結合特異性保持することに加えて、その標的の折り畳み、相互作用、修飾又は細胞内の局在の変化の可能性を伴って、単一遺伝子として及び哺乳類細胞にて細胞内で細胞内抗体として発現することができる；たとえば、概説については、Ｍｉｌｌｅｒ及びＭｅｓｓｅｒ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔｈｅｒａｐｙ、１２（２００５），３９４－４０１を参照のこと。

【０２６０】

異なったアプローチでは、Ｍｕｌｌｅｒら、Ｅｘｐｅｒｔ Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｌ．Ｔｈｅｒ．（２００５），２３７－２４１は、技術基盤、いわゆる「スーパー抗体技術」を記載しているが、それは、細胞を損傷することなく、抗体が細胞に出入りするのを可能にすると言われている。そのような細胞に浸透する抗体は診断及び治療に新しい窓を開けている。「ＴｒａｎｓＭａｂｓ」という用語はこれらの抗体に対する新語である。

【０２６１】

さらなる実施形態では、ＴＤＰ－４３タンパク質症を治療するのに有用な他の神経保護剤の同時投与又は逐次投与が望ましくあり得る。一実施形態では、追加の剤が本発明の医薬組成物に含まれる。対象を治療するのに使用することができる神経保護剤の例には、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、グルタミン酸作動性受容体拮抗剤、キナーゼ阻害剤、ＨＤＡＣ阻害剤、抗炎症剤、ジバルプロエクスナトリウム又はその任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。本発明の医薬組成物に付随して使用することができる他の神経保護剤の例は当該技術に記載されている；たとえば、国際出願公開番号ＷＯ２００７／０１１９０７を参照のこと。一実施形態では、追加の剤はドーパミン又はドーパミン受容体アゴニストである。

【０２６２】

治療上有効な用量又は量は、症状又は状態を改善するのに十分な有効成分の量を指す。そのような化合物の治療有効性及び毒性は、細胞培養又は実験動物における標準の薬学手順、たとえば、ED_{50}（集団の５０％で治療上有効である用量）及びLD_{50}（集団の５０％で致死である用量）によって決定することができる。治療効果と毒性効果の用量比が治療指標であり、LD_{50}／ED_{50}の比として表すことができる。一実施形態では、ＡＬＳ及び／又はＦＴＬＤ又は他のＴＤＰ－４３タンパク質症の症例にて組成物の治療剤は、正常な行動及び／又は認知特性を回復する又は保存するのに十分な量で存在する。

【０２６３】

前述のことから、本発明が、上述のようなＴＤＰ－４３タンパク質症、特に筋委縮性側索硬化症及び／又は前頭側頭葉変性症の診断及び／又は治療のために、上述の抗体の少なくとも１つのＣＤＲを含むＴＤＰ－４３結合分子の使用を包含することは明らかである。一実施形態では、前記結合分子は本発明の抗体又はその免疫グロブリン鎖である。加えて、本発明は上文で記載された言及された抗体のいずれかの抗イディオタイプ抗体に関する。抗イディオタイプ抗体は、抗原結合部位の近傍の抗体可変領域に位置する独特の抗原性ペプチド配列に結合する抗体又は他の結合分子であり、たとえば、対象の試料にて抗ＴＤ

Ｐ－４３抗体を検出するのに有用である。

【０２６４】

別の実施形態では、本発明は、本発明の上述のＴＤＰ－４３結合分子、抗体、抗原結合断片、ポリヌクレオチド、ベクター又は細胞のいずれか１つと、任意で、免疫又は核酸に基づく診断法で従来使用される試薬のような検出に好適な手段を含む診断用組成物に関する。本発明の抗体は、たとえば、それらが液相で利用できる又は固相担体に結合できる免疫アッセイでの使用に適する。本発明の抗体を利用することができる免疫アッセイの例は直接方式又は間接方式での競合免疫アッセイ及び非競合免疫アッセイである。そのような免疫アッセイの例は、放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）、サンドイッチ（免疫測定アッセイ）、フローサイトメトリー及びウエスタンブロットアッセイである。本発明の抗原及び抗体を多数の異なる担体に結合させてそれに特異的に結合した細胞を単離するのに使用することができる。既知の担体の例には、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカーボネート、デキストラン、ナイロン、アミロース、天然の及び修飾されたセルロース、ポリアクリルアミド、アガロース、及び磁鉄鉱が挙げられる。担体の性質は本発明の目的では、可溶性であっても不溶性であってもよい。当業者に既知の多数の標識及び標識方法がある。本発明で使用することができる標識の種類の例には、酵素、放射性同位元素、コロイド状金属、蛍光化合物、化学発光化合物、及び生物発光化合物が挙げられる；上記で論じた実施形態も参照のこと。

【０２６５】

さらなる実施形態によって、血液試料、リンパ試料又は他の体液試料であり得る体液試料を試験個体から入手し、抗体／抗原の複合体の形成を可能にする条件下で本発明の抗体に体液試料を接触させることによって個体における疾病を診断する方法にて、ＴＤＰ－４３結合分子、特に本発明の抗体を使用することもできる。次いでそのような複合体のレベルを当該技術で既知の方法によって決定し、対照試料で形成されるよりも有意に高いレベルは試験個体における疾患を示している。同様に、本発明の抗体によって結合される特異的な抗原も使用することができる。従って、本発明は、結合分子、たとえば、本発明の抗体又はその抗原結合断片を含む生体内での免疫アッセイに関する。

【０２６６】

この文脈で、本発明はまた、この目的で特に設計された手段にも関する。たとえば、抗体に基づくアレイを使用することができ、それには、たとえば、ＴＤＰ－４３を特異的に認識する本発明の抗体又は同等の抗原結合分子が負荷される。マイクロアレイ免疫アッセイの設計はＫｕｓｎｅｚｏｗら、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｐｒｏｔｅｏｍｉｃｓ、５（２００６），１６８１－１６９６に要約されている。従って、本発明はまた、本発明に従って特定されるＴＤＰ－４３結合分子が負荷されたマイクロアレイにも関する。

【０２６７】

一実施形態では、本発明は、対象においてＴＤＰ－４３タンパク質症を診断する方法に関するものであり、該方法は、

（ａ）本発明の抗体、そのＴＤＰ－４３結合断片又はそのいずれかの実質的に同一の結合特異性を有するＴＤＰ－４３結合断片によって診断される対象からの試料にてＴＤＰ－４３のレベルを評価することと；

（ｂ）１以上の対照の対象におけるＴＤＰ－４３のレベルを示す参照標準とＴＤＰ－４３のレベルを比較することを含み、

ＴＤＰ－４３のレベルと参照標準との間での差異又は類似性は対象がＴＤＰ－４３タンパク質症に罹っていることを示す。

【０２６８】

診断される対象は、疾患について無症候性又は前臨床であり得る。一実施形態では、対照の対象はＴＤＰ－４３タンパク質症、たとえば、ＡＬＳ又はＦＴＬＤを有し、ＴＤＰ－４３のレベルと参照標準との間での類似性は、診断される対象がＴＤＰ－４３タンパク質症を有することを示す。代わりに又は加えて、第２の対照として、対照の対象はＴＤＰ－４３タンパク質症を有しておらず、ＴＤＰ－４３のレベルと参照標準との間での差異は、

診断される対象がＴＤＰ－４３タンパク質症を有することを示す。診断される対象及び対照の対象は年齢を合わせる。分析される試料は、ＴＤＰ－４３を含有すると疑われる体液、たとえば、血液、ＣＳＦ又は尿の試料であり得る。

【０２６９】

ＴＤＰ－４３のレベルは、たとえば、ウエスタンブロット、免疫沈降、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、放射性免疫アッセイ（ＲＩＡ）、蛍光活性化細胞ソーティング（ＦＡＣＳ）、二次元ゲル電気泳動、質量分光分析（ＭＳ）、マトリクス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型ＭＳ（ＭＡＬＤＩ-ＴＯＦ）、表面増強レーザー脱離イオン化飛行時間型（ＳＥＬＤＩ－ＴＯＦ）、高速液体クロマトグラフィ（ＨＰＬＣ）、高速タンパク質液体クロマトグラフィ（ＦＰＬＣ）、多次元液体クロマトグラフィ（ＬＣ）とその後の直列質量分光分析（ＭＳ／ＭＳ）及びレーザーデンシトメトリーから選択される１以上の技法によってＴＤＰ－４３を解析することを含む当該技術で既知の好適な方法によって評価することができる。一実施形態では、ＴＤＰ－４３の前記生体内画像化は、ポジトロン放出断層撮影（ＰＥＴ）、単一光子放出型断層撮影（ＳＰＥＣＴ）、近赤外線（ＮＩＲ）光学画像撮影又は磁気共鳴画像撮影（ＭＲＩ）を含む。

【０２７０】

本発明に従って適合させることができる抗体及び関連する手段を用いて、ＴＤＰ－４３タンパク質症の進行をモニターするために、たとえば、ＡＤ、パーキンソン病、ＡＬＳ、ハンチントン病、レビー小体認知症、又はＦＴＬＤのような神経変性疾患を診断し、ＴＤＰ－４３タンパク質症の治療をモニターする方法は、その全体が参照によって本明細書に組み入れられる国際出願公開番号ＷＯ２０１０／１１１５８７及びＷＯ２００７／０１１９０７にも記載されている。これらの方法は、記載されているように、しかし、本発明のＴＤＰ－４３に特異的な抗体、結合断片、誘導体又は変異体と共に適用することができる。

【０２７１】

これらの及び他の実施形態が開示され、本発明の説明及び実施例によって包含される。本発明に従って採用される材料、方法、使用及び化合物のいずれに関する文献も、たとえば、電子装置を用いて公の図書館及びデータベースから検索される。たとえば、全米バイオテクノロジー情報センター及び／又は国立衛生研究所の国立医学図書館が主催する公的なデータベース「Ｍｅｄｌｉｎｅ」を利用することができる。欧州分子生物学研究所（ＥＭＢＬ）の一部である欧州バイオインフォマティクス研究所（ＥＢＩ）のもののようなさらなるデータベース及びウエブアドレスが当業者に既知であり、インターネットの検索エンジンを用いて入手することもできる。バイオテクノロジーにおける特許情報の概説及び遡及的検索に及び現在の認識に有用な特許情報の関連する起源の検索はＢｅｒｋｓ，ＴＩＢＴＥＣＨ、１２（１９９４），３５２－３６４にて提供される。

【０２７２】

上記の開示は一般に本発明を説明する。特に述べられない限り、本明細書で使用される用語は、２０００年に改訂され、２００３年に再印刷されたオックスフォード大学出版の生化学及び分子生物学のオックスフォード辞書ＩＳＢＮ０１９８５０６７３２で提供されるような定義が与えられる。本明細書の本文全体を通して幾つかの文書が引用される。完全な文献引用が、クレームの直前の本明細書の最後に見つけることができる。引用された文献（本出願全体を通して引用されたような文献参照、発行された特許、公開された特許出願及び製造元の仕様、指示書等）すべての内容は、その全体が参照によって本明細書に組み入れられるが、引用された文書が本発明に関して実際に従来技術であるという了解はない。

【０２７３】

説明のみの目的で提供され、本発明の範囲を限定することを意図するものではない以下の具体的な実施例を参照することによってさらに完全な理解を得ることができる。

【実施例】

【０２７４】

材料及び方法

本明細書で採用されるもののような従来の方法の詳細な記載は引用された文献にて見つけることができる。以下で特に指示されない限り、ＴＤＰ－４３に特異的なＢ細胞の特定及び当該特異性を示すＴＤＰ－４３抗体の分子クローニング並びにそれらの組換え発現及び機能的な性状分析は、それぞれその全体が参照によって本明細書に組み入れられるＷＯ２００８／０８１００８として公開された国際出願ＰＣＴ／ＥＰ２００８／０００００３の実施例及び補足の方法の項で記載されたように実施されているし、実施することができる。

【０２７５】

ヒトＴＤＰ－４３抗体のスクリーニング

ＥＬＩＳＡ

９６穴ハーフエリアマイクロプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）を炭酸ＥＬＩＳＡ緩衝液（ｐＨ９．６）中のそれぞれ５μｇ／ｍｌ及び３．３μｇ／ｍｌの濃度での

（ａ）組換えの完全長Ｈｉｓタグ付きのヒトＴＤＰ－４３（米国、Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ）又は

（ｂ）残基４０９と４１０でリン酸化修飾したＴＤＰ－４３のＣ末端ドメインの残基３９０～４１４から成る合成ペプチド（Ｓｈａｆｅｒ－Ｎ，ＤＫ）のいずれかによって４℃にて一晩コーティングした。

【０２７６】

プレートをＰＢＳ／Ｔｗｅｅｎ（ｐＨ７．６）で洗浄し、２％ＢＳＡ（スイス、ブックスのＳｉｇｍａ）を含有するＰＢＳ／Ｔによって室温にて１時間、非特異的な結合部位をブロックした。記憶Ｂ細胞の培養プレートからＢ細胞調整培地をＥＬＩＳＡプレートに移し、室温にて１時間インキュベートした。ＥＬＩＳＡプレートをＰＢＳ／Ｔで洗浄し、次いで西洋ワサビのペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）を抱合した抗ヒト免疫グロブリンポリクローナル抗体（米国、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）と共にインキュベートした。ＰＢＳ／Ｔによる洗浄の後、標準の比色アッセイにおけるＨＲＰ活性の測定によってヒト抗体の結合を測定した。

【０２７７】

ＭＳＤ

それぞれアミノ酸１～２５９、２６０～２７７及び３５０～３６６（英国、Ａｂｃａｍ　ｐｌｃ）に対応するＴＤＰ－４３タンパク質の断片の混合物で標準の９６穴１０－スポットＭＵＬＴＩ－ＳＰＯＴプレート（米国、Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）をコーティングした。１０μｇ／ｍｌの各ペプチドを用い、ＰＢＳにて調製した。３％ＢＳＡを含有するＰＢＳ／Ｔによって室温にて１時間、非特異的な結合部位をブロックし、その後、Ｂ細胞調整培地と共に室温にて１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／Ｔで洗浄し、次いでＳＵＬＦＯ－タグと複合体化した抗ヒトポリクローナル抗体（米国、Ｍｅｓｏｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）と共にインキュベートした。ＰＢＳ／Ｔによる洗浄の後、ＳＥＣＴＯＲイメージャー６０００、米国、Ｍｅｓｏｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を用いた電気化学発光測定によって結合抗体を検出した。

【０２７８】

ヒトＴＤＰ－４３抗体の分子クローニング

健常なヒト対象から記憶Ｂ細胞を含有する試料を得た。選択した記憶Ｂ細胞の培養物の生きているＢ細胞を回収し、ｍＲＮＡを単離し、逆転写酵素（米国、Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）によってｃＤＮＡを調製した。次いでネストＰＣＲ法を用いて免疫グロブリン重鎖及び軽鎖の配列を得た。

【０２７９】

ヒト免疫グロブリンの生殖系列のレパートリーの配列ファミリーすべてを表すプライマーの組み合わせをリーダーペプチド、Ｖ断片及びＪ断片の増幅に用いる。５’末端でリーダーペプチド特異的なプライマー及び３’末端で定常領域特異的なプライマーを用いて１回目の増幅を行う（Smith et al., Nat Protoc. 4 (2009), 372-384）。重鎖及び

カッパ軽鎖については、５’末端でＶ断片特異的なプライマー及び３’末端でＪ断片特異的なプライマーを用いて２回目の増幅を行う。ラムダ軽鎖については、５’末端でＶ断片特異的なプライマー及び３’末端でＣ領域特異的なプライマーを用いて２回目の増幅を行う（Marks et al., Mol. Biol. 222 (1991), 581-597; de Haard et al., J. Biol. Chem. 26 (1999), 18218-18230）。

【０２８０】

所望の特異性を持つ抗体クローンの特定は、完全抗体の組換え発現の際、ＥＬＩＳＡでの再スクリーニングによって行う。ヒトの完全ＩｇＧ１抗体又はキメラＩｇＧ２ａ抗体の組換え発現は、５’末端でリーダーペプチドをコードする配列及び３’末端で適当な定常ドメインをコードする配列を持つ可変領域の配列を完全にする発現ベクターへの「正しい読み取りフレーム」中の可変重鎖及び軽鎖の配列の挿入の際に達成される。その目的で、プライマーは、可変重鎖及び軽鎖の配列の抗体発現ベクターへのクローニングを円滑にするように設計された制限部位を含有した。重鎖免疫グロブリンは、シグナルペプチドとヒト免疫グロブリンガンマ１又はマウス免疫グロブリンガンマ２ａの定常領域を持つ重鎖発現ベクターにフレーム内の免疫グロブリン重鎖ＲＴ－ＰＣＲ産物を挿入することによって発現される。カッパ軽鎖免疫グロブリンは、シグナルペプチドとヒトのカッパ軽鎖免疫グロブリンの定常領域を提供する軽鎖発現ベクターにフレーム内のカッパ軽鎖ＲＴ－ＰＣＲ産物を挿入することによって発現される。ラムダ軽鎖免疫グロブリンは、シグナルペプチドとヒト又はマウスのラムダ軽鎖免疫グロブリンの定常領域を提供するラムダ軽鎖発現ベクターにフレーム内のラムダ軽鎖ＲＴ－ＰＣＲ産物を挿入することによって発現される。

【０２８１】

機能的な組換えモノクローナル抗体は、Ｉｇ－重鎖発現ベクターとカッパ又はラムダＩｇ－軽鎖発現ベクターのＨＥＫ２９３細胞又はＣＨＯ細胞（又はヒト又はマウス起源の他の適当なレシピエント細胞株）への同時形質移入によって得られる。ヒト組換えモノクローナル抗体はその後、標準のプロテインＡカラム精製を用いて調整培地から精製される。ヒト組換えモノクローナル抗体は一時的に又は安定的に形質移入された細胞を用いて限定されない量で作出することができる。ヒト組換えモノクローナル抗体を産生する細胞株は、Ｉｇ発現ベクターを直接用いることによって又は異なる発現ベクターにＩｇ可変領域を再クローニングすることによって確立することができる。Ｆ（ａｂ）、Ｆ（ａｂ）$_2$及びｓｃＦｖのような誘導体もこれらのＩｇ可変領域から生成することができる。

【０２８２】

Ｈｉｓタグを付けたＴＤＰ－４３の精製及び性状分析

６×Ｈｉｓ－タグを付けたＴＤＰ－４３（ｐＣＧＢ０２６）のための発現ベクターを、ｐＲＳＥＴ　Ａ発現ベクター（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）にＴＤＰ－４３配列をクローニングすることによって生成した。ｐＣＧＢ０２６によってＢＬ２１Ｓｔａｒ（ＤＥ３）ｐＬｙｓＳ大腸菌細胞（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を形質転換した。ＬＢブロスを含有する１Ｌの振盪フラスコにておよそ１ＯＤまで３７℃で増殖させた後、ＩＰＴＧを０．５ｍＭまで加え、細胞を１８℃で一晩増殖させた。低速遠心によって細胞をペレットにし、上清を捨て、細胞ペレットを－２０℃での保存のために凍結した。

【０２８３】

細胞ペレットを室温に平衡化し、プロテアーゼ阻害剤（ＰＩ）（最終濃度、ＰＩ：１ｍＭのＰＭＳＦ，５μＭ、のペプスタチンＡ，１ｍＭのベンズアミド，１０μＭのベスタチン，１０μＭのＥ６４，２０μＭのリューペプチン，１．５μＭのアプロチニン）を含有する５０ｍｌの５０ｍＭのＴｒｉｓ－ＨＣｌ、ｐＨ７．５，２０ｍＭイミダゾール、１５０ｍＭのＮａＣｌに再懸濁させた。大きな粒子を粉砕するために５分間ホモジネートした後、Ｍｉｃｒｏｆｌｕｉｄｉｚｅｒ（Ｍｉｃｒｏｆｌｕｉｄｉｃｓ，Ｉｎｃ．）を用いて高圧下で細胞を粉砕した。細胞溶解物を４℃にて１０，０００ｒｐｍで３０分間遠心した。２ｍＭの$MgCl_2$、完全にＥＤＴＡを含まないＰＩ錠剤（Ｒｏｃｈｅ）、１００μｇ／ｍＬのリゾチーム、５Ｕ／ｍＬのＤＮＡ分解酵素（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を含有する５ｍＬのＢ－ＰＥＲ溶液（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）に不溶

性のＨｉｓタグの付いたＴＤＰ－４３を再懸濁し、室温で１５分間インキュベートした。追加のＢ－ＰＥＲ／２ｍＭのＭｇＣｌ$_2$／ＰＩ錠剤の溶液を最終容積５０ｍＬに加え、混合物を１０，０００ｒｐｍにて１０分間遠心した。単離されたペレットを２０ｍＬの５０ｍＭのＴｒｉｓ－ＨＣｌ、ｐＨ７．５，２０ｍＭイミダゾール、１５０ｍＭのＮａＣｌ、ＰＩ緩衝液で２回洗浄し、その後１０，０００ｒｐｍにて１０分間遠心した。単離されたペレットを次いでＰＩを含有する８Ｍ尿素、２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．８に再懸濁し、その後ホモジネートし、１０，０００ｒｐｍにて１０分間遠心した。

【０２８４】

上清を単離し、０．４５μｍのフィルターで濾過し、ＰＩを伴った８Ｍ尿素、２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．８、０．５ＭのＮａＣｌにて平衡化されたＮｉ－ＮＴＡ樹脂（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）４ｍＬと混ぜ合わせ、４℃で揺らしながらインキュベートした。貫流分画を回収し、１０カラム体積の８Ｍ尿素、２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ５．３、０．５ＭのＮａＣｌによって樹脂を洗浄した。０．５カラム体積の分画で８Ｍ尿素、２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ４、０．５Ｍ塩化ナトリウムによってＨｉｓタグの付いたＴＤＰ－４３を溶出した。ピーク分画をプールし、ＵＶ分光計を用いてタンパク質濃度を測定した。精製された総収量は培養物のＬ当たり約８ｍｇだった。

【０２８５】

精製したタンパク質のＳＤＳ－ＰＡＧＥ解析は、約４７ｋＤａでの主要バンドを示し（データは提供せず）、４６．５ｋＤａの予想分子量と矛盾しなかった。精製したタンパク質の完全なままの質量分光分析は、４６５３８Ｄａでの主要ピークを示し、４６５２９．９Ｄａの予想質量と矛盾しなかった。精製したタンパク質に結合するＴＤＰ－４３に対する既知の市販の抗体の能力をＥＬＩＳＡによって測定した。アミノ酸２０５～２２２を認識するマウスのモノクローナル抗体（Zhang, H.-X. et al., 2008, Neuroscience Lett., 434, 170-74）及びそれぞれアミノ酸Ａｌａ－２６０及びＧｌｙ－４００の周辺の配列を認識するウサギのポリクローナル抗体Ａ２６０及びＧ４００は、すべて精製したＨｉｓタグの付いたＴＳＰ－４３に結合した（データは提供せず）。

【０２８６】

ヒトＴＤＰ－４３ドメインの組換え発現

ヒトのＴＤＰ－４３ドメインのコーディング配列を完全長ｃＤＮＡ配列（Ｑ１３１４８，ＴＡＲＤＢＰ＿ＨＵＭＡＮ）からＰＣＲによって増幅し、発現ベクターｐＲＳＥＴ－Ａ（米国、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）にクローニングした。４つの発現ベクター（Ｈｉｓ－ｈｕＴＤＰ－４３ドメインＩ、Ｈｉｓ－ｈｕＴＤＰ－４３ドメインＩＩ、Ｈｉｓ－ｈｕＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ及びＨｉｓ－ｈｕＴＤＰ－４３ドメインＩＶ）はそれぞれ４つのＴＤＰ－４３ドメイン：Ｎ－末端ドメイン（配列番号９４のアミノ酸残基２～１０６）、ＲＮＡ結合ドメイン１（配列番号９４のアミノ酸残基９９～２０４）、ＲＮＡ結合ドメイン２（配列番号９４のアミノ酸残基１８３～２７３）及びＧｌｙｃｉｎｅ－リッチドメイン（配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４）をコードしている。Ｔ７プロモータの制御下でＴＤＰ－４３ドメインをコードするｃＤＮＡを含むＤＮＡ構築物を用いて、たとえば、ＢＬ２１（ＤＥ３）（米国、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ）のような適当な大腸菌株を形質転換し、０．５ｍＭのイソプロピル－β－Ｄ－チオガラクトピラノシド（ＩＰＴＧ）の添加によって１５ｍＬの細胞培養物の発現を誘導した。３７℃での４時間のインキュベート後、細胞を回収し、１ｍＬの１００ｍＭのＫＣｌ、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ、２ｍＭのＥＧＴＡ、１ｍＭのＭｇＣｌ$_2$、１ｍＭのジチオスレイトール、０．１ｍＭのＰＭＳＦ、１０％グリセロール及び０．１ｍｇ／ｍｌのリゾチーム、ｐＨ７．５に再浮遊し、その後超音波処理した。４℃にて９０００ｒｐｍで４５分間の遠心の後、可溶性分画及び不溶性分画を回収した。同様に、対照の大腸菌から９０００ｇの上清を回収した。必要であれば（ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ）、１ｍＬの８Ｍ尿素、２０ｍＭのＴｒｉｓ、２００ｍＭのＫＣｌ及び１ｍＭのβ－メルカプトエタノールにて不溶性分画を可溶化した。可溶性分画及び可溶化分画をＮｉ－ＮＴＡ Ｓｕｐｅｒｆｌｏｗカラム（米国、Ｑｉａｇｅｎ）に負荷し、Ｈｉｓ－ＴＤＰ－４３ドメインを製造元のプロトコールに従って

精製した。組換えタンパク質の純度の等級をＳＤＳ－ＰＡＧＥ及びクマシー染色によって推定した。精製したタンパク質の濃度は２８０ｎｍの吸収測定によって決定した。

【０２８７】

直接ＥＬＩＳＡ

９６穴マイクロプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）を、炭酸ＥＬＩＳＡコーティング緩衝液（ｐＨ９．６）にてそれぞれ６．６μｇ／ｍｌ又は３．３μｇ／ｍｌの濃度に希釈されたヒト完全長ＴＤＰ－４３、ＴＤＰ－４３ドメインＩ（配列番号９４のアミノ酸残基２～１０６）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基９９～２０４）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基１８３～２７３）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４）又はＴＤＰ－４３のドメインのＣ末端の残基３９０～４１４（配列番号９４を参照）を占め、残基４０９／４１０にてリン酸化の修飾を持つ合成ペプチド（Ｓｃｈａｆｅｒ－Ｎ、ＤＫ）によって４℃にて一晩コーティングした。２％ＢＳＡ（スイス、ブックスのＳｉｇｍａ）を含有するＰＢＳ／Ｔによって室温にて１時間、非特異的な結合部位をブロックした。抗体を室温にて１時間インキュベートした。ＨＲと複合体化されたロバ抗ヒトＩｇＧγ特異抗体（米国、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）又はＨＲＰと複合体化されたヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）特異的二次抗体（米国、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）のいずれかを用いて結合を測定し、その後、標準の比色アッセイにてＨＲＰの活性を測定した。

【０２８８】

ウエスタンブロット解析

組換えのヒト完全長ＴＤＰ－４３、ＴＤＰ－４３ドメインＩ（配列番号９４のアミノ酸残基２～１０６）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基９９～２０４）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基１８３～２７３）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４）のそれぞれ３００ｎｇをＳＤＳ-ＰＡＧＥ（ＮｕＰＡＧＥ、１２％Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　Ｇｅｌ；スイスバーゼルのＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）によって分離し、その後、ニトロセルロース膜に電気ブロットした。２％ＢＳＡ（スイス、ブックスのＳｉｇｍａ）を含有するＰＢＳ／Ｔによって室温にて１時間、非特異的な結合部位をブロックした。ブロットを一次抗体（１０ｎＭ）と共に一晩インキュベートし、その後、ＨＲＰと複合体化されたロバ抗ヒトＩｇＧγ特異的二次抗体（米国、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）又はＨＲＰと複合体化されたヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）特異的二次抗体（米国、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）のいずれかと共にインキュベートした。ＥＣＬ及びＩｍａｇｅＱｕａｎｔ３５０検出（スイス、オテルフィンゲンのＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）によってブロットを発色させた。

【０２８９】

２試行Ｙ迷路試験

抗体で処理したＴＤＰ－４３タンパク質症のマウスモデルにおける作業記憶の改善は、２試行Ｙ迷路試験を用いて調べることができる（たとえば、その全体が参照によって本明細書に組み入れられるPennanen, Genes Brain Behav. 5 (2006), 369-79）。迷路の３つのアームは長さ２２ｃｍ、幅５ｃｍ及び深さ１５ｃｍである。迷路を取り囲む黒色カーテン上に白黒の抽象的なヒントがある。実験は暗相の間、６ルクスの周囲の光レベルで実施される。各実験は訓練期間と観察期間を含む。訓練期間の間、マウスは３つのアームのうち２つ（出発アーム及び第２のアーム）に割り振られ、４分間自由に探索できるが、第３のアーム（新規のアーム）にアクセスすることはできない。次いでマウスを迷路から取り出し、１．５～５分間、保持ケージに閉じ込める一方で、７０％アルコールで迷路を十分に清掃し、嗅覚のヒントを除去する。次いで観察のためにマウスを迷路に戻し、４分間３つのアームすべてにアクセス可能にする。各アームに入った順、入った回数、各アームで費やした時間を記録する。それから、他の２つのアーム（出発アーム及び第２のアーム）で費やした時間の平均に対する新規の第３のアームで費やした時間の比を算出し、

タウオパシーのマウスモデル及び相当する野生型マウスにおける異なる処理群の間で比較する。齧歯類は通常、以前訪れたものに戻るよりも迷路の新しいアームを探索することを好む。抗体の効果は、その疾病に関連する作業記憶の損傷のために無処理のマウスの非弁別行動と比べた処理したＴＤＰ－４３タンパク質症モデルマウスによるこの嗜好を取り戻すことに関してモニターすることができる。従って、１に近い比は損傷された作業記憶を示す。高い比ほど、さらに良好な作業記憶を示す。ＴＤＰ－４３タンパク質症モデルマウスにおける損傷された作業記憶は、ヒトＴＤＰ－４３の過剰発現から生じるＴＤＰ－４３の病理によると考えられる。従って、抗ＴＤＰ－４３抗体で処置したマウスで見られる対照マウスよりも有意に高い比は、抗ＴＤＰ－４３抗体がＴＤＰ－４３の病理に対して治療効果を有することを示すであろう。

【０２９０】

ポール試験

マウスが最も活発である暗相の始まりでマウスを調べる。ポールは登るのを円滑にするように布で覆われた長さ５０ｃｍ及び幅１ｃｍの木製の棒で構成される。ポールの基はマウスのホームケージの中に置かれる。マウスをポールの上端に載せ、下方を向く時間及びホームケージに降りてくる時間を３０分間隔で５試行にわたって記録する。最良の成績の試行を解析する。

【０２９１】

高架式十字迷路試験

マウスが最も活発である暗相の始まりでマウスを調べる。試験は薄明かり（４０ルクス）で行う。高架式十字迷路は２つの開放アームと２つの閉鎖アーム（アームの長さ：３０ｃｍ、幅：５ｃｍ）から成る。開放アームは小さな１ｃｍの縁を有し、閉鎖アームには１５ｃｍの壁が接する。試験の開始時、マウスを開放アームに面して高架式十字迷路の中央に置く。マウスが５分間迷路を探索する間、ビデオで追跡する。開放アーム及び閉鎖アームで費やした時間及びカバーされる距離を測定し、解析する。

【０２９２】

実施例１：ＥＬＩＳＡ及びウエスタンブロットによるヒトＴＤＰ－４３抗体の結合の解析

直接ＥＬＩＳＡ

９６穴のマイクロプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）を、配列番号９４のＴＤＰ－４３アミノ酸残基２～１０６（ＴＤＰ－４３ドメインＩ）、配列番号９４の残基９９～２０４（ＴＤＰ－４３ドメインＩＩ）、配列番号９４の残基１８３～２７３（ＴＤＰ－４３ドメインＩＩ）、配列番号９４の残基２５８～４１４（ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ）、配列番号９４の残基２－４１４（完全長ＴＤＰ－４３）及び配列番号９４の残基４０９／４１０にてリン酸化の修飾を持つ残基３９０～４１４（を参照）を含有する合成ポリペプチドを含むポリペプチドでコーティングした。６．６μｇ／ｍｌ（組換えＴＤＰ－４３及びＴＤＰ－４３断片）又は３．３μｇ／ｍｌ（合成ペプチド）の等しいコーティング濃度でポリペプチドをＥＬＩＳＡプレートにコーティングした。ヒト由来の抗体の結合を直接ＥＬＩＳＡによって測定した。

【０２９３】

抗体ＮＩ－２０５．５１Ｃ１（図２Ａ）及びＮＩ－２０５．３Ｆ１０（図２Ｃ）はＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基１８３～２７３）に特異的に結合した。抗体ＮＩ－２０５．８Ａ２（図２Ｄ）、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２（図２Ｅ）、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３（図２Ｇ）及びＮＩ－２０５．２１Ｇ１（図２Ｉ）は、ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４）に特異的に結合した。抗体ＮＩ－２０５．８７Ｅ７（図２Ｈ）はＴＤＰ－４３ドメインＩ（配列番号９４のアミノ酸残基２～１０６）に特異的に結合した。抗体ＮＩ－２０５．２１Ｇ２（図２Ｂ）及びＮＩ－２０５．１１３Ｃ４（図２Ｆ）は、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基９９～２０４）に特異的に結合した。ヒト由来のＴＤＰ－４３に特異的な抗体はすべて完全長のＴＤＰ－４３を特異的に認識した。異なるＴＤＰ－４３ドメインのコーティングの効率性を制御するために、完全長ＴＤＰ－４３及び特異的なＴＤＰ－４３ドメイ

ンに結合する市販の抗体：Ａｂ５０９３０（英国、Ａｂｃａｍ）、ＴＤＰ－４３ドメイン－１；ＴＡＲＤＢＰモノクローナル抗体（Ｍ０１）、クローン２Ｅ２－Ｄ３（台湾、Ａｂｎｏｖａ）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ、及びＡｂ８２６９５（米国、Ａｂｃａｍ）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＶを使用した。対照抗体は完全長ＴＤＰ－４３及びその特異的ＴＤＰ－４３ドメインに結合した。

【０２９４】

ウエスタンブロットによる異なるＴＤＰ－４３ドメインへの結合

組換えの完全長ＴＤＰ－４３、ＴＤＰ－４３ドメインＩ（配列番号９４のアミノ酸残基２～１０６）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基９９～２０４）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基１８３～２７３）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４）をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分離した。市販の　ＴＤＰ－４３特異抗体ＴＡＲＤＢＰ（Ｍ０１）、クローン２Ｅ２－Ｄ３（台湾のＡｂｎｏｖａ）をヒトＴＤＰ－４３検出の陽性対照として使用した一方で、抗ヒトＩｇＧのＦｃγ特異抗体を陰性対照として使用した。ヒト由来の抗体の特異的なＴＤＰ－４３ドメインへの結合はウエスタンブロット解析によって測定した。

【０２９５】

ウエスタンブロットは、抗体：（ａ）ＮＩ－２０５．５１Ｃ１及びＮＩ－２０５．３Ｆ１０抗体がＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基１８３～２７３）に特異的に結合し；（ｂ）ＮＩ－２０５．８Ａ２及びＮＩ－２０５．２１Ｇ１がＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４）に特異的に結合し；（ｃ）ＮＩ－２０５．２１Ｇ２がＴＤＰ－４３ドメインＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基９９～２０４）を特異的に認識し；（ｄ）ＮＩ－２０５．５１Ｃ１、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２がＴＤＰ－４３のドメインに加えてヒト完全長ＴＤＰ－４３認識し；及び（ｅ）ヒト由来の抗体ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２及びＮＩ－２０５．８７Ｅ７が完全長ＴＤＰ－４３を認識したが、特定のＴＤＰ－４３ドメインと結合するとは思われないことを示した。（データは提供せず）。さらに、ホスホ－ＴＤＰ－４３のＣ末端ペプチドを優先的に又は専ら結合する（実施例２を参照）抗体ＮＩ－２０５．６８Ｇ５及びＮＩ－２０５．２０Ａ１は組換えの完全長ＴＤＰ－４３又はその断片を認識するとは思われなかった（データは提供せず）。

【０２９６】

実施例２：ヒトＴＤＰ－４３結合抗体のＥＣ$_{50}$の決定

５０％効果濃度（ＥＣ$_{50}$）の決定

ヒトＴＤＰ－４３に対するヒト由来のＴＤＰ－４３特異抗体の５０％効果濃度（ＥＣ$_{50}$）を決定し、標的特異性を評価するために、炭酸ＥＬＩＳＡコーティング緩衝液（ｐＨ９．６）にて５μｇ／ｍｌの濃度に希釈した組換え完全長のＴＤＰ－４３（米国、Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ、大腸菌抽出物）及びＢＳＡ（スイス、ブックスのＳｉｇｍａ）によって９６穴マイクロプレートを４℃にて一晩コーティングした。或いは、炭酸ＥＬＩＳＡコーティング緩衝液（ｐＨ９．６）にて３．３μｇ／ｍｌの濃度に希釈した残基４０９／４１０にてリン酸化の修飾を持つＴＤＰ－４３のＣ末端ドメインの残基３９０～４１４に相当する合成ペプチド（Ｓｃｈａｆｅｒ－Ｎ，ＤＫ）及びＢＳＡ（スイス、ブックスのＳｉｇｍａ）によって９６穴ハーフエリアマイクロプレートを４℃にて一晩コーティングした。２％ＢＳＡ（スイス、ブックスのＳｉｇｍａ）を含有するＰＢＳによって室温にて１時間、非特異的な結合部位をブロックした。ＴＤＰ－４３特異抗体を指示された濃度に希釈し、室温にて１時間インキュベートした。ＨＲＰと複合体化されたロバ抗ヒトＩｇＧγ特異的二次抗体（米国、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）を用い、その後、標準の比色アッセイにてＨＲＰの活性を測定することによって結合を測定した。ＥＣ$_{50}$値はＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ（米国、サンディエゴ）を用いた非線形回帰によって推定した。

【０２９７】

表４に開示するように、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１及びＮＩ－２０５．２１Ｇ２はそれぞれ１８０ｐＭ及び２４０ｐＭの、ナノモルより低いのＥＣ$_{50}$での高親和性でヒトＴＤＰ－４３に結合する。これらの抗体については、ホスホ-ＴＤＰ－４３のＣ末端ペプチドへの結合は認められなかった。抗体ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、及びＮＩ－２０５．８７Ｅ７はヒトＴＤＰ－４３に結合したが、ホスホ-ＴＤＰ－４３のＣ末端ペプチドには結合しなかった。これらの抗体のヒトＴＤＰ－４３タンパク質に対するＥＣ$_{50}$値は１～１８ｎＭの範囲だった。ＮＩ－２０５．２１Ｇ１は４．１ｎＭのＥＣ$_{50}$で完全長ＴＤＰ－４３に結合し、４９．５ＭのＥＣ$_{50}$での、より低い親和性でホスホ-ＴＤＰ－４３のＣ末端ペプチドを認識した。抗体ＮＩ－２０５．６８Ｇ５及びＮＩ－２０５．２０Ａ１はそれぞれ、１６．９及び１５．８ｎＭのＥＣ$_{50}$でホスホ-ＴＤＰ－４３のＣ末端ペプチドへの優先的な又は専らの結合を示し、ＴＤＰ－４３の４０９位でのセリン及び／又は４１０位でのセリンのリン酸化がＮＩ－２０５．６８Ｇ５及びＮＩ－２０５．２０Ａ１による結合に必要とされることを示唆している。

【０２９８】

【表４】

表４．ＴＤＰ－４３及びリン酸化されたＴＤＰ－４３に対する抗体の親和性

抗体	完全長 TDP-43 EC_{50} (nM)	ホスホ-TDP-43 ペプチド EC_{50} (nM)
NI-205.51C1	0.18	N.A.
NI-205.21G2	0.24	N.A.
NI-205.3F10	1.4～2.8	N.A.
NI-205.8A2	7.2	N.A.
NI-205.15F12	7.2	N.A.
NI-205.113C4	13.2	N.A.
NI-205.25F3	13.3	N.A.
NI-205.87E7	17.2	N.A.
NI-205.21G1	4.1	49.5
NI-205.68G5	>100	16.9
NI-205.20A1	N.A.	15.8

表４：ヒト由来のＴＤＰ－４３結合抗体の組換えＴＤＰ－４３及びホスホ－ＴＤＰ－４３ペプチドへのＥＣ$_{50}$結合

【０２９９】

実施例３：合成ペプチドによるエピトープのマッピング（ＰｅｐＳｐｏｔｔｉｎｇ）

重なり合うペプチドの走査を用いて、ヒト由来のＴＤＰ－４３特異抗体によって認識されるヒトＴＤＰ－４３タンパク質の中でのエピトープをマッピングした。まとめてヒトＴＤＰ－４３（Ｑ１３１４８，ＴＡＲＤＢＰ＿ＨＵＭＡＮ）の配列全体を表す１１アミノ酸が重なり合う配列の１０１の直鎖１５量体を伴ったＰｅｐｓｃａｎ膜（ＰｅｐＳｐｏｔｓ，ドイツ、ベルリンのＪＰＴ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）。ニトロセルロース膜上でペプチドのスポットを作り、次いでメタノール中で５分間活性化し、その

後、ＴＢＳにて１０分間室温で洗浄した。Ｒｏｔｉ（登録商標）－Ｂｌｏｃｋ（ドイツ、カールスルーエのＣａｒｌ　Ｒｏｔｈ　ＧｍｂＨ　Ｃｏ．ＫＧ）によって室温にて２時間、非特異的な結合部位をブロックした。ヒト由来のＴＤＰ－４３特異抗体（１μｇ／ｍｌ）をＲｏｔｉ（登録商標）－Ｂｌｏｃｋにて室温で３時間インキュベートした。ＨＲＰ抱合のロバ抗ヒトＩｇＧγ特異的な二次抗体（米国、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）を用いて一次抗体の結合を測定した。ＥＣＬ及びＩｍａｇｅＱｕａｎｔ３５０検出（スイス、オテルフィンゲンのＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）によってブロットを発色させた。

表４は、ＰｅｐＳｐｏｔを用いて特定された様々なヒト由来のＴＤＰ－４３特異抗体について特定された結合エピトープを要約する。

【０３００】

【表５】

表５．ヒトＴＤＰ－４３タンパク質配列内で特定された結合エピトープ

抗体	結合エピトープ
NI-205.3F10	213-QYGDVMDVFIP-223(配列番号 123)
NI-205.8A2	381-AAIGWGSASNA-391(配列番号 124)
NI-205.51C1	201-DMTEDELREFF-211 (配列番号 125)
NI-205.87E7	9-EDENDEP-15 (配列番号 126)
NI-205.113C4	133-VQVKKDL-139 (配列番号 127)
NI-205.21G2	121-KEYFSTF-127 (配列番号 128)

【０３０１】

実施例４：ヒト脊髄及び脳の組織におけるＴＤＰ－４３の病的な形態に対するヒト組換えＴＤＰ－４３抗体の結合

ＴＤＰ－４３抗体結合の能力の検証のために、ヒトＡＬＳ患者又はヒトＦＴＬＤ患者の脊髄及び脳の切片を使用した。ＴＤＰ－４３病態に対する抗体の結合を免疫組織化学染色によって評価した。ヒト組換えＴＤＰ－４３抗体の結合はヒトＦＴＬＤ－ＴＤＰ－４３症例の組織（１０人の患者症例、７人の対照症例）にて特徴付けた。免疫組織化学は、５μｍのパラフィン包埋切片にて実施し、ＥＤＴＡに基づいたエピトープ検索の使用を含み、その後、、それ以外は標準の、ＤＡＢ（Ｐｉｅｒｃｅ）を伴ったＥｌｉｔｅＡＢＣキット（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）による免疫ペルオキシダーゼ手順を実施した。以下の一次抗体を使用した：陽性対照としてヒトＴＤＰ－４３に対して産生させたマウスモノクローナル抗体２Ｅ２－Ｄ３（Ａｂｎｏｖａ）；ここ／上記で記載される組換えヒトＴＤＰ－４３抗体ＮＩ２０５．３Ｆ１０、ＮＩ２０５．５１Ｃ１、ＮＩ２０５．２１Ｇ２、ＮＩ２０５．８Ａ２、ＮＩ２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ２０５．２５Ｆ３、ＮＩ２０５．８７Ｅ７、ＮＩ２０５．２１Ｇ１、ＮＩ２０５．６８Ｇ５、ＮＩ２０５．２０Ａ１。ヘマトキシリンで切片を対比染色して細胞核を示した。

【０３０２】

抗体ＮＩ２０５．８Ａ２、ＮＩ２０５．３Ｆ１０、ＮＩ２０５．２１Ｇ２、及びＮＩ２０５．２１Ｇ１は、核のＴＤＰ－４３よりも細胞質のＴＤＰ－４３（すなわち、ＴＤＰ－４３の病的な形態）に優先的に結合した。それに対して、市販の陽性対照抗体２Ｅ２（台湾のＡｂｎｏｖａ）は核と細胞質双方のＴＤＰ－４３に結合することが認められた。興味深いことに、抗体ＮＩ２０５．２１Ｇ１の結合はリン酸化されたＴＤＰ－４３を認識する対照抗体で認められた結合に匹敵すると思われる非常に特異的な結合を示した（図１１Ｅ及びＨ）。

【０３０３】
実施例５：ＴＤＰ－４３抗体の生体内での検証
ＴＤＰ－４３抗体の前臨床の検証のための実験をＴＤＰ－４３タンパク質症のマウスモデルにて実施する。末梢注射又は浸透圧ミニポンプを介した脳室内注入によってヒトＴＤＰ－４３抗体を投与する。血液及びＣＳＦ試料の分析、及び体重、一般的な臨床的印象、及び、たとえば、オープンフィールド、Ｙ－迷路、高架式十字迷路、新規の目的認識、握力、足握力持久力、ポール試験、挑戦的なビームウォーク、ロータロッド又はさもなければ当該技術で既知のものを介して見られるような運動及び認知の損傷の兆候の分析によって治療効果をモニターする。
【０３０４】
治療試験の完了の際、採取した血液及びＣＳＦにおけるＴＤＰ－４３のレベルの変化を測定し、生理的な及び病的なＴＤＰ－４３の脳及び脊髄の含量についての定量的な免疫組織化学法及び生化学法、及び一般的な神経病理によって脳及び脊髄を評価する。
【０３０５】
本発明の抗体及び他のＴＤＰ－４３結合分子を検証するのに有用な前臨床モデルには、Ｗｅｇｏｒｚｅｗｓｋａら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．１０６（２００９），１８８０９－１４によって記載されたようなＴＤＰ－４３－Ａ３１５Ｔマウスモデルが挙げられる。Ａ３１５Ｔマウスは ＴＤＰ－４３タンパク質症のトランスジェニックモデルであり、マウスの表現型がＡＬＳ及びユビキチン凝集を伴う前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ－Ｕ）双方の特徴を示す。
【０３０６】
さらなる好適なモデルには、Ｇｕｒｎｅｙら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２６４（１９９４），１７７２－７５によって記載されたようなＢ６．Ｃｇ－Ｔｇ（ＳＯＤ１＊Ｇ９３Ａ）１Ｇｕｒ／Ｊマウスモデル系が挙げられる。このマウス系統は、ヒトのスーパーオキシドジスムターゼ１のＧ９３Ａ変異形態を発現し、運動ニューロンの疾患の兆候を発生し、その後、進行して６～８ヵ月以内に死亡する。これらのマウスは、運動ニューロンの細胞質へのＴＤＰ－４３の特徴的な再分布及びＴＤＰ－４３の免疫反応性の封入体の発生を示すので、ＴＤＰ－４３を標的とする薬学的介入を研究するのに好適なモデルである。たとえば、Ｓｈａｎら、Ｎｅｕｒｏｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｌｅｔｔｅｒｓ、４５８（２００９），７０－７４を参照のこと。
【０３０７】
ＴＤＰ－４３抗体を検証するさらなる実験をＷｉｌｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ．１０６（２０１０），３８５８－６３によって記載されたようなＴＤＰ４３ＷＴマウスモデル系にて実施する。このマウス系統は野生型のヒトＴＤＰ－４３を発現し、皮質及び脊髄の運動ニューロンの変性及びＡＬＳの痙攣性四肢麻痺の追想を発生する。ＦＴＬＤに特徴的な皮質及び皮質下の非運動性ニューロンの用量依存性の変性もこのマウス系統で認められる。冒された脊髄及び脳の領域におけるニューロンは、双方ともＡＬＳ／ＦＴＬＤの患者で見られるようにユビキチン化され、リン酸化されている核及び細胞質のＴＤＰ－４３の凝集体の蓄積を示す。
【０３０８】
ＴＤＰ－４３抗体を検証するさらなる実験をＤｕｃｈｅｎ及びＳｔｒｉｃｈ，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｌ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．Ｐｓｙｃｈｉａｔｒｙ、３１（１９６８），５３５－４２によって記載されたような運動ニューロン疾患の独立したモデル、Ｗｏｂｂｌｅｒマウスモデル（Ｂ６．Ｂ‐Ｖｐｓ５４ｗｒ／Ｊ，Ｊａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから入手可能）にて実施する。このマウスモデルは、散発性ＡＬＳを連想する広範な細胞内のユビキチン封入体及びＴＤＰ－４３の異常な細胞質分布を示すことが報告された。たとえば、Ｄｅｎｎｉｓ及びＣｉｔｒｏｎ，Ｎｅｕｒｏｓｃｉｅｎｃｅ、１８５（２００９），７４５－５０を参照のこと。
【０３０９】
ＴＤＰ－４３抗体を検証するさらなる実験を、内因性プロモータの制御下でヒトのゲノ

ムＴＤＰ－４３＿Ｇ３４８Ｃを過剰発現する最近性状分析されたＴＤＰ－４３＿Ｇ３４８Ｃトランスジェニックマウスにて実施する。Ｓｗａｒｕｐら、Ｂｒａｉｎ、１３４（２０１１），２６１０－２６２６を参照のこと。

【０３１０】

ＴＤＰ－４３抗体を検証するさらなる実験を、ＴＤＰ－４３、たとえば、ＴＤＰ－４３のＣ末端の切り詰めのようなＴＤＰ－４３の変異体、患者集団で見られるＴＤＰ－４３の変異、又はＴＤＰ－４３の核の局在のような細胞の局在に影響する変異体を発現する又は過剰発現するトランスジェニック細胞株及びトランスジェニック動物を含むモデル系で実施する。ＴＤＰ－４３モデル系、たとえば、ＴＤＰ－４３抗体を検証するための細胞株及び動物モデルにはさらに、異なる遺伝子の発現における変化を生じる、実証されたＴＤＰ－４３の上方調節又は蓄積を伴う系、たとえば、プログラニュリンの下方調節を伴うＷｏｂｂｌｅｒマウス及びモデルが挙げられる。一実施形態では、ＴＤＰ－４３抗体を検証する実験は、前脳にて核の局在シグナルを欠損するヒトＴＤＰ－４３を発現するマウス（Igaz et al., J Clin Invest. 121(2):726-38 (2011)）；ニューロンにてＴＤＰ－４３の２５ｋＤａのＣ末端断片を選択的に発現するトランスジェニックマウス（Caccamo et al., Am J Pathol. 180(1):293-302 (2012)）；前脳にて野生型のヒトＴＤＰ－４３（ｈＴＤＰ－４３）を条件付きで発現するトランスジェニックマウス（Cannon et al., Acta Neuropathol. 123(6):807-23 (2012)）；及びヒトＶＣＰ／ｐ９７の野生型及び疾患を生じる型の普遍的な発現を伴うトランスジェニックマウス（Custer et al., Hum Mol Genet. 19(9):1741-55 (2010)）にて実施される。別の実施形態では、ＴＤＰ－４３抗体を検証する実験は、野生型ＴＤＰ－４３、核局在シグナルを欠損するＴＤＰ－４３、又は配列番号９４の残基２２０～４１４を含むＴＤＰ－４３の切り詰められたＣ末端断片をコードするＡＡＶベクターで形質移入されたマウスで実施される。Ｔａｔｏｍら、Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．１７（２００９），６０７－６１３。

【０３１１】

慢性有効性試験：本明細書で開示されるヒト抗ＴＤＰ－４３抗体の医薬効果を評価するために、ＴＤＰ－４３＿Ｇ３４８Ｃトランスジェニックマウス（Swarup et al., Brain 134 (2011), 2610-2626）を、ヒト抗ＴＤＰ－４３抗体又は媒体対照の１０ｍｇ／ｋｇのｉ．ｐ．注射によって１６～２４週間の期間、毎週処理する。１２週の処理の後、尾静脈採血によって血液試料を採取する。ＥＬＩＳＡによって血清の抗ＴＤＰ－４３抗体のレベルを測定する。１２週及び２２週の処理の後、オープンフィールド試験、Ｙ迷路試験、高架式十字迷路試験、新規の目的認識試験、握力試験、足握力持久力（ＰＡＧＥ）試験、ポール試験、挑戦的なビームウォーク試験、又はロータロッド試験を用いて神経行動及び認知／運動行動を評価する。抗体処理動物と対照動物の神経行動及び認知／運動行動の試験成績を比較する。抗体処理動物の改善された成績は、抗ＴＤＰ－４３抗体の治療有効性を示す。

【０３１２】

急性有効性試験：５０ｍｇ／ｋｇまでの抗ＴＤＰ－４３抗体又は媒体対照の１～４回のｉ．ｐ．注射によって１週間の範囲内でＴＤＰ－４３＿Ｇ３４８Ｃトランスジェニックマウス（Swarup et al., Brain 134 (2011), 2610-2626）を処理する。処理の終了時、尾静脈採血によって血液試料を採取する。ＥＬＩＳＡによって血清の抗ＴＤＰ－４３抗体のレベルを測定する。１週間の処理期間の終了時、オープンフィールド試験、Ｙ迷路試験、高架式十字迷路試験、新規の目的認識試験、握力試験、足握力持久力（ＰＡＧＥ）試験、ポール試験、挑戦的なビームウォーク試験、又はロータロッド試験を用いて神経行動及び認知／運動行動を評価する。抗体処理動物と対照動物の神経行動及び認知／運動行動の試験成績を比較する。抗体処理動物の改善された成績は、抗ＴＤＰ－４３抗体の治療有効性を示す。

【０３１３】

実施例６：直接ＥＬＩＳＡによるヒト抗ＴＤＰ－４３抗体の結合親和性（EC_{50}）の測定

ヒトＴＤＰ－４３に対するヒト由来のＴＤＰ－４３特異抗体の５０％効果濃度（EC_{50}）及びその標的特異性を実質的に上記実施例２に記載されたように測定した。手短には、炭酸ＥＬＩＳＡコーティング緩衝液（ｐＨ９．６）にて５μｇ／ｍｌの濃度に希釈した組換え完全長のＴＤＰ－４３（米国、Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ、大腸菌抽出物）及びＢＳＡ（スイス、ブックスのＳｉｇｍａ）によって９６穴マイクロプレートを４℃にて一晩コーティングした。或いは、炭酸ＥＬＩＳＡコーティング緩衝液（ｐＨ９．６）にて３．３μｇ／ｍｌの濃度に希釈した残基４０９／４１０にてリン酸化の修飾を持つＴＤＰ－４３のＣ末端ドメインの残基３９０～４１４に相当する合成ペプチド（Ｓｃｈａｆｅｒ－Ｎ，ＤＫ）及びＢＳＡ（スイス、ブックスのＳｉｇｍａ）によって９６穴ハーフエリアマイクロプレートを４℃にて一晩コーティングした。２％ＢＳＡ（スイス、ブックスのＳｉｇｍａ）を含有するＰＢＳによって室温にて１時間、非特異的な結合部位をブロックした。ヒトＴＤＰ－４３特異抗体を指示された濃度に希釈し、室温にて１時間インキュベートした。ＨＲＰと複合体化されたロバ抗ヒトＩｇＧγ特異的二次抗体（米国、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）を用い、その後、標準の比色アッセイにてＨＲＰの活性を測定することによって結合を測定した。EC_{50}値はＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウエア（米国、サンディエゴ）を用いた非線形回帰によって推定した。４１Ｄ１、２１Ｇ１、３１Ｄ２及び８Ｆ８の抗体で得られた例となる滴定曲線を図４に示す。

【０３１４】

表６で開示されるように、抗体ＮＩ－２０５．４１Ｄ１（図４Ａ及びＥ）、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１及びＮＩ．２０５－２１Ｇ２はそれぞれ、６０ｐＭ、１８０ｐＭ及び２４０ｐＭのナノモル以下のEC_{50}での高親和性でヒトＴＤＰ－４３に結合した。ホスホ-ＴＤＰ－４３Ｃ末端ペプチドへの結合は認められなかった。抗体ＮＩ－２０５．１Ａ９、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、ＮＩ－２０５．１４Ｗ３、ＮＩ－２０５．９８Ｈ６、ＮＩ－２０５．４４Ｂ２、ＮＩ－２０５．９Ｅ１２Ａ、ＮＩ－２０５．８Ａ２、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、ＮＩ－２０５．１０Ｄ３、ＮＩ－２０５．３８Ｈ２、ＮＩ－２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ－２０５．９Ｅ１２Ｄ、ＮＩ－２０５．３１Ｃ１１、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．１０Ｈ７、ＮＩ－２０５．８Ｃ１０、及びＮＩ－２０５．８７Ｅ７は、ナノモルのEC_{50}でヒトＴＤＰ－４３に結合したが、ホスホ-ＴＤＰ－４３Ｃ末端ペプチドには結合しなかった。これらの抗体についてのEC_{50}値は１～１８ｎＭの範囲であった（表６を参照）。抗体ＮＩ－２０５．２１Ｇ１（図４Ｂ及びＦ）は４．１ｎＭのEC_{50}で完全長のＴＤＰ－４３に結合し、４９．５ｎＭのEC_{50}での低親和性でホスホ-ＴＤＰ－４３Ｃ末端ペプチドを認識した。抗体ＮＩ－２０５．３１Ｄ２（図４Ｃ及びＧ）、ＮＩ－２０５．１４Ｈ５、ＮＩ－２０５．３６Ｄ５、ＮＩ－２０５．１９Ｇ５及びＮＩ－２０５．６８Ｇ５は、０．７～１７ｎＭの範囲であるEC_{50}値でホスホ-ＴＤＰ－４３Ｃ末端ペプチドに優先的に結合することを示した（表６を参照）。対照的に、抗体ＮＩ－２０５．８Ｆ８、ＮＩ－２０５．８Ｆ８（図４Ｄ及びＨ）及びＮＩ－２０５．２０Ａ１は、それぞれ５ｎＭ、７ｎＭ及び１６ｎＭのナノモルEC_{50}での高親和性でヒトのホスホ-ＴＤＰ－４３Ｃ末端ペプチドに専ら結合したということは、セリン４０９及び／又はセリン４１０のリン酸化が結合に必要とされるという考えに矛盾しなかった。

【０３１５】

【表６－１】
表６．ヒト組換えＴＤＰ－４３及びホスホ-ＴＤＰ－４３Ｃ末端ペプチドへのヒト由来のＴＤＰ－４３抗体のＥＣ$_{50}$結合

抗体	EC_{50} [nM]	
	完全長 TDP-43	ホスホ-TDP-43 ペプチド
NI-205.41D1	0.06	結合せず
NI-205.51C1	0.18	結合せず
NI-205.21G2	0.24	結合せず
NI-205.1A9	1.0	結合せず

【表６－２】

NI-205.3F10	1.4	結合せず
NI-205.14W3	1.5	結合せず
NI-205.98H6	2.6	結合せず
NI-205.44B2	2.8	結合せず
NI-205.9E12A	3.7	結合せず
NI-205.8A2	7.2	結合せず
NI-205.15F12	7.2	結合せず
NI-205.10D3	7.3	結合せず
NI-205.38H2	8.2	結合せず
NI-205.29E11	10.4	結合せず
NI-205.9E12D	11.2	結合せず
NI-205.31C11	11.0	結合せず
NI-205.113C4	13.2	結合せず
NI-205.25F3	13.3	結合せず
NI-205.10H7	15.3	結合せず
NI-205.8C10	15.6	結合せず
NI-205.87E7	17.2	結合せず
NI-205.21G1	4.1	49.5
NI-205.31D2	＞41.0	0.69
NI-205.14H5	＞100	0.90
NI-205.36D5	＞72.0	4.3
NI-205.19G5	＞200	13.6
NI-205.68G5	＞100	16.9
NI-205.8F8	結合せず	5.1
NI-205.58E11	結合せず	6.9
NI-205.20A1	結合せず	15.8

【０３１６】

実施例７：ＥＬＩＳＡ及びウエスタンブロットによるヒトＴＤＰ４３抗体の結合解析

直接ＥＬＩＳＡ

実施例１に記載したように直接ＥＬＩＳＡを実質的に実施した。手短には、アミノ酸２～１０６（ドメインＩ）、９９～２０４（ドメインＩＩ）、１８３～２７３（ドメインＩＩ）、２５８～４１４（ドメインＩＶ）及び完全長ＴＤＰ－４３（２－４１４）を含む

ＴＤＰ－４３（配列番号９４）の断片を６．６μｇ／ｍｌの等しいコーティング濃度でＥＬＩＳＡプレートにコーティングした。ヒト由来の抗体の結合を直接ＥＬＩＳＡによって測定した。得られた結果の例を図５に示す。抗体ＮＩ－２０５．４１Ｄ１（図５Ａ）、ＮＩ－２０５．１４Ｗ３（図５Ｃ）、ＮＩ－２０５．４４Ｂ２（図５Ｅ）、ＮＩ－２０５．１０Ｄ３（図５Ｇ）、及びＮＩ－２０５．１０Ｈ７（図５Ｌ）は、ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（ａａ２５８～４１４）に特異的に結合した。抗体ＮＩ－ＮＩ－２０５．９８Ｈ６（図５Ｄ）は、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ（ａａ１８３～２７３）に特異的に結合した。抗体ＮＩ－２０５．１Ａ９（図５Ｂ）、ＮＩ－２０５．３８Ｈ２（図５Ｈ）、及びＮＩ－２０５．３１Ｃ１１（図５Ｋ）は、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩ（ａａ９９～２０４）を特異的に認識したが、抗体ＮＩ－２０５．９Ｅ１２Ａ（図５Ｆ）、ＮＩ－２０５．２９Ｅ１１（図５Ｉ）、ＮＩ－２０５．９Ｅ１２Ｄ（図５Ｊ）、及びＮＩ－２０５．８Ｃ１０（図５Ｍ）は、ＴＤＰ－４３ドメインＩ（ａａ２～１０６）に結合した。ヒト由来のＴＤＰ－４３特異抗体はすべて完全長のヒトＴＤＰ－４３を認識した。異なる組換えＴＤＰ－４３ドメインのコーティング効率性を制御するために、完全長ＴＤＰ－４３及び特定のＴＤＰ－４３ドメインに結合する市販の抗体用いた：（Ｆｉｇ．５Ｗ）：ｉ）Ａｂ５０９３０（英国、Ａｂｃａｍ）、ＴＤＰ－４３ドメインＩ；ｉｉ）ＴＡＲＤＢＰモノクローナル抗体（Ｍ０１）、クローン２Ｅ２－Ｄ３（台湾のＡｂｎｏｖａ，Ａｂｎｏｖａ２３４３５）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ及びｉｉｉ）Ａｂ８２６９５（英国、Ａｂｃａｍ），ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ。対照抗体は完全長ＴＤＰ－４３及びその特定のＴＤＰ－４３ドメインに結合した。

【０３１７】

ウエスタンブロットによる異なるＴＤＰ－４３ドメインへの結合

組換えの完全長ＴＤＰ－４３、ＴＤＰ－４３ドメインＩ（配列番号９４のアミノ酸残基２～１０６）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基９９～２０４）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ（配列番号９４のアミノ酸残基１８３～２７３）、ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（配列番号９４のアミノ酸残基２５８～４１４）をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分離した。ヒト由来の抗体の特定のＴＤＰ－４３ドメインへの結合をウエスタンブロット解析によって測定した。

【０３１８】

得られた結果の例を図６に示す。抗体ＮＩ－２０５．４１Ｄ１（図６Ａ）、ＮＩ－２０５．１４Ｗ３（図６Ｆ）、ＮＩ－２０５．８Ａ２（図６Ｈ）、ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２（図６Ｉ）、ＮＩ－２０５．１０Ｄ３（図６Ｊ）、ＮＩ－２０５．１０Ｈ７（図．６Ｌ）及びＮＩ－２０５．２１Ｇ１（図６Ｍ）は、ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（ａａ２５８～４１４）に特異的に結合した。抗体ＮＩ－２０５．５１Ｃ１（図６Ｂ）、ＮＩ－２０５．３Ｆ１０（図６Ｅ）及びＮＩ－２０５．９８Ｈ６は、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩＩ（ａａ１８３～２７３）に特異的に結合したが、抗体ＮＩ－２０５．２１Ｇ２（図６Ｃ）、ＮＩ－２０５．１Ａ９（図６Ｄ）及びＮＩ－２０５．３１Ｃ１１（図６Ｋ）は、ＴＤＰ－４３ドメインＩＩ（９９～２０４ａａ）を特異的に認識した。これら１３のヒト由来のＴＤＰ－４３に特異的な抗体は完全長のヒトＴＤＰ－４３も認識した。抗体ＮＩ－２０５．１０Ｄ３（図６Ｊ）のみが、追加の非特異的なシグナル、最も高い可能性として大腸菌由来のタンパク質混入物を認識した。ホスホ-ＴＤＰ－４３Ｃ末端ペプチドに対する優先的な又は排他的な結合を示す２つの抗体であるＮＩ－２０５．６８Ｇ５（図６Ｎ）及びＮＩ－２０５．２０Ａ１（図６Ｏ）は完全長ＴＤＰ－４３又はその断片を認識しなかった。市販のＴＤＰ－４３に特異的な抗体２Ｅ２－Ｄ３（台湾、ＡｂｎｏｖａのＡｂｎｏｖａ２３４３５）（図６Ｐ）をヒトＴＤＰ－４３の検出の陽性対照として用いたのに対して、抗ヒトＩｇＧγ特異的な抗体（図６Ｑ）を陰性対照として用いた。

【０３１９】

ヒト由来の抗体ＮＩ－２０５．４４Ｂ２、ＮＩ－２０５．９Ｅ１２Ａ、ＮＩ－２０５．３８Ｈ２、ＮＩ－２０５．２９Ｅ１１、ＮＩ－２０５．９Ｅ１２Ｄ、ＮＩ－２０５．１１３Ｃ４、ＮＩ－２０５．２５Ｆ３、ＮＩ－２０５．８Ｃ１０及びＮＩ－２０５．８７Ｅ７

は完全長ＴＤＰ－４３を認識したが、特定のＴＤＰ－４３断片を特定しなかった（データは示さず）。

【０３２０】

実施例８：合成ペプチドによるエピトープのマッピング（ＰｅｐＳｐｏｔｔｉｎｇ）

ヒトＴＤＰ－４３のタンパク質配列を網羅する個々のペプチド間で１１のアミノ酸が重なり合う１０１の直鎖１５量体のペプチドを伴ったＰｅｐｓｃａｎ膜（ＰｅｐＳｐｏｔｓ，ドイツ、ベルリンのＪＰＴ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を用いてヒトＴＤＰ－４３タンパク質の範囲内でヒトに由来するＴＤＰ－４３に特異的な抗体によって認識されるエピトープをマッピングした。Ｐｅｐｓｃａｎマッピングは実質的に実施例３に記載されたように実施した。手短には、ニトロセルロース膜上でペプチドのスポットを作り、次いでメタノール中で５分間活性化し、その後、ＴＢＳにて１０分間室温で洗浄した。表７はＰｅｐＳｐｏｔを用いて特定された異なるヒト由来のＴＤＰ－４３に特異的な抗体についての結合エピトープを要約する。

【０３２１】

【表７－１】

表７．ＰｅｐＳｐｏｔを用いて特定された異なるヒト由来のＴＤＰ－４３に特異的な抗体についてのヒトＴＤＰ－４３タンパク質配列内の結合エピトープ。

ＮＡ－該当なし

抗体	結合エピトープ	Ser409及び/又はSer410残基でのリン酸化の影響
NI-205.41D1	317-SINPAMMAAAQAALQSSWGMMGMLASQ-343（配列番号323）	NA
NI-205.51C1	201-DMTEDELREFF-211（配列番号125）	NA
NI-205.21G2	121-KEYFSTF-127（配列番号128）	NA
NI-205.3F10	213-QYGDVMDVFIP-223（配列番号123）	NA
NI-205.98H6	249-IIKGISV-255（配列	NA

【表７－２】

抗体	結合エピトープ	Ser409及び/又はSer410残基でのリン酸化の影響
	番号315)	
NI-205.44B2	345-NQSGPSG-351（配列番号316)	NA
NI-205.8A2	381-AAIGWGSASNA-391(配列番号124)	NA
NI-205.15F12	397-FNGGFGS-403（配列番号317)	NA
NI-205.10D3	289-FGNSRGGGAGL-299(配列番号318) 389-SNAGSGSGFNG-399(配列番号319)	NA
NI-205.113C4	133-VQVKKDL-139（配列番号127)	NA
NI-205.10H7	269-QLERSGRFGGN-279(配列番号320)	NA
NI-205.8C10	17-EIPSEDD-23（配列番号321)	NA
NI-205.87E7	9-EDENDEP-15（配列番号126)	NA
NI-205.21G1	390-414	Ser409/Ser410のリン酸化が結合を部分的に阻害した
NI-205.31D2	390-414	Ser409及びSer410でリン酸化されたペプチドに結合した
NI-205.14H5	390-414	Ser409及び/又はSer410でリン酸化されたペプチドに結合した；リン酸化とは無関係に弱い結合が認められ

【表７－３】

抗体	結合エピトープ	Ser409及び/又はSer410残基でのリン酸化の影響
		た
NI-205.36D5	390-414	Ser409でリン酸化されたペプチドに結合し；同時のSer410でのリン酸化は結合を失くす
NI-205.19G5	390-414	Ser409でリン酸化されたペプチドに結合し；同時のSer410でのリン酸化は結合を失くす
NI-205.68G5	390-414	Ser409及び/又はSer410でリン酸化されたペプチドに結合した
NI-205.8F8	390-414	測定されなかった
NI-205.58E11	390-414	測定されなかった
NI-205.20A1	390-414	Ser409及びSer410でリン酸化されたペプチドに結合した

【０３２２】
ＥＬＩＳＡによるＮＩ－２０５．４１Ｄ１結合エピトープの決定
１０μｇ／ｍｌの等しいコーティング濃度で完全長ＴＤＰ－４３（２～４１４）及びアミノ酸２５８～４１４（ドメインＩＶ）、２５８～３８４、２５８～３７５、２５８～３６２、２５８～３５３、２５８～３１９、３１７～４１４及び３４０～４１４を含むＴＤＰ－４３Ｃ末端断片をＥＬＩＳＡプレートにコーティングした。特定のＴＤＰ－４３へのＮＩ－２０５．４１Ｄ１抗体の結合は直接ＥＬＩＳＡによって測定した。得られたデータの例を図７Ａに示す。ＮＩ－２０５．４１Ｄ１は、断片２５８～３１９及び３４０～４１４を除いてすべての組換え断片に結合し、ＮＩ－２０５．４１Ｄ１の結合エピトープはＴＤＰ－４３のＣ末端領域３１７～３５３にあることを示した。ＮＩ－２０５．４１Ｄ１は完全長ＴＤＰ－４３に結合した。
【０３２３】
１０μｇ／ｍｌの等しいコーティング濃度で、完全長ＴＤＰ－４３（２～４１４）、配列番号９４の残基２５８～４１４を含む野生型ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（ＴＤＰ－４３の２５８～４１４）及び残基３２１でのＡからＧへの置換、残基３２２でのＭからＧへの置換、及び残基３２３でのＭからＧへの置換を持っている変異体ＴＤＰ－４３ドメインＩＶ（ＴＤＰ－４３の２５８～４１４　ＡＭＭ３２１ＧＧＧ）をＥＬＩＳＡプレートにコー

ティングした。特定のＴＤＰ－４３ドメインＩＶ変異体へのＮＩ－２０５．４１Ｄ１抗体の結合を直接ＥＬＩＳＡによって測定した（図７Ｂ）。ＮＩ－２０５．４１Ｄ１は完全長ＴＤＰ－４３及び野生型ＴＤＰ－４３ドメインＩＶに結合したが、変異体ＴＤＰ－４３ドメインＩＶに結合しなかった。これは変異した残基の１以上がヒトＴＤＰ－４３へのＮＩ－２０５．４１Ｄ１の結合に必須であることを示している。異なる組換えＴＤＰ－４３種のコーティング効率性を制御するために、完全長ＴＤＰ－４３と結合する市販の抗体１２８９２－１－ＡＰを用いた。

【０３２４】

１０μｇ／ｍｌの等しいコーティング濃度で、配列番号９４の残基３１６～３５３（ＴＤＰ－４３の３１６～３５３）、３１６～３４３（ＴＤＰ－４３の３１６～３４３）及び３１６～３３３（ＴＤＰ－４３の３１６～３３３）を含む合成のビオチン化ペプチドをストレプトアビジンコーティングしたプレートにコーティングした。特定のＴＤＰ－４３のＣ末端ペプチドへのＮＩ－２０５．４１Ｄ１抗体の結合を直接ＥＬＩＳＡによって測定した（図７Ｃ）。ＮＩ－２０５．４１Ｄ１は、ペプチドＴＤＰ－４３の３１６～３５３及びＴＤＰ－４３の３１６～３４３に結合したが、ペプチドＴＤＰ－４３の３１６～３３３には結合しなかった。この結果は、ＴＤＰ－４３のＣ末端領域での配列番号９４の残基３３４～３４３がＮＩ－２０５．４１Ｄ１抗体のヒトＴＤＰ－４３への結合に関与するという考えと一致する。我々の結果は、抗体ＮＩ－２０５．４１Ｄ１の結合エピトープが配列番号９４の残基３１７～３４３の間で不連続であり、２つの独立した結合領域：配列番号９４の残基３２１～３２３を含む第１のもの及び配列番号９４の残基３３４～３４３を含む第２のものによって形成されるという理解に一致する。

【０３２５】

実施例９：ヒト由来のＴＤＰ－４３特異抗体は天然のＴＤＰ－４３と相互作用する

純粋な完全長のＴＤＰ－４３タンパク質は凝集する天然の傾向を有する。従って、標準の精製条件下ではほんのわずかな量の完全長のＴＤＰ－４３しか回収されなかった。従って、我々は、天然のタンパク質構造を保存しながらタンパク質の凝集を防ぐことが知られるＫＳＣＮ及びアルギニン、穏やかなカオトロピック剤を用いて大量の機能的な６×Ｈｉｓ－ＳＵＭＯタグを付けた完全長のヒトＴＤＰ－４３を大腸菌から単離するための組換え発現及び精製の戦略を開発した。

【０３２６】

プラスミド：完全長のＴＤＰ－４３（配列番号９４の１～４１４）及びその切り詰め残基、配列番号９４の１０１～２６５及び残基２２０～４１４を標準の手順を用いて増幅し、改変ｐＥＴ１９－ｂ（Ｎｏｖａｇｅｎ）ベクターにサブクローニングし、増幅されたポリヌクレオチドにコードされたタンパク質のＮ末端での６×Ｈｉｓ及びＳＵＭＯのタグを生じた。６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグ付きの組換えポリペプチドの模式図を図８Ｂに示す。

【０３２７】

タンパク質の発現及び精製：６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグ付きＴＤＰ－４３発現プラスミドでＢＬ２１（ＤＥ３）Ｓｔａｒ大腸菌（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を形質転換した。３７℃にてＯＤ６００が１になるまで細菌培養物を増殖させ、１８℃にて１６時間、１ｍＭのＩＰＴＧによって誘導した。ペレットにした後、プロテアーゼ阻害剤を伴った精製緩衝液（４０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．５）、１．５ＭのＫＳＣＮ、及び１ｍＭのトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン（ＴＣＥＰ）、１ｍＭのＰＭＳＦ、５μＭのペプスタチン、１ｍＭのベンズアミド、１０μＭのベスタチン、１０μＭのＥ－６４、２０μＭのリューペプチン、１．５μＭのアプロチニン）にてマイクロ流動化によって細胞を溶解した。適正に折り畳まれた完全長のＴＤＰ－４３、ＴＤＰ－４３（１０１－２６５）及びＴＤＰ－４３（２２０－４１４）を生成するために、結合用及び洗浄用の精製緩衝液を用い、製造元の指示書に従って６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグ付き融合タンパク質をＮｉ－ＮＴＡアガロース樹脂（Ｑｉａｇｅｎ）にて精製した。２５０ｍＭのイミダゾールを含有する同じ緩衝液でＮｉ－ＮＴＡ樹脂から、結合したタンパク質を溶出し、製造元の指示書に従い、精製緩衝液用いて分取用Ｓ２００サイズ排除カラム（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）にて

さらに精製した。単量体ＴＤＰ－４３タンパク質を含有する分画をプールし、４０ｍＭのＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．５）、４００ｍＭのアルギニン、１ｍＭのＴＣＥＰを含有する緩衝液にて透析によって再形成した。同じ精製緩衝液を用いるが、１．５ＭのＫＳＣＮを０．５ＭのＫＣｌに置き換えることによって緩衝液の組成を変更して６×Ｈｉｓ－ＳＵＭＯ－ＴＤＰ４３（１０１－２６５）をさらに精製した。折り畳まれていない６×Ｈｉｓ－ＴＤＰ４３を調製するために、プロテアーゼ阻害剤を伴ったトリス／イミダゾール緩衝液（５０ｍＭのＴｒｉｓ（ｐＨ７．５）、２０ｍＭのイミダゾール、１５０ｍＭのＮａＣｌ）にてマイクロ流動化によって細胞を溶解した。プロテアーゼ阻害剤を含有する以下の緩衝液：２ｍＭの$MgCl_2$を含有するＢ－ＰＥＲ緩衝液（Ｐｉｅｒｃｅ）、その後トリス／イミダゾール緩衝液によって不溶性ペレットを順に洗浄した。次に洗浄したペレットを８Ｍの尿素、２０ｍＭのリン酸ナトリウム（ｐＨ７．８）にて可溶化した。次いで製造元の指示書に従って、変性、洗浄及び溶出の条件を用いてＮｉ－ＮＴＡアガロース樹脂にて尿素可溶化物質を精製した。常法（Laue, T. et al.. (1992) in Analytical Ultracentrifugation in Biochemistry and Polymer Science (Harding, S. E., ed) Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK）にて沈降係数及び分散係数（図８Ｃ）の決定並びにＳＤＳ－ＰＡＧＥ分離（図８Ａ）を実施した。

【０３２８】

捕捉ＥＬＩＳＡ：ＰＢＳ緩衝液（１３７ｍＭのＮａＣｌ、８．０５ｍＭのNa_2HPO_4、１．５ｍＭのKH_2PO_4、２．７ｍＭのＫＣｌ、ｐＨ７．４）にて１μｇ／ｍｌの濃度に希釈した抗６×Ｈｉｓマウスモノクローナル抗体（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）によって９６穴プレート（Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を４℃にて一晩コーティングした。１％ＢＳＡ（Ｓｉｇｍａ）及び０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０（Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を含有するＰＢＳによって室温で１時間、非特異的な結合部位をブロックした。１％のＢＳＡ、３００ｍＭのアルギニン及び０．１％のＰＥＧ５０００、ｐＨ７．５を含有するＰＢＳ緩衝液にて室温で１時間、１．７μＭの濃度での６×Ｈｉｓ－ＳＵＭＯ－ＴＤＰ４３タンパク質を抗体コーティングのプレートに結合させた。プレートを本発明のヒト抗体と共に室温で１時間インキュベートし、３倍連続希釈で滴定し、その後、１％ＢＳＡを含有するＰＢＳＴにおけるＨＲＰと複合体化した抗ヒトＩｇＧＦｃγ（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）を加えた。標準の比色アッセイにてＨＲＰの活性を測定した。Ｓｏｆｔｍａｘ ｐｒｏソフトウエア（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ）での４パラメータ対数曲線適合を用いてEC_{50}値を算出した。

【０３２９】

ＲＮＡ結合アッセイ：蛍光偏光を用いてＲＮＡに対するＴＤＰ－４３構築物の平衡結合親和性を測定した。５‘ＴＹＥＴＭ蛍光色素分子で標識したＲＮＡ基質、特定のＲＮＡ（ＴＹＥＴＭ－ ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ）（配列番号３１２）及びＲＮＡ対照（ＴＹＥＴＭ－ＵＵＵＵＵＵＵＵＵＵＵＵＵ）（配列番号３１３）（Ｉｎｔｅｇｒａｔｅｄ ＤＮＡ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）を５ｎＭの濃度で、示したようなインキュベート緩衝液にてＴＤＰ－４３（０～２０ｎＭの最終濃度）と共に２５℃で３０分間インキュベートした。６４５ｎｍの励起及び６６５ｎｍの放射にて９６穴プレート形式での各濃度のＴＤＰ－４３について、プレートリーダー蛍光計Ｅｎｖｉｓｉｏｎ（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）によって蛍光偏光を測定した。Ｓｉｇｍａｐｌｏｔ（Ｓｙｓｔａｔ Ｓｏｆｔｗａｒｅ社）を用いた密接な結合のための二次方程式（Ｍｏｒｒｉｓｏｎ方程式）を用いてK_{ds}を算出した。ＲＮＡ／ＴＤＰ－４３結合の定比性を決定するために、合計１００ｎＭのＲＮＡ濃度（以前決定したK_d値よりも＞７×高い）について同じ配列の９５ｎＭの標識していないＲＮＡの添加と共に、同じ蛍光偏光の実験設定を用いた。定比性は、一方を部分的に結合した状態のデータ点を用いて適合させ、他方を完全に結合した状態のデータ点を用いて適合させた２本の直線の切片を測定することによって算出した。

【０３３０】

組換え完全長のＴＤＰ－４３は４００ｍＭのアルギニンを含有する緩衝液中での沈殿分析（図８Ｃ）によって単量体だった。凝集が低いアルギニン濃度で見られたので、単量体

の天然のＴＤＰ－４３が所望の場合は、最低３００ｍＭのアルギニンを維持した。アルギニンがＴＤＰ－４３の活性に有害に影響しないことと一致して、我々の組換え完全長のＴＤＰ－４３は、一般的な非特異的な配列（ＵＵＵＵＵＵＵＵＵＵＵＵＵ（配列番号３１３）に対するよりも少なくとも３０倍高い親和性で、以前確立した特異的な配列（ＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧＵＧ（配列番号３１２）のＲＮＡに結合する（図９）。

【０３３１】

我々はまた、凝集に介在することが分かっているＣ末端ドメイン（アミノ酸残基２６５～４１４）を取り除いた配列番号９４のアミノ酸残基１０１～２６５を含むＴＤＰ－４３の６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグを付けた断片を精製した。カオトロピック剤の存在下又は非存在下で精製した６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグを付けた１０１～２６５の切り詰めＴＤＰ－４３断片は、使用した非常に異なる分析法にもかかわらず、以前報告されたK_D（約１４ｎＭ）に非常に類似した特異的ＲＮＡ配列への結合親和性を維持した（図９）。Ｋｏｕ、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２００９，３７：１７９９－８０８を参照のこと。ＲＮＡ／ＴＤＰ－４３の定比性が精製戦略にもかかわらず同様であった。このことは2つの調製物の間で変性したタンパク質集団には有意差がなかったことを示している（図９）。合わせて、これらのデータは精製された組換えの純粋な完全長のＴＤＰ－４３は天然の折り畳み状態であったことを示した。

【０３３２】

我々は、天然のＴＤＰ－４３がＥＬＩＳＡプレートの表面に直接吸着することなく不動化された捕捉ＥＬＩＳＡを用いて、本明細書で提供されるヒト由来のＴＤＰ－４３特異抗体の適正に折り畳まれた６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグを付けたＴＤＰ－４３に対する結合親和性を測定した。これは、その後ＴＤＰ－４３を捕捉する抗６×Ｈｉｓ抗体を不動化することによって達成した。折り畳まれた６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグを付けた完全長のヒトＴＤＰ－４３による抗６×Ｈｉｓタグへの結合は、ＴＤＰ－４３の単量体状態を確保する３００ｍＭのアルギニン濃度で達成した。この不動化ステップの後、ＴＤＰ－４３の凝集に妨害されることなく、いつもの緩衝液にてヒト抗体による結合を調べた。生成された滴定曲線の例を図１０に示す。表８は、この捕捉ＥＬＩＳＡによる折り畳まれた完全長の６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグを付けたＴＤＰ－４３又はＴＤＰ－４３の凝集傾向にあるＣ末端領域を含有する６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグを付けた切り詰め構築物（配列番号９４の残基２２０～４１４）に対する親和性（EC_{50}［ｎＭ］）を要約する。

【０３３３】

【表８－１】

表８．適正に折り畳まれた組換えの６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグを付けた完全長ＴＤＰ－４３及び残基２２０～４１４を含む６×Ｈｉｓ／ＳＵＭＯタグを付けた切り詰めＴＤＰ－４３へのヒト由来のＴＤＰ－４３抗体のＥＣ$_{50}$［ｎＭ］結合

抗体	完全長 TDP-43	TDP-43 残基 220-414
NI-205.41D1	0.07	0.10
NI-205.51C1	1.1	結合せず
NI-205.21G2	3.6	結合せず
NI-205.1A9	>98	結合せず
NI-205.3F10	>90	結合せず
NI-205.14W3	7.4	1.6
NI-205.98H6	46	20
NI-205.44B2	>125	33.5
NI-205.9E12A	結合せず	-
NI-205.8A2	34	4.6
NI-205.15F12	16.3	9.7
NI-205.10D3	>90	20.5
NI-205.38H2	>120	結合せず
NI-205.29E11	>100	>97
NI-205.9E12D	結合せず	結合せず
NI-205.31C11	21.1	結合せず
NI-205.113C4	結合せず	結合せず
NI-205.25F3	>120	>100

【表８－２】

抗体	完全長 TDP-43	TDP-43 残基 220-414
NI-205.10H7	30.9	6.45
NI-205.8C10	結合せず	-
NI-205.87E7	結合せず	結合せず
NI-205.21G1	4.4	0.33
NI-205.31D2	41.0	19.4
NI-205.14H5	> 100	-
NI-205.36D5	> 72.0	>60
NI-205.19G5	結合せず	-
NI-205.68G5	結合せず	-
NI-205.8F8	>94	-
NI-205.58E11	結合せず	-
NI-205.20A1	結合せず	-

【０３３４】

実施例１０：ＦＴＬＤ－Ｕ症例及び対照の海馬組織におけるＴＤＰ－４３へのヒト由来のＴＤＰ－４３抗体の結合の評価

ヒトの皮質、海馬及び脊髄のＦＴＬＤ－Ｕ及び対照の組織をＩＤＩＢＡＰＳ　Ｂｉｏｂａｎｋ（バルセロナのＢａｎｃ　ｄｅ　Ｔｅｉｘｉｔｓ　Ｎｅｕｒｏｌｏｇｉｃｓ）から入手した。免疫組織化学を、ＥＤＴＡに基づいたエピトープ検索を用いて５μｍのパラフィン包埋切片にて実施し、その後、それ以外では標準のＤＡＢ（Ｐｉｅｒｃｅ）を伴ったＥｌｉｔｅＡＢＣキット（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）による免疫組織化学手順を実施した。５０ｎＭ濃度での本発明のヒトＴＤＰ－４３抗体を用いて免疫組織化学を実施した。ヒトＴＤＰ－４３に対するマウスモノクローナル抗体２Ｅ２（Ａｂｎｏｖａ）、ＴＤＰ－４３　ｐ４０９／ｐ４１０に対して作ったウサギポリクローナル抗体ｐ４０９／ｐ４１０（ＣｏｓｍｏＢｉｏ）、及びＴＤＰ－４３　ｐ４０９／ｐ４１０に対して作った対して作ったウサギポリクローナル抗体ｐ４０９／ｐ４１０（ＣｏｓｍｏＢｉｏ）を用いて対照染色を行った。

【０３３５】

ＴＤＰ－４３の天然の形態及び病的形態を認識する本明細書で記載されるヒト由来の抗ＴＤＰ－４３抗体の能力をヒトＦＴＬＤ－Ｕ症例（１０）及び対照（７）の海馬組織における免疫組織化学実験によって特徴付けた。ＴＤＰ－４３は細胞質に出入りする主として核のタンパク質である。病的な状態では、それは核及び特に細胞質に蓄積され、病理は通常、細胞での局在；ＮＣＩ－ニューロンの細胞質での封入体、ＮＩＩ－ニューロンの細胞内の封入体及びジストロフィ性神経突起病理に基づいて特徴付けられ／分類される（概説Mackenzie et al., Lancet Neurology, 9: 995－1007 (2010)）。ＦＴＬＤ－Ｕ及びＡＬＳの患者の組織では、タンパク質はまた、リン酸化されることも見出されている。本明細書で開示される抗体のヒトＴＤＰ－４３結合の特徴を死後の症例を診断するのに一般に使われる市販の抗体と比較した。２Ｅ２－Ｄ３対照抗体（ａａ２０５～２２２にマッピングされたエピトープ；Zhang et al., Neurosci. Lett., 434:170－174 (2008)）は海馬の錐体ニューロン（図１１Ａ）及び顆粒細胞（図１１Ｂ）同様にジストロフィ性

神経突起（図１１Ｃ）における核及び細胞質のＴＤＰ－４３の蓄積を認識した。対照症例の組織では、２Ｅ２－Ｄ３は主として核のＴＤＰ－４３を認識した。リン酸化特異抗体ｐ４０３／ｐ４０４（ＣＮＧＧＦＧＳ（ｐ）Ｓ（ｐ）ＭＤＳＫ（配列番号３２４）に対して作った; Hasegawa et al., Ann Neurol, 64(1):60-70 (2008))は、錐体細胞における細胞質のＴＤＰ－４３（図１１Ｄ）、顆粒細胞における核及び細胞質の蓄積（図１１Ｅ）、並びにジストロフィ性神経突起におけるＴＤＰ－４３（図１１Ｆ）を認識した。第２のリン酸化特異抗体ｐ４０９／ｐ４１０（ＣＭＤＳＫＳ（ｐ）Ｓ（ｐ）ＧＷＧＭ（配列番号３２５）に対して作った; Hasegawa et al., Ann Neurol, 64(1):60-70 (2008)）は、錐体細胞（図１１Ｇ）、顆粒細胞（図１１Ｈ）並びにジストロフィ性神経突起（図１１Ｉ）における核及び細胞質でのＴＤＰ－４３の蓄積に結合した。

【０３３６】

本明細書で記載されるヒト由来の抗ＴＤＰ－４３抗体は、ＴＤＰ－４３の核、細胞質及び神経突起の形態への結合を含む様々な染色パターンを示した。本明細書で記載されるヒト由来の抗ＴＤＰ－４３抗体のうちの幾つかは、健常個体に由来する対照症例組織での染色に比べてＴＤＰ－４３の病的形態に特異的に結合した（図１１及び表９）。たとえば、抗体ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、ＮＩ－２０５．１４Ｗ３、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１及びＮＩ－２０５．４１Ｄ１は、病的形態、すなわち、神経突起のＴＤＰ－４３、及び海馬顆粒細胞の核及び細胞質のＴＤＰ－４３に選択的に結合した。抗体ＮＩ－２０５．１４Ｗ３、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１及びＮＩ－２０５．４１Ｄ１は、対照症例組織に結合することなく、ＦＴＬＤ-Ｕ患者におけるＴＤＰ－４３の病的形態に特異的に結合した（ＦＴＬＤ-Ｕ患者組織（図１１Ｙ）及び対照症例組織（図１１Ｚ）におけるＮＩ－２０５．４１Ｄ１染色と比較のこと）。

【０３３７】

抗体ＮＩ－２０５．１０Ｄ３は主として核のＴＤＰ－４３に結合したが（図１１Ｊ）、ＮＩ－２０５．８Ｃ１０は細胞質及び軸索におけるＴＤＰ－４３に結合した（図１１Ｋ）。分析した対照の抗ＴＤＰ－４３抗体とは異なって、本明細書で報告されるヒト抗ＴＤＰ－４３抗体は核ＴＤＰ－４３ではなく細胞質ＴＤＰ－４３に主として結合した。主として細胞質ＴＤＰ－４３に結合した抗体には　（図１１Ｌ）ＮＩ－２０５．１５Ｆ１２、（図１１Ｍ）ＮＩ－２０５．８Ａ２、（図１１Ｎ）ＮＩ－２０５．３Ｆ１０、（図１１Ｏ）ＮＩ－２０５．２１Ｇ２、（図１１Ｐ）ＮＩ－２０５．８Ｆ８、（図１１Ｑ）ＮＩ－２０５．３１Ｃ１１、（図１１Ｒ）ＮＩ－２０５．３６Ｄ５、（図１１Ｓ）ＮＩ－２０５．３１Ｄ２、（図１１Ｔ）ＮＩ－２０５．１０Ｈ７、及び（図１１Ｕ）ＮＩ－２０５．１４Ｈ５が挙げられる。抗体（図１１Ｖ）ＮＩ－２０５．６８Ｇ５、（図１１Ｗ）ＮＩ－２０５．１４Ｗ３、（図１１Ｘ）ＮＩ－２０５．２１Ｇ１及び（図１１Ｙ）ＮＩ－２０５．４１Ｄ１は、神経突起のＴＤＰ－４３及び海馬顆粒細胞の核及び細胞質に蓄積しているＴＤＰ－４３に結合した。

【０３３８】

【表９－１】

表９．ＦＴＬＤ－Ｕ症例及び対照の海馬の組織におけるＴＤＰ－４３に結合するヒト由来のＴＤＰ－４３の評価。症例及び対照の試料を２Ｅ２－Ｄ３、ｐ４０３／ｐ４０４、ｐ４０９／ｐ４１０対照抗－ＴＤＰ－４３抗体でも染色した。ＮＤ－測定されず

抗体	免疫組織化学による抗体の染色	
	FTLD-U 症例の組織	対照の組織

【表９－２】

抗体	免疫組織化学による抗体の染色	
	FTLD-U 症例の組織	対照の組織
NI-205.41D1	顆粒細胞＋神経突起における細胞質及び核	結合せず
NI-205.51C1	結合せず	ND
NI-205.21G2	細胞質	ND
NI-205.1A9	結合せず	ND
NI-205.3F10	細胞質	細胞質
NI-205.14W3	顆粒細胞＋神経突起における細胞質及び核	結合せず，ニューロンでの細胞質(一部症例)
NI-205.98H6	結合せず	ND
NI-205.44B2	結合せず	ND
NI-205.9E12A	結合せず	ND
NI-205.8A2	細胞質	細胞質
NI-205.15F12	顆粒細胞の細胞質	ND
NI-205.10D3	核	核
NI-205.38H2	結合せず	ND
NI-205.29E11	結合せず	ND
NI-205.9E12D	結合せず	ND
NI-205.31C11	細胞質	細胞質
NI-205.113C4	結合せず	ND
NI-205.25F3	結合せず	ND
NI-205.10H7	細胞質	細胞質
NI-205.8C10	細胞質＋軸索(１症例)	結合せず
NI-205.87E7	結合せず	ND
NI-205.21G1	顆粒細胞＋神経突起における細胞質及び核	結合せず
NI-205.31D2	細胞質	細胞質
NI-205.14H5	細胞質	細胞質

【表９－３】

抗体	免疫組織化学による抗体の染色	
	FTLD-U 症例の組織	対照の組織
NI-205.36D5	細胞質	細胞質
NI-205.19G5	結合せず	ND
NI-205.68G5	細胞質＋神経突起（１症例）	ND
NI-205.8F8	細胞質	細胞質
NI-205.58E11	結合せず	ND
NI-205.20A1	結合せず	ND
2E2-D3	核、細胞質及び神経突起	核（一部の対照では細胞質）
p403/p404	核、細胞質及び神経突起	結合せず
p409/p410	核、細胞質及び神経突起	結合せず

【０３３９】

変性させた組換えＴＤＰ－４３及び残基Ｓ４０９及びＳ４１０にてリン酸化されたＴＤＰ－４３ペプチド３９０～４１４を用いたヒト抗ＴＤＰ－４３抗体の選抜によって、ヒトＴＤＰ－４３の天然のエピトープ及び疾患関連のエピトープのほとんどを網羅する抗体の生成を生じた。本明細書で開示されるヒト抗ＴＤＰ－４３抗体はＴＤＰ－４３の新しい及び興味深いエピトープを特定し、ＴＤＰ－４３タンパク質症の疾患過程に特異的な新規の構造情報を提供する。たとえば、ＮＩ－２０５．１４Ｗ３、ＮＩ－２０５．２１Ｇ１及びＮＩ－２０５．４１Ｄ１は高い親和性でＴＤＰ－４３に結合し、対照症例に比べてＦＴＬＤ－Ｕ組織でＴＤＰ－４３の病的形態に特異的だった。これら３つの抗体は、免疫組織化学にて類似する病的ＴＤＰ－４３に特異的な染色パターンを有した一方で、それらは、ＴＤＰ－４３の凝集傾向があるＣ末端領域における異なるエピトープを認識した：ＮＩ－４１Ｄ１はＴＤＰ－４３のＣ末端部分の不連続エピトープに結合し、ＮＩ－２１Ｇ１はＴＤＰ－４３のリン酸化傾向領域に結合した。さらに、抗体ＮＩ－２０５．１４Ｈ５及びＮＩ－２０５．３１Ｄ２は、残基Ｓ４０９及びＳ４１０の一方又は双方でリン酸化されたＴＤＰ－４３に対して高い親和性を有し、免疫組織化学で細胞質のＴＤＰ－４３を特異的に染色した。さらに、ＮＩ－２０５．２１Ｇ２及びＮＩ－２０５．５１Ｃ１はＴＤＰ－４３に対して高い親和性を示し、予想されるカスパーゼ切断部位に対してＮ末端側のエピトープに結合し、ＮＩ－２０５．５１Ｃ１はＲＮＡ認識モチーフ２（ＲＲＭ２）に結合した。ＮＩ－２０５．１０Ｄ３は、ＦＴＬＤ－Ｕ及び対照の症例の組織双方における核ＴＤＰ－４３を特異的に染色し、そのことは、それがＴＤＰ－４３の内因性の／天然の形態に結合することを示唆している。

【０３４０】

実施例１１：急性脳透過性の試験

１日目と４日目に３０ｍｇ／ｋｇの抗ヒトＴＤＰ－４３抗体又は等量のＰＢＳをＴＤＰ－４３＿Ｇ３４８Ｃトランスジェニックマウス(Swarup et al., Brain 134 (2011), 2610-2626)に腹腔内注射する。５日目に麻酔下にて１単位／ｍｌのヘパリンを含有するＰＢＳでマウスを潅流する。血液、脳及び脊髄を分析のために採取する。脳の右半球を－

８０℃で凍結し、脳の左半球及び脊髄を１０％中性ホルマリンにて４℃で２日間後固定し、その後、パラフィンブロックに包埋し、切片にする。血漿はアリコートで－８０℃にて保存する。

【０３４１】

脳タンパク質の抽出：標準の実験法を用いて脳のタンパク質分画を抽出し、たとえば、凍結した右半球を秤量し、５０ｍＭのＮａＣｌ、０．２％のジエチルアミン、プロテアーゼ阻害剤（Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ社）及びホスファターゼ阻害剤（Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ社）を含有する溶液の５体積（５ｍＬ／ｇ湿組織）にてホモジネートする。次いで試料をポリカーボネート管に移し、さらに５体積のホモジネート溶液を加え、氷上で３０分間保つ。次いで４℃にて１００，０００ｇで３０分間の遠心の後、可溶性分画を回収する。この可溶性分画をヒトＩｇＧアッセイに使用する。ペレットをプロテアーゼ阻害剤及びホスファターゼ阻害剤と共に３体積のＰＢＳに再懸濁する。４℃にて１６，０００ｇで３０分間の遠心の後、さらなる不溶性ＴＤＰ－４３の抽出のために上清及びペレットを別々に－８０℃で保存する。

【０３４２】

標準の実験法を用いて脳タンパク質抽出物にてヒト抗体及びＴＤＰ－４３を検出し、定量する。たとえば、ヒトＩｇＧ特異的なサンドイッチＥＬＩＳＡ：５０ｍＭの炭酸ＥＬＩＳＡコーティング緩衝液（ｐＨ９．６）における２μｇ／ｍｌのヤギ抗ヒトＩｇＧＦａｂ（Ｊａｃｋｓｏｎ）を捕捉抗体として使用する。ハーフエリア９６穴マイクロプレートを３０μｌ／ウェルの捕捉抗体で４℃にて一晩コーティングする。０．１％Ｔｗｅｅｎ２０を含有するＰＢＳでプレートを４回洗浄し、その後、２％ＢＳＡを含有する５０μｌ／ウェルのＰＢＳと共に室温で１時間インキュベートする。２％ＢＳＡ及び０．１％Ｔｗｅｅｎ２０を含有するＰＢＳで脳抽出物の可溶性分画、血漿試料及びヒト抗体標準を希釈する。３０μｌの希釈した試料を各ウェルに加え、室温で１時間インキュベートする。次いで０．１％Ｔｗｅｅｎ２０を含有する２００μｌのＰＢＳでプレートを洗浄し、その後ＨＲＰと複合体化したロバ抗ヒトＦｃγ（Ｊａｃｋｓｏｎ，２％ＢＳＡ及び０．１％Ｔｗｅｅｎ２０を含有するＰＢＳにて１：１０，０００に希釈した）と共に室温で１時間インキュベートする。次いで０．１％Ｔｗｅｅｎ２０を含有する２００μｌのＰＢＳでプレートを４回洗浄し、その後２０μｌ／ウェルのＴＭＢ（１０ｍＭのクエン酸溶液で１：２０、ｐＨ＝４．１）を加える。次いで１０μｌのH_2SO_4を加えることによって反応を止める。対照抗体の連続希釈から抗体の標準曲線を得る。標準に従って血漿及び脳試料における抗体の濃度を算出する。次いで脳のヒトＩｇＧレベルを新鮮な脳組織のグラム当たりの抗体のμｇに換算する。

【０３４３】

投与されたヒト抗ＴＤＰ－４３抗体のニューロンへの浸透は、ヒト抗ＴＤＰ－４３抗体で処置した動物及び対照動物から得た脳の組織切片の免疫組織化学的染色によって検出される。たとえば、浮遊性の組織切片をＴｒｉｓ－Ｔｒｉｔｏｎ、ｐＨ７．４（５０ｍＭのＴｒｉｓ、１５０ｍＭもＮａＣｌ、０．０５％のＴｒｉｔｏｎＸ－１００）で洗浄し、１％H_2O_2／ＰＢＳにて３０分間インキュベートし、Ｔｒｉｓ－Ｔｒｉｔｏｎ中の２％正常ヤギ及びウマ血清を含有するブロッキング溶液と共に及び追加の０．２％ＴｒｉｔｏｎＸ－１００と共に室温で１時間インキュベートする。次いで切片を１００ｒｐｍで撹拌しながら、ブロッキング溶液中１：２００のビオチン化ロバ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｓ，７０９－０６５－１４９）と共に４℃にて１６時間インキュベートしてニューロンのヒトＩｇＧを検出する。組織に結合したビオチン化抗体は、Ｖｅｃｔａｓｔａｉｎ　Ｅｌｉｔｅ　ＡＢＣキット（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，ＰＫ６１００，１：１００）を用いたペルオキシダーゼ発色反応によって視覚化される。氷冷ＰＢＳによって酵素反応を止め、切片をＰＢＳで３回洗浄する。次いで切片をガラススライドに載せ、一晩風乾した後、ヘマラム溶液（Carl Roth GmbH + Co. T865.1）によって対比染色する。脱水ステップの後、スライドをカバーグラスで覆い、その後、Ｏｌｙｍｐｕｓ　ｄｏｔＳｌｉｄｅ　２．１視覚顕微鏡シ

ステムで走査する。抗体処置した動物で見られるが、対照動物では見られないニューロンの抗ヒトＴＤＰ－４３染色は、ヒト抗ＴＤＰ－４３抗体がニューロンに侵入することを示す。

【０３４４】

実施例１２：抗ＴＤＰ－４３抗体による慢性試験

１０ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇの抗体溶液又は等量のＰＢＳ対照をＴＤＰ－４３＿Ｇ３４８Ｃトランスジェニックマウス(Swarup et al., Brain 134 (2011), 2610-2626)に腹腔内注射する。各処置群は２０～２５匹のマウスを有する。処置は週１回で２６週間実施する。或いは、処理は週２回で１３週間実施する。２週間ごとに体重をモニターする。処置の終了時、麻酔下でマウスを潅流する。脳、脊髄及び血液を採取する。脳半分及び脊髄を１０％ホルマリンにて３日間後固定し、その後パラフィンブロックに包埋する。これらの組織ブロックから切り出した４～６μｍ厚さの切片を免疫組織化学的検討に使用する。脳の他の半分を秤量し、生化学分析のために－８０℃で深く凍結する。

【０３４５】

薬剤の効果は、免疫組織化学を用いて、抗体処理した動物及び対照動物におけるＴＤＰ－４３の病的形態のレベル及び分布を含む、ＴＤＰ－４３のレベル及び分布を比較することによって評価される。抗体処置した動物及び対照動物から得られる組織試料を、抗ＴＤＰ－４３抗体、たとえば、ＴＤＰ－４３の病的形態に特異的な抗ＴＤＰ－４３抗体によって、標準の組織法を用いて染色する。一実施形態では、組織化学分析で使用される抗体は動物に投与される抗体と同じである。別の実施形態では、組織化学分析で使用される抗体は動物に投与される抗体と異なる。本明細書で開示されるヒト抗ＴＤＰ－４３抗体の治療効果は、対照動物に比べた抗体処置動物におけるＴＤＰ－４３の病的形態のレベルの低下又は非存在によって示される。

【０３４６】

薬剤の効果はまた、ＥＬＩＳＡ又はウエスタンブロットを用いて、抗体処置した動物及び対照動物におけるＴＤＰ－４３の病的形態のレベルを含む、ＴＤＰ－４３のレベルを比較することによって評価される。本明細書で開示されるヒト抗ＴＤＰ－４３抗体の治療効果は、対照動物に比べた抗体処置動物におけるＴＤＰ－４３の病的形態のレベルの低下又は非存在によって示される。

【０３４７】

本発明は、本発明の個々の態様の単一の説明として意図される記載された特定の実施形態によって範囲が限定されることはなく、機能的に同等である組成物又は方法は本発明の範囲内にある。実際、本明細書で示され、記載されたものに加えて本発明の種々の改変が、前述の記載及び添付の図面から当業者に明らかになるであろう。そのような改変は添付のクレームの範囲内に入るように意図される。

【図１－１】

図１Ａ～Ｃ

図１Ａ

NI-205.3F10-VH(可変重鎖配列 VH(配列番号 :1, 2))
FR1----------CDR1----FR2----------CDR2-----
EVQLLESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSQAMSWVRQAPGKGLEWVSALSRTGDYTWYAD
V
----------FR3----------CDR3----------JH-
SVRGRFTVSRDDSKNIFYLEMNSLRAEDTAVYYCAKNYYSSFGYNWAAFHIWGQGTMVTVSS

NI-205.3F10-VK(可変軽鎖配列 VK (配列番号 :6))
FR1----------CDR1----------FR2---------CDR2------
EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQDVNNNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGVPDR
---FR3----------CDR3--------JK----
FSGRGSGTDFTLTINRLEPEDFAMYFCQQYGGSPPYTFGQGTKLEIK

図１Ｂ

NI-205.51C1-VH (可変重鎖配列 VH (配列番号 :10))
FR1----------CDR1------FR2---------CDR2---
EVQLVESGGGLVQPGGSLRISCTTSGFIFSDYWMHWVRQAPGKGLTWVSRINLDGSDTI
----------FR3----------CDR3-----JH-------
YADSVKGRFTISRDNDKNTLYLQMNSLRVEDTAIYYCARSRKSVWGQGTMVTVSS

NI-205.51C1-VL (可変軽鎖配列 VL (配列番号 :14))
FR1----------CDR1----------FR2-------CDR2-----
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGSNTDVGAYDYVSWSQQLPGKAPKFVIFDVDVRPSGIS
---FR3----------CDR3--------JL---
DRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTKSGTLVFGGGTKVTVV

図１Ｃ

NI-205.21G2-VH (可変重鎖配列 VH(配列番号 :18))
FR1----------CDR1----FR2---------CDR2---
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYSFTSYTLHWVRQAPGHRPEWMGWINAAFINT
----------FR3----------CDR3-------JH-----
KYSQKFQGRITLTRDTSANIAYLELRSLTTEDTAVYYCARRASGSNGLDVWGQGTTVTVSS

NI-205.21G2-VK (可変軽鎖配列 VK(配列番号 :22)
FR1----------CDR1---------FR2----------CDR2--
DIQMTQSPSSLSASVGDRITITCQASRDITNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASYLETG
FR3----------CDR3--------JK---
VPSTFSGSGSGTHFTLTISSLQPDDFATYYCQQYDSVPLTFGGGTKVEIK

【図１－２】

図１Ｄ～Ｆ

図１Ｄ

NI-205.8A2-VH (可変重鎖配列 VH (SEQ ID NOS:26, 27)
FR1----------CDR1-----FR2--------CDR2--
QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFRDHGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWLDGSS
E
----------FR3----------CDR3----------JH--
RFYADSVEGRFTISRDNSKNTLYLQLTSLRAEDTAIYYCARDRVASEGTAFDVWGQGTMVTVSS
T

NI-205.8A2-VK (可変軽鎖配列 VK (配列番号 :31))
FR1----------CDR1---------FR2--------CDR2-----
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCWASQNVNHYLVWYQQRPGQAPRLLLYDTSVRAAGIP
-----FR3----------CDR3-----JK--
ARFIGSGSGTHFTLTISSLEPEDSAVYYCQHRSDWTFGQGTKVEIK

図１Ｅ

NI-205.15F12-VH (可変重鎖配列 VH(配列番号 :35, 36))
FR1----------CDR1------FR2------CDR2--
QVQLVQSGTAVKKPGASVKVSCKASGFSFNGYYMHWVRQAPGQGLEWMGVINPNGG
E E
----------FR3----------CDR3--------JH----
STNYAQKFKGRITMSADTPARSVSMELGSLRSDDTAMYYCARLPVNIEVLDLWGQGTLVTVSS

NI-205.15F12-VK (可変軽鎖配列 VK (配列番号 :40,41))
FR1----------CDR1----------FR2------CDR2
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQTVLFSSNDKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASV
E L
------FR3----------CDR3-------JK---
RASGVPDRFSGSGSGTDFSLTINGLQAEDVAVYYCQQSSTAPLTFGGGTKVEIK

図１Ｆ

NI-205.113C4-VH (可変重鎖配列 VH (配列番号 :45))
FR1----------CDR1-----FR2---------CDR2--
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGR
----------FR3----------CDR3------
TSYAQKFQGRASMTRDTSTSTVYMEVISLRSEDTAVYYCARQRPSGYSGYGPSESYGNP
----------JH----
TDDAFDVWGQGTTVTVSS

NI-205.113C4-VL (可変軽鎖配列 VL (配列番号 :49))
FR1----------CDR1----------FR2-------CDR2---FR3
SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSRGVHWYQQRPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPE
----------CDR3----------JL--
RFSGSNSGDTATLTISRVEVGDEADYYCQVWDNSSDHLVVFGGGTKLTVL

【図１－３】

図１Ｇ～Ｉ

図１Ｇ

NI-205.25F3-VH (可変重鎖配列 VH (配列番号 :53,129))
FR1----------CDR1-----FR2---------CDR2---
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYVMYWVRQAPGKGLEWVAFISYDGSNK
E
----------FR3----------CDR3-------
YYPDSVKGRFTISRDNSMNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCARDTYQYDSSTYYPYFYYYG
--------JH----
MDVWGQGTTVTVSS

NI-205.25F3-VL (可変軽鎖配列 VL (配列番号 :57))
FR1----------CDR1----------FR2-------CDR2-----
QSALTQPASVSGSPGQSITISCIGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYEVSNRPSGV
----FR3----------CDR3--------JL------
SSRFSGSKSGNTASLTISGLQSEDEADYYCSSFASSSTSVTFGGGTKLTVL

図１Ｈ

NI-205.87E7-VH (可変重鎖配列 VH (配列番号 :61))
FR1----------CDR1----FR2---------CDR2-----
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGGGDRT
----------FR3----------CDR3------
YSADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQINSLRVEDTAVYYCAQGGGGEMTAVTMDGTYYG
------JH------
MDVWGQGTTVTVSS

NI-205.87E7-VL (可変軽鎖配列 VL (配列番号 :65))
FR1----------CDR1----------FR2-----CDR2----
QSALTQPRSVSGSPGQSITISCTGTSSNVGTYKFVSWYQQHPGKAPKLMIYDVTKRPSGV
-FR3----------CDR3--------JL---
PDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSYTYVFGSGTKVTVL

図１Ｉ

NI-205.21G1-VH (可変重鎖配列 VH (配列番号 :69))
FR1----------CDR1-----FR2--------CDR2---
QVQLVESGGGVVQPGMSLRLSCAASGFSFSSHGMHWVRQTPGKGLEWLAVISYDASNK
----------FR3----------CDR3--------JH----
SYADSVKGRFTISRDNSKKTLYLQMDSLRVEDTALYYCANAFSSSASGGYWGQGTLVTVSS

NI-205.21G1-VK: (可変軽鎖配列 VK(配列番号 :73))
FR1----------CDR1----------FR2-------CDR2-
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGVTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSNRD
FR3----------CDR3--------JK--
SGVPDRFSGSGSGTDFTLEISRVEAEDVGIYYCMQGTHWPPWTFGQGTKVEIK

【図１－４】

図１Ｊ～Ｋ

図１Ｊ

NI-205.68G5-VH (可変重鎖配列 VH (配列番号 :77,78))
FR1----------CDR1----FR2---------CDR2---
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIYYDSSQR
E
----------FR3----------CDR3-------
YYADSVKGRFTISRDNSKNALYLQMNSLRAEDTALYYCARDLPFHYHRSASFAPSDTW
JH--------
GQGTLVTVSS

NI-205.68G5-VK (可変軽鎖配列 VK(配列番号 :82,83))
FR1----------CDR1----------FR2-------CDR2-----
EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQAVTNNYLAWYQQKPGQAPRLLVYAASSRATGIP
M
FR3----------CDR3---------JK--
RFYGSGSGADFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGTSPITFGQGTRLEIK

図１Ｋ

NI-205.20A1-VH (可変重鎖配列 VH (配列番号 :87))
FR1----------CDR1---FR2----------CDR2---
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYRMNWVRQAPGKGLEWVSYISTSSSTIY
----------FR3----------CDR3-----JH----
YADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAFDYWGQGTLVTVSS

NI-205.20A1-VK (可変軽鎖配列 VK (配列番号 :122))
FR1----------CDR1---------FR2---------CDR2---FR3
EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD
----------CDR3-------JK----
RFSGSGSGTDFTLTIIRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFTFGQGTKVEIK

【図２－１】

図２Ａ～Ｆ

図２Ａ

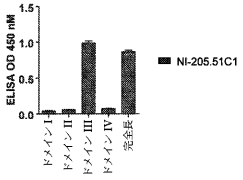


図２Ｂ

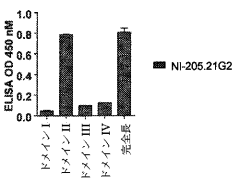


図２Ｃ

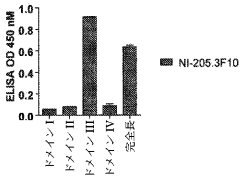


図２Ｄ

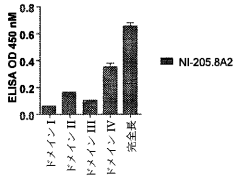


図２Ｅ

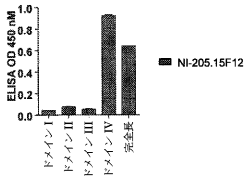
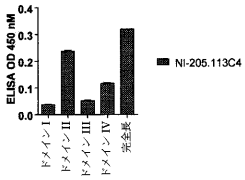


図２Ｆ



【図２－２】

図２Ｇ～Ｊ

図２Ｇ

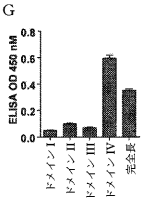


図２Ｈ

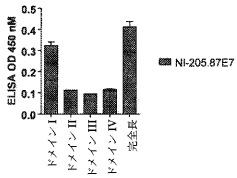


図２Ｉ

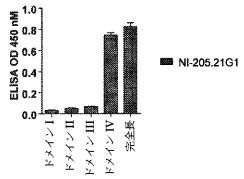
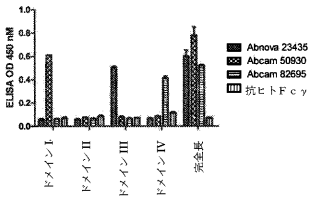


図２Ｊ



【図３－１】

図３Ａ～Ｃ

図３Ａ

NI-205.41D1-VH (配列番号:130):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYYMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTIS
RDNARNSLYLQMHSLRAEDTAVYYCASPPGWWGQGTLVTVSS

NI-205.41D1-VK (配列番号:134):

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLHSDGKTYLYWYLQKPGQPPQLLIYEVSNRFSGVPDRFSGSGSG
TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQSIQLPVTFGGGTKVEIK

図３Ｂ

NI-205.29E11-VH (配列番号:138):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTDYFIHWIRQAPGQGLEWMGWIKPKSGGTDYAEKFQGRVTL
TRDTSITTVYMELSRLNSDDTAVYYCARLKYSVPDSDYWGQGTLVTVSS

NI-205.29E11-VK (配列番号:142):

DVVMTQSPLSLPVTLGQSASISCRSSQGLVHSDGNTYLNWFHQRPGQSPRRLIYKVFNRDSGVSDRFSGSGS
GSDFTLMISRVEAEDVGIYYCMQGTLWPLTFGQGTKVEIK

図３Ｃ

NI-205. 9E12-VH (配列番号:146):

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFNFSNVWISWVRQAPGKGLEWVGRIKSKNDGGTTEYAAPVKGRF
TISRDDSKNTVYLQMNSLKTEDAGVYYCTTDPYHYFDMGGPGFGPWGQGTLVTVSS

NI-205. 9E12A-VK (配列番号:150):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSGQSVLYRSNNRNYIAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSG
SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSNRWTFGQGTKVEIK

NI-205. 9E12D-VK (配列番号:151):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVSYSSNNKNFLSWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSG
SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYSSLPISFGQGTRLEIK

【図３－２】

図３Ｄ～Ｆ

図３Ｄ

NI-205.98H6-VH (配列番号:155):

EVQLLESGGALVQPGGSLRLSCAASGLTFSRHAFSWVRQAPGKGLEWVAISSGSGGNTYYAASVKGRFTISR
DESKNTLYLQMNSLRVEDTALYYCAKEVLEWSLLSRYMDVWGKGTTVTVSS

NI-205.98H6-VL (配列番号:159):

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGGNTVNWYHQLPGTAPKLLVYSTNQRPSGVPDRFSGSKSGTSA
SLAISGLQAEDEADYYCATWDDSLNGWVFGGGTKLTVL

図３Ｅ

NI-205.10D3-VH (配列番号:163):

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITDYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIHDSGTTRYNPSLTSRLSMSLDT
STNQVSLRLTSVTAADTAVYYCAKVPDYWGQGTLVTVSS

NI-205.10D3-VK (配列番号:167):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYNSDNKNYLAWLQQKPGQPPKVLIYWASTREFGVPDRFSGS
GSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCHQYYSVPFTFGGGTKVEIK

図３Ｆ

NI-205.44B2-VH (配列番号:171):

QVQLQESGPGVVKPSQTLSLTCTVSGVSVSGSGDYYWSWIRHHPGKGLEWIGYISFFGSSNYNPSLKGRVSM
SVDTSNNQFSLNLKSVTAADTAVYFCATGNAYSFWGQGTMVTVSS

NI-205.44B2-VL (配列番号:175):

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGTHNLVSWYQQHPGKAPKLIIYEIFERPSGISSRFTGSKSGNTASLT
ISGLQAEDEADYFCCAYSVTVIFGGGTKLTVL

【図３－３】

図３Ｇ～Ｉ

図３Ｇ

NI-205.38H2-VH (配列番号:179):

EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCTASGFNLGDYWMHWVRQVPGKGLVWVSRISSDGASVSYADFVEGRFTI
SRGNARNTLFLELNSLRLDDTAVYYCAMGVVWGQGTLVTVSS

NI-205.38H2-VL (配列番号:183):

SYELTQPPSVSVSPGQTATISCSGDALPKRYAYWYKQKSGQVPVLIIYEDNKRPSGIPARFSGSSSGTMATLTI
TGAQVDDEADYYCYSSDNSDTYSVFGGGTKLTVL

図３Ｈ

NI-205.36D5-VH (配列番号:187):

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASRFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALIYYDATQKYYADSVKGRFTIS
RDNSKNALYLQMTSLRADDTAVYYCARDLPYHYHRSASFAPADTWGQGTLVTVSS

NI-205.36D5-VK (配列番号:191):

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQTISNNYLAWYQQKPGQAPRLLVYAASSRATGIPDRFYGSGSGADFTL
TISRLEPEDFVVYYCQQYGSSPITFGQGTRLEIK

図３Ｉ

NI-205. 58E11-VH (配列番号:195):

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMSWVRQAPGKGLEWVATVGYGGTIYYADSVKGRFTISR
DNSKNTLYLEMNSLRAEATAVYYCAKANYGGNRFGLDVWGQGTTVTVSS

NI-205. 58E11-VL (配列番号:199):

QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQHQPGKAPKLMIYEVSKRPSGVPDRFSGSKSGN
TASLTVSGLQAEDEADYYCSSYAGSNNLGVFGTGTEVTVL

【図３－４】

図３Ｊ～Ｌ

図３Ｊ

NI-205. 14H5-VH (配列番号:203):

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMAWVRQAPGKGLEWVSAIPARGDKTYYADSVRGRFTIS
RDISKSALYLQMNSLRVEDTAVYYCAKAHHLYNKNFDYWGQGTLVTVSS

NI-205. 14H5-VK (配列番号:207):

EIVLTQSPGTLSLSPGETVTLSCRASQSVSSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGRGSGTDFTL
TISRLEPEDFAVYYCQHYGTFGQGTKVDIK

図３Ｋ

NI-205. 31D2-VH (配列番号:211):

EVQLLESGGGSVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYVMSWVRQAPGKGLEWVSAISRRGGSTYYADSVKGRFTISR
DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRWLTGRTGGVFDIWGQGTMVTVSS

NI-205. 31D2-VK (配列番号:215):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTF
TISSLQPEDTATYYCQQYDNLPLTFGGGTKVEIK

図３Ｌ

NI-205. 8F8-VH (配列番号:219):

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSYYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIGDSGSTTHYADSVKGRFTISR
DNSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGLGPVAAIGDYWGQGTLVTVSS

NI-205. 8F8-VL (配列番号:223):

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNNVYWYQQLPGTAPKLLVYRNNQRPSGVPDRVSGSKSGSSA
SLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLRGYVFGTGTKVTVL

【図３－５】

図３Ｍ～Ｏ

図３Ｍ

NI-205.31C11 VH (配列番号:227):

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCVASGFTFDNYGMHWVRQAPGKGLEWLAVISYGGDHQFYGDSVKDRFT
ISRDNSKNTAYLQMHSLRPDDTAVYYCATGVTPDFWGQGTLVTVSS

NI-205.31C11 VK (配列番号:231):

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLNWFQQRPGQSPRRLIYKVSHRDSGVPDRFSGSGS
GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQGTHWPPFTFGQGTKLEIK

図３Ｎ

NI-205.8C10 VH (配列番号:235):

EVQLVESGGGLVNPGGSLRLSCTASGFSFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSLITSGSYIYYADSVKGRFTISRD
DAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCANMLAAAGSHYFHYWGQGTLVTVSS

NI-205.8C10 VK (配列番号:239):

DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYKISERFSGVPDRFSGSGAG
TDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQVTQFPITFGQGTRLEIK

図３Ｏ

NI-205.10H7 VH (配列番号:243):

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKKYYGDSVKGRFT
ISRDNPKNTLYLQMNSLRVEDTAIYYCVPDAFDMWGQGTMVTVSS

NI-205.10H7 VK (配列番号:247):

DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHTDGKTYLSWLHQRPGQPPRPLIYKMSKRFSGVPDRFSGSGA
ETEFTLKISRVEAEDVGIYYCLQLTQFPITFGQGTRLEIK

【図３－６】

図３Ｐ～Ｒ

図３Ｐ

NI-205.1A9 VH (配列番号:251):

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRF
VFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDRIDGSSWSSWFDPWGQGTLVTVSS

NI-205.1A9 VL (配列番号:255):

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTS
ASLAITGLQAEDEADYYCQSFDSSLSSSVFGGGTKLTVL

図３Ｑ

NI-205.14W3 VH (配列番号:259):

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYPVNNYAINWVRQAPGQGLEWMGFINTNTGIPTYAQGFTGRFVF
SLDTSVNTAYLQISGLKADDTAVYYCARVGIVGVIVFDYWGQGTLVTVSS

NI-205.14W3 VK (配列番号:263):

DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLSSSKNKNHLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGYWASTRES
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSPSVTFGGGTKVEIK

図３Ｒ

NI-205.19G5 VH (配列番号:267):

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIYYDSSQRYYADSVKGRFTIS
RDNSKNALYLQMNSLRAEDTALYYCARDLPFHYHRSASFAPSDTWGQGTLVTVSS

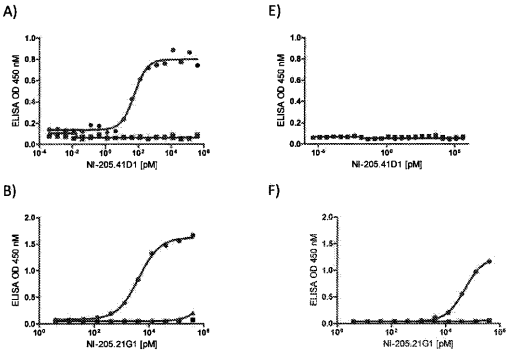
NI-205.19G5 VK (配列番号:271):

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQAVTNNYLAWYQQKPGQAPRLLVYAASSRATGIPDRFYGSGSGADFT
LTISRLEPEDFAVYYCQQYGTSPITFGQGTRLEIK

【図４－１】

図４Ａ、Ｂ、ＥおよびＦ

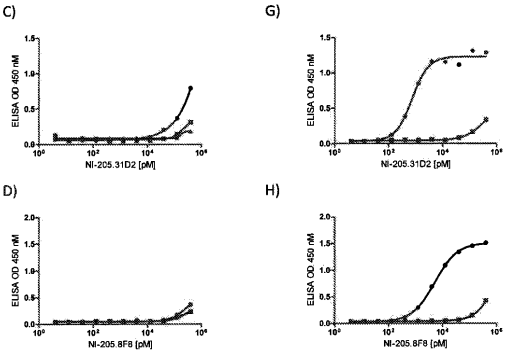
ヒトのＴＤＰ－４３についての結合親和性（EC_{50}）の測定



【図４－２】

図４Ｃ、Ｄ、Ｇ、およびＨ

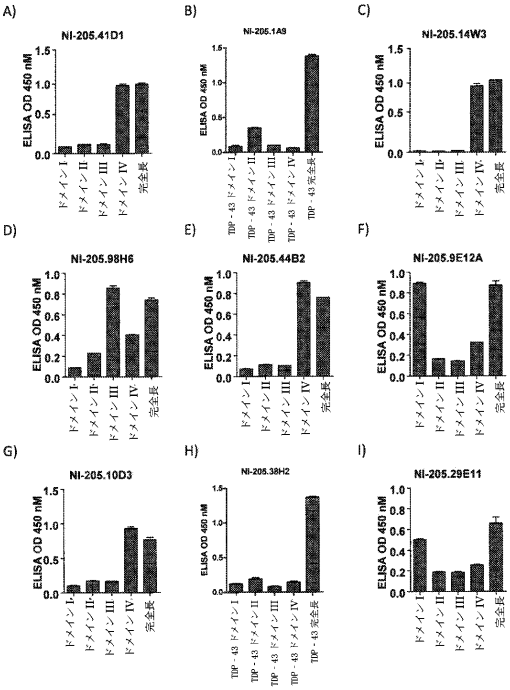
ヒトのＴＤＰ－４３についての結合親和性（EC_{50}）の測定



【図５－１】

図５Ａ～Ｉ

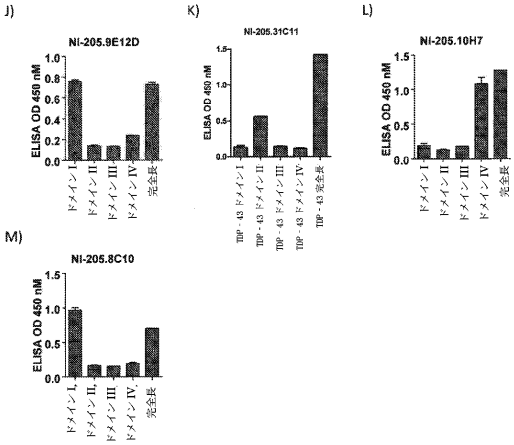
異なるＴＤＰ－４３ドメインへの結合



【図５－２】

図５Ｊ～Ｍ

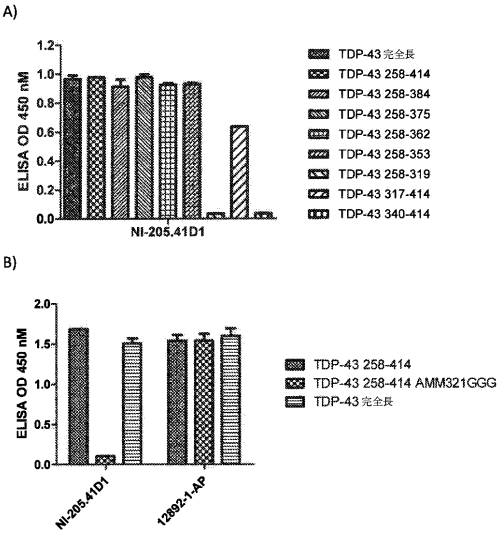
異なるＴＤＰ－４３ドメインへの結合



【図７－１】

図７ＡＢ

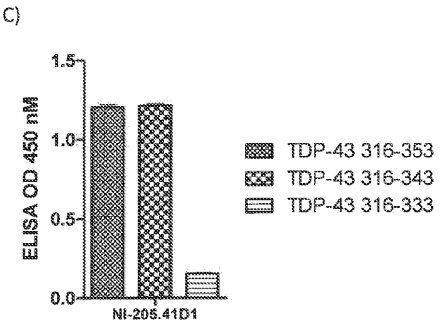
ＮＩ－２０５．４１Ｄ１の結合エピトープの決定



【図７－２】

図７Ｃ

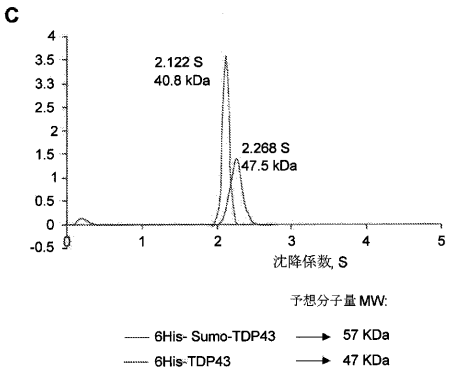
ＮＩ－２０５．４１Ｄ１の結合エピトープの決定



【図８－２】

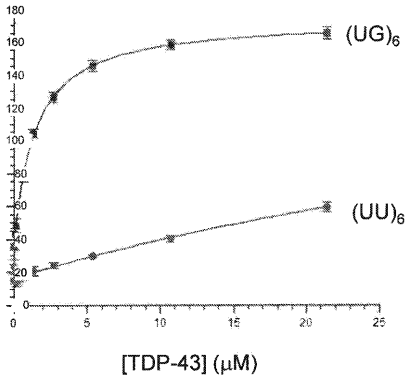
図８Ｃ

穏やかなカオトロピック条件下でのＴＤＰ－４３の単量体形態の精製



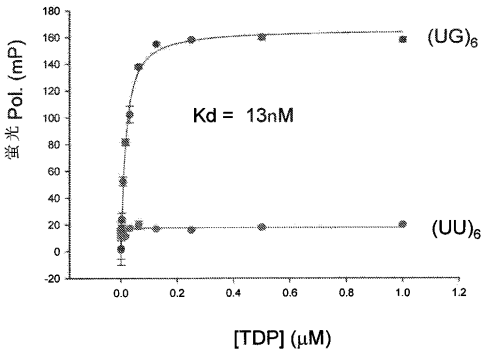
【図９Ａ】

図９Ａ



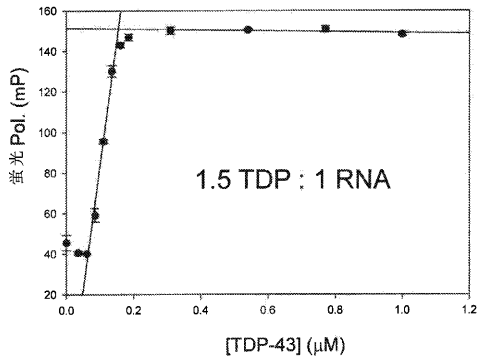
【図９Ｂ】

図９Ｂ



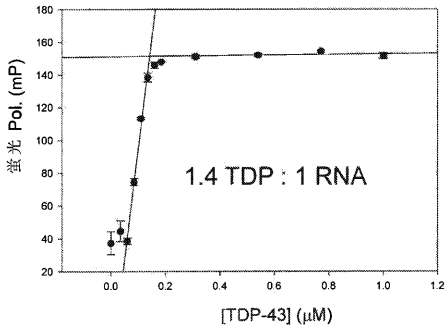
【図９Ｃ】

図９Ｃ



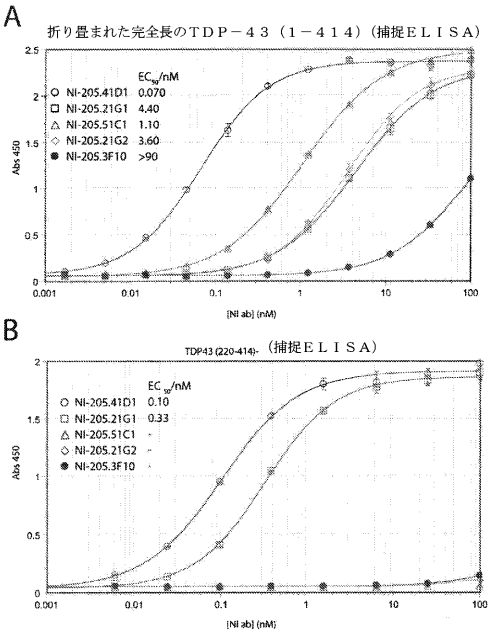
【図９Ｄ】

図９Ｄ



【図１０】

図１０ＡＢ



【図６－１】

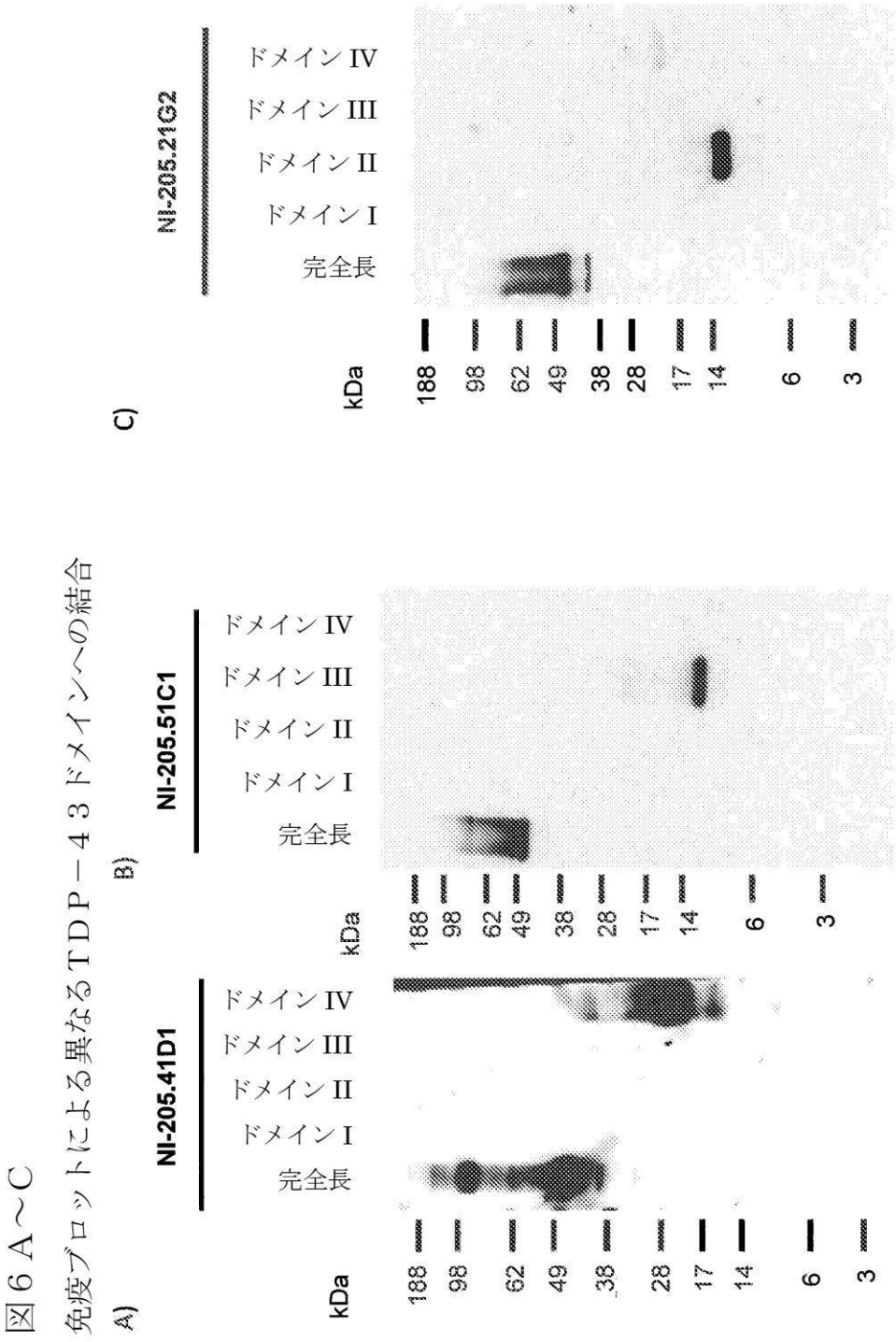


図６Ａ～Ｃ
免疫ブロットによる異なるＴＤＰ－４３ドメインへの結合
A)
NI-205.41D1
ドメイン IV
ドメイン III
ドメイン II
ドメイン I
完全長
kDa
188
98
62
49
38
28
17
14
6
3
B)
NI-205.51C1
C)
NI-205.21G2

【図６－２】

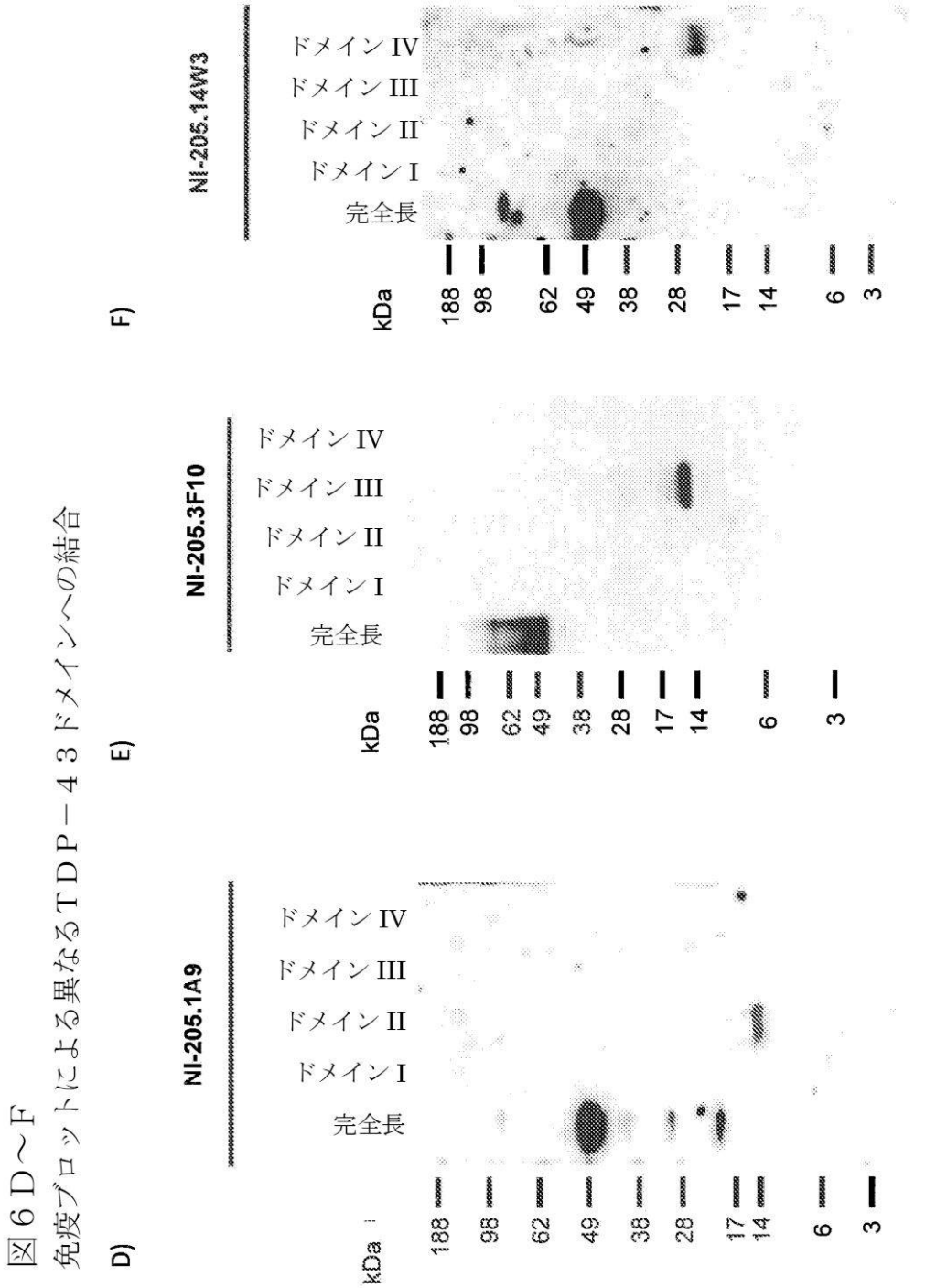


図６Ｄ～Ｆ
免疫ブロットによる異なるＴＤＰ－４３ドメインへの結合
D)
NI-205.1A9
ドメインIV
ドメインIII
ドメインII
ドメインI
完全長
kDa
188
98
62
49
38
28
17
14
6
3
E)
NI-205.3F10
ドメインIV
ドメインIII
ドメインII
ドメインI
完全長
kDa
188
98
62
49
38
28
17
14
6
3
F)
NI-205.14W3
ドメインIV
ドメインIII
ドメインII
ドメインI
完全長
kDa
188
98
62
49
38
28
17
14
6
3

【図６－３】

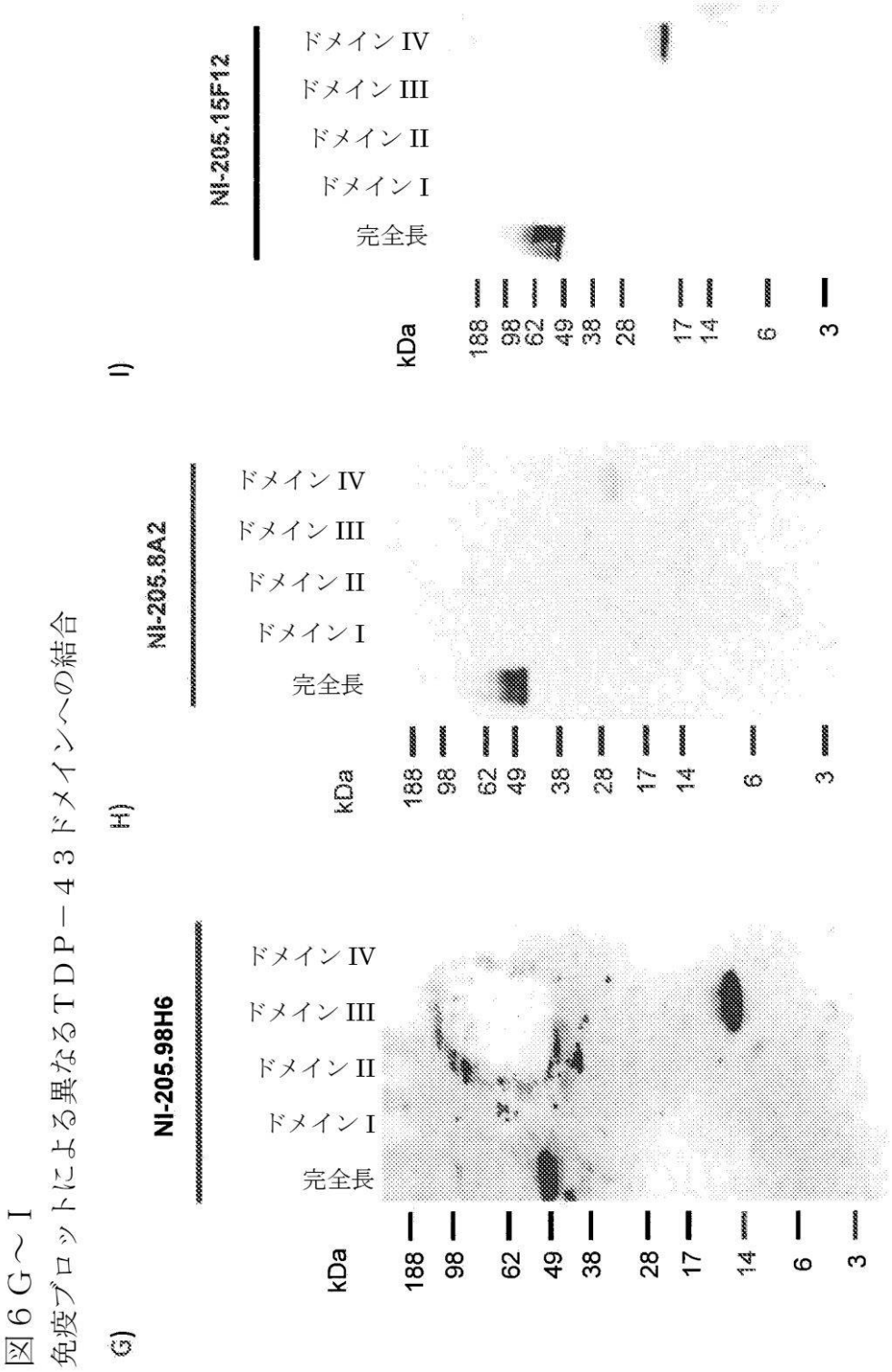
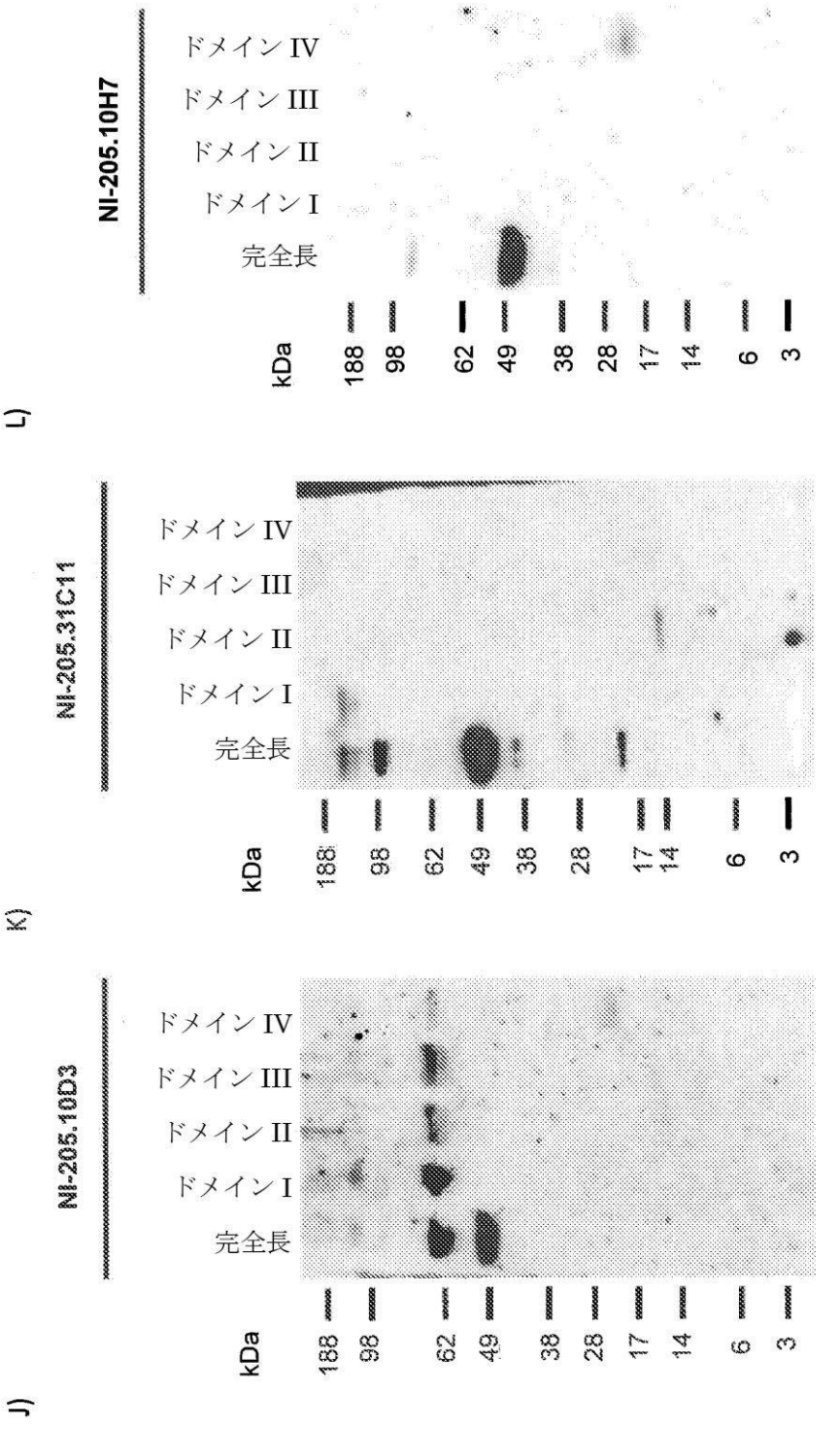


図６Ｇ～Ｉ
免疫ブロットによる異なるＴＤＰ－４３ドメインへの結合
G)
NI-205.98H6
H)
NI-205.8A2
I)
NI-205.15F12
ドメイン IV
ドメイン III
ドメイン II
ドメイン I
完全長
kDa
188
98
62
49
38
28
17
14
6
3

【図６－４】

図６Ｊ～Ｌ
免疫ブロットによる異なるＴＤＰ－４３ドメインへの結合



【図６－５】

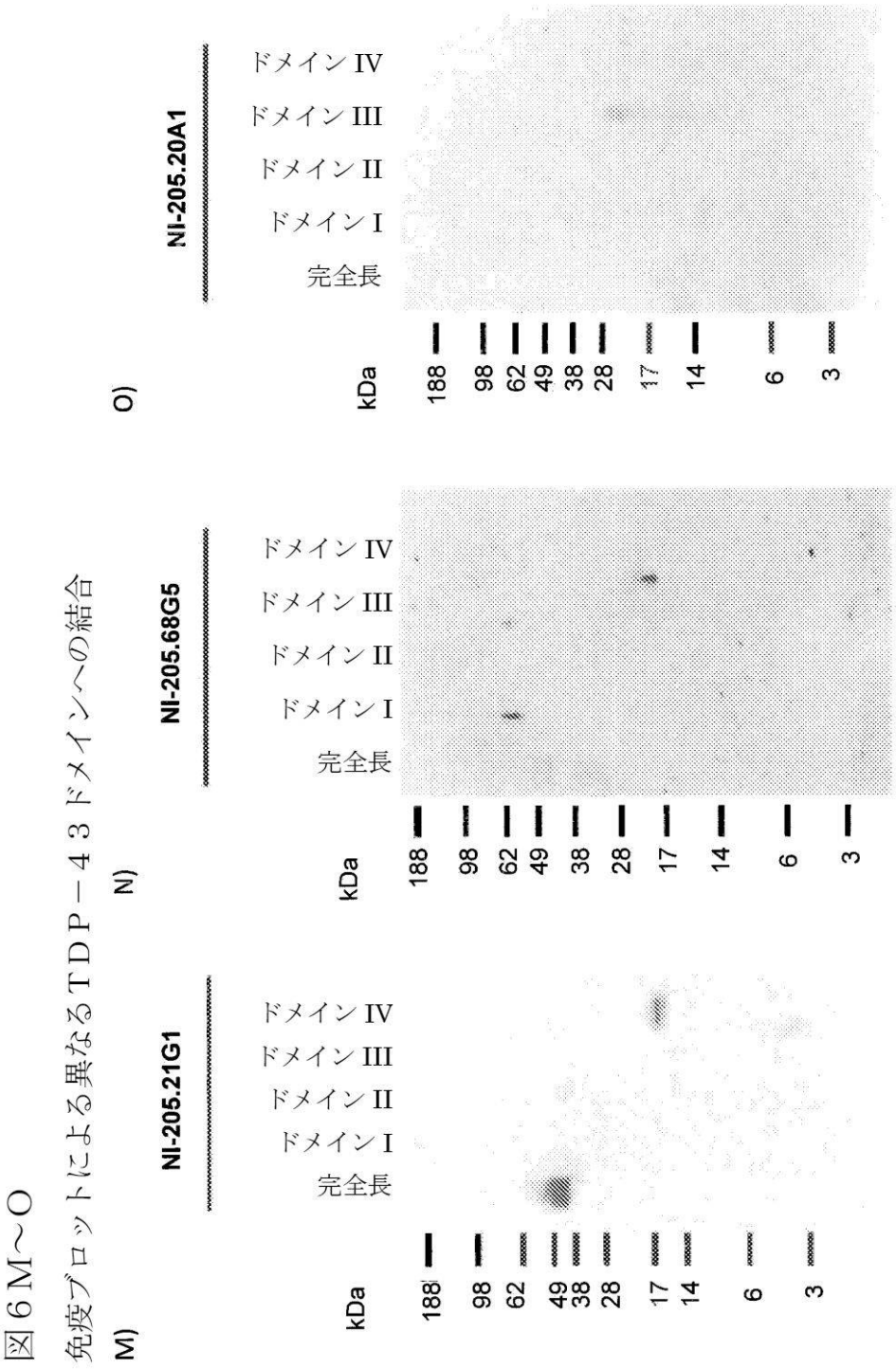


図６Ｍ～Ｏ
免疫ブロットによる異なるＴＤＰ－４３ドメインへの結合
M)
NI-205.21G1
ドメインIV
ドメインIII
ドメインII
ドメインI
完全長
kDa
188
98
62
49
38
28
17
14
6
3
N)
NI-205.68G5
O)
NI-205.20A1

【図６－６】

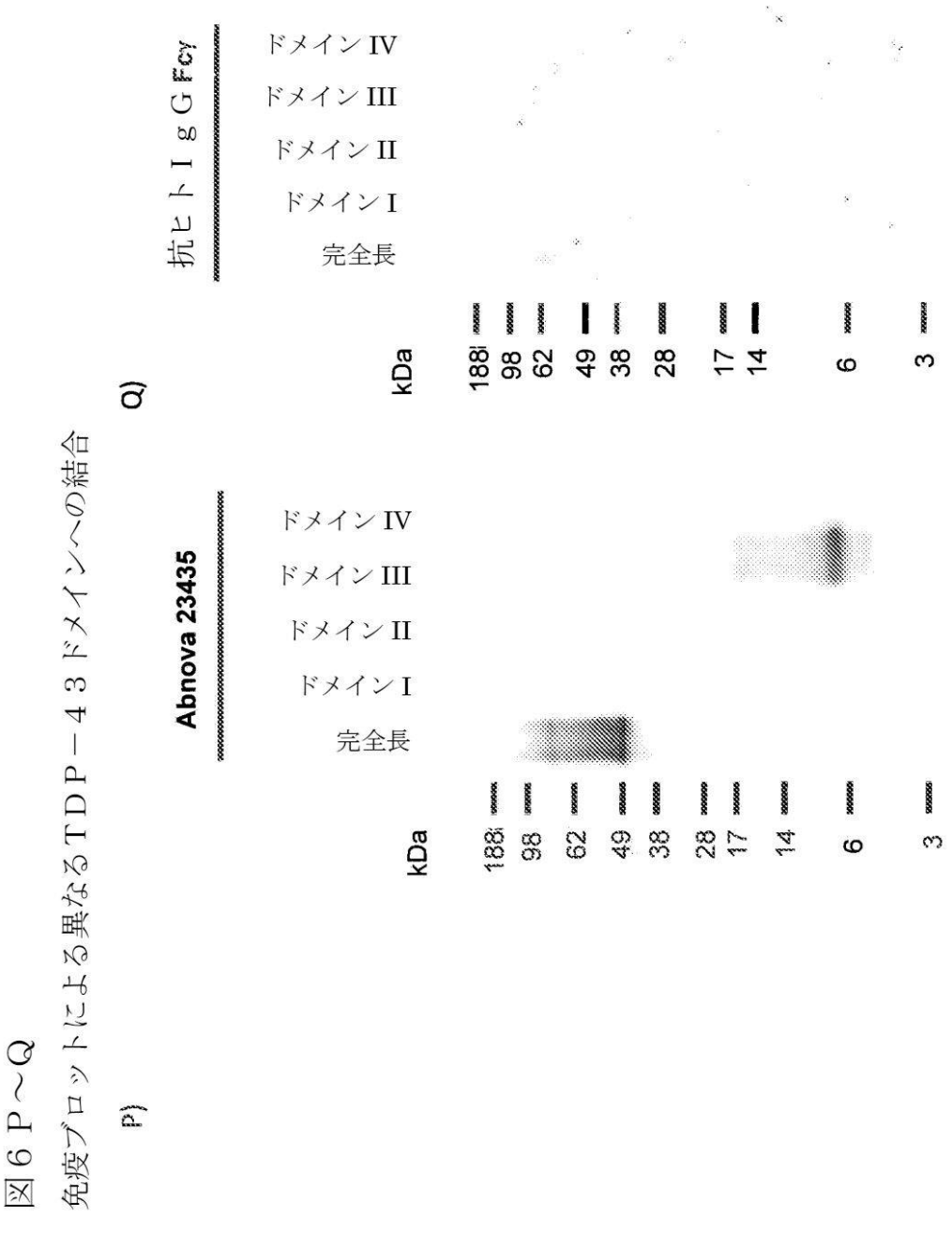
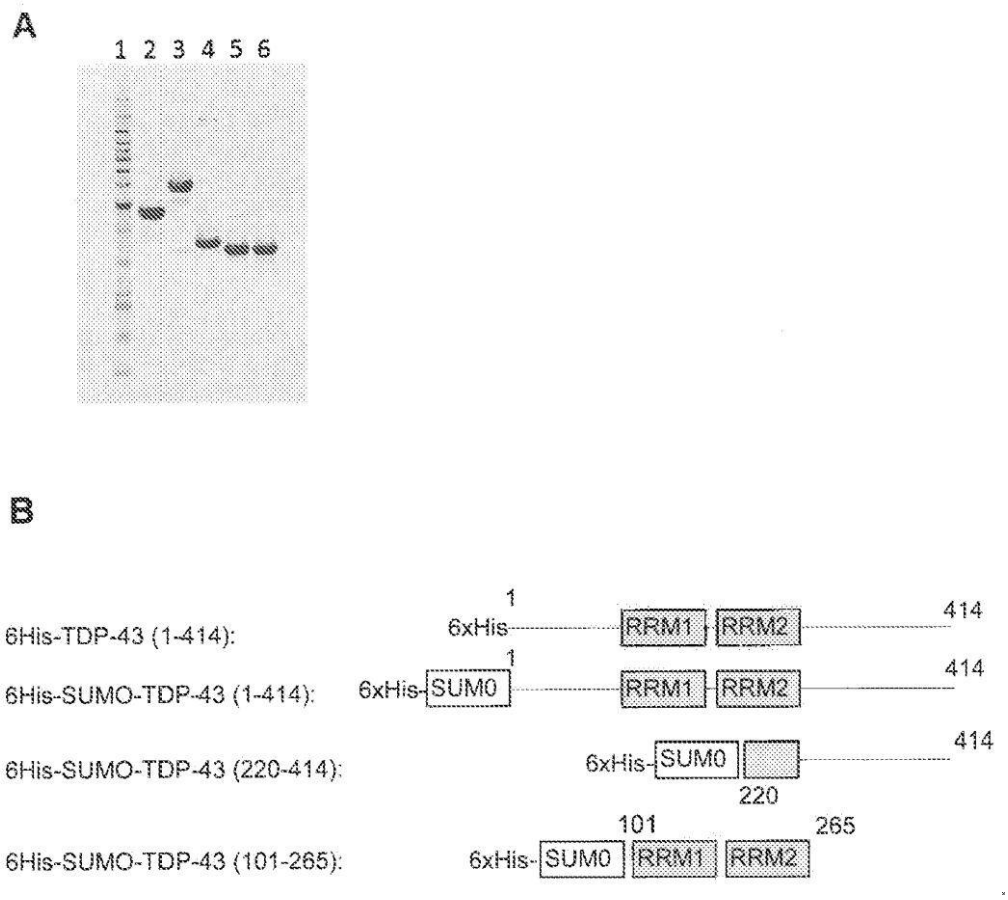


図６Ｐ～Ｑ
免疫ブロットによる異なるＴＤＰ－４３ドメインへの結合
P)
Abnova 23435
ドメインIV
ドメインIII
ドメインII
ドメインI
完全長
kDa
188
98
62
49
38
28
17
14
6
3
Q)
抗ヒトＩｇＧ Fcγ
ドメインIV
ドメインIII
ドメインII
ドメインI
完全長
kDa
188
98
62
49
38
28
17
14
6
3

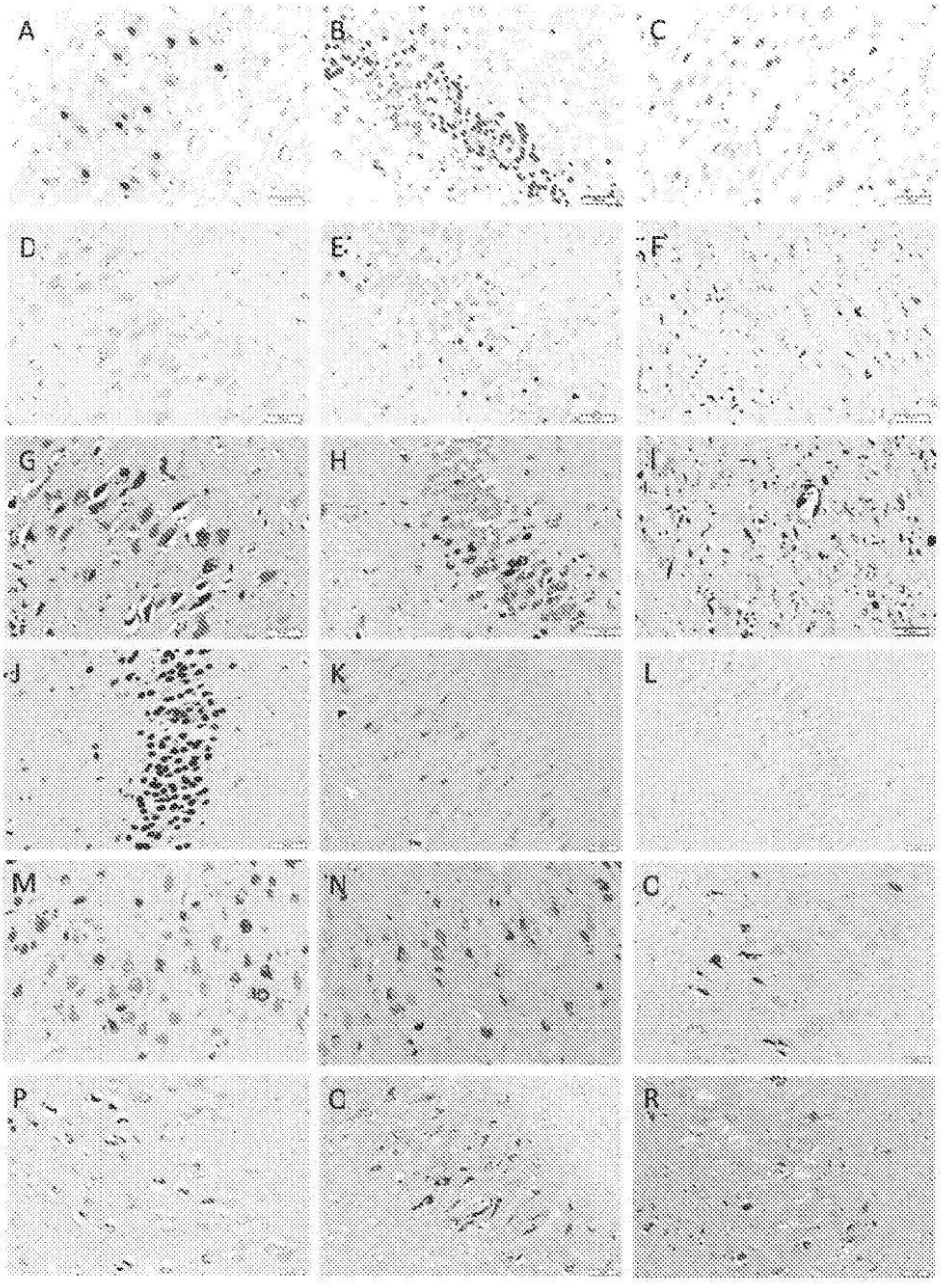
【図８－１】

図８ＡＢ

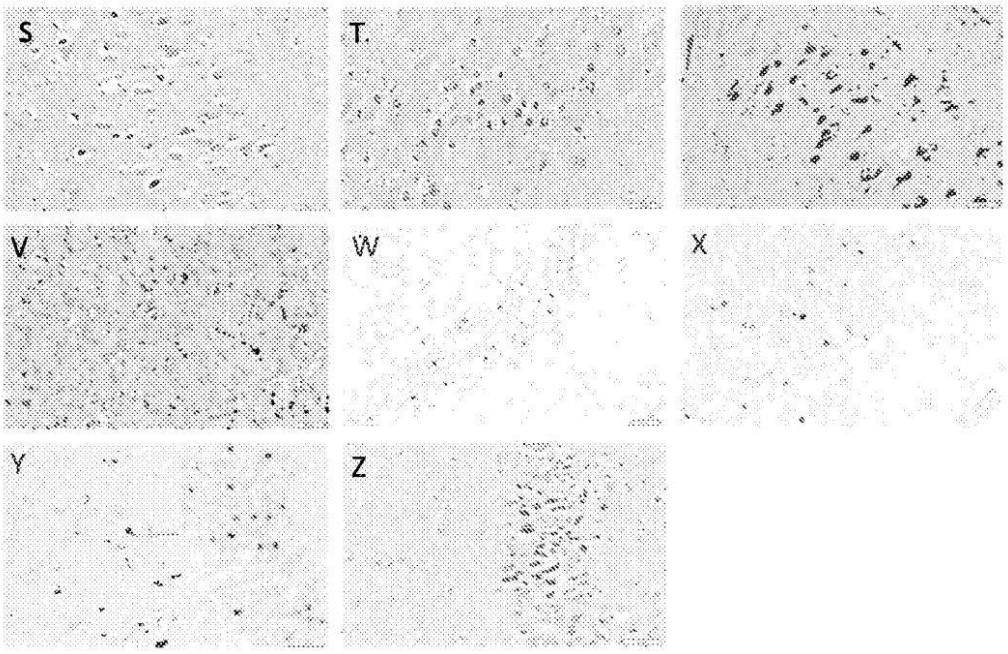
穏やかなカオトロピック条件下でのＴＤＰ－４３の単量体形態の精製



【図１１－１】
図１１Ａ～Ｒ



【図１１－２】
図１１Ｓ～Ｚ



【配列表】
2015505665000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2012/002905

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/18
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

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

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	"Biogen Idec and Neurimmune Announce Agreement on Three Neurodegenerative Disease Programs", , 20 December 2010 (2010-12-20), XP055064808, Retrieved from the Internet: URL:http://www.businesswire.com/news/home/20101220006526/en/Biogen-Idec-Neurimmune-Announce-Agreement-Neurodegenerative-Disease [retrieved on 2013-05-31] the whole document ----- -/--	1,7-25, 28-51

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
10 January 2014	16/01/2014

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2012/002905

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	"TARDBP (41-7.1): sc-100871", , 26 March 2009 (2009-03-26), XP055064934, Retrieved from the Internet: URL:http://datasheets.scbt.com/sc-100871.pdf [retrieved on 2013-06-03] the whole document	2,4,7-51
X	JOHNSON B S ET AL: "a yeast TDP-43 proteinopathy model: exploring the molecular determinants of TDP-43 aggregation and cellular toxicity", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 105, no. 17, 29 April 2008 (2008-04-29), pages 6439-6444, XP002534604, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.0802082105 the whole document	2,4,7-51
X	YUKI SHIINA ET AL: "TDP-43 Dimerizes in Human Cells in Culture", CELLULAR AND MOLECULAR NEUROBIOLOGY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS-PLENUM PUBLISHERS, NE, vol. 30, no. 4, 31 December 2009 (2009-12-31), pages 641-652, XP019815449, ISSN: 1573-6830 the whole document	2,4,7-51
X	US 5 688 511 A (GAYNOR RICHARD B [US] ET AL) 18 November 1997 (1997-11-18) the whole document	2,4,7-51
A	WO 2008/081008 A1 (UNIV ZUERICH [CH]; NITSCH ROGER [CH]; HOCK CHRISTOPH [CH]; ESSLINGER C) 10 July 2008 (2008-07-10) the whole document	1,7-25, 28-51
A	CN 101 634 656 A (WUHAN SANYING BIO TECHNOLOGY C) 27 January 2010 (2010-01-27) the whole document	2,4,7-51
A	WO 2009/099941 A2 (UNIV ST LOUIS [US]; CAIRNS NIEGEL J [US]; BALOH ROBERT H [US]; PESTRON) 13 August 2009 (2009-08-13) the whole document	1,7-25, 28-51

International application No.
PCT/IB2012/002905

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1(completely); 2, 4, 7-51(partially)

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ IB2012/ 002905

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1(completely); 2, 4, 7-51(partially)

part (i) subject-matter relating to human monoclonal antibodies binding to a TDP-43 polypeptide and part (ii) subject-matter relating to monoclonal antibodies binding to a TDP-43 polypeptide not limited to human monoclonal antibodies wherein the latter part (i.e. part (ii)) further splits up into 5 Subinventions. The Subinvention 1 has been searched within this Invention without asking for additional search fees. It covers the subject-matter relating to monoclonal antibodies binding to a TDP-43 polypeptide consisting of an amino acid sequence defined by amino acid residues 2-106 of SEQ ID NO.94 or to epitopes comprised within this region.

---

2. claims: 2, 4, 7-51(all partially)

subject-matter relating to monoclonal antibodies binding to a TDP-43 polypeptide consisting of an amino acid sequence defined by amino acid residues 99-204 of SEQ ID NO.94 or to epitopes comprised within this region

---

3. claims: 2, 4, 7-51(all partially)

subject-matter relating to monoclonal antibodies binding to a TDP-43 polypeptide consisting of an amino acid sequence defined by amino acid residues 183-273 of SEQ ID NO.94 or to epitopes comprised within this region

---

4. claims: 3, 5, 6(completely); 2, 4, 7-51(partially)

subject-matter relating to monoclonal antibodies binding to a TDP-43 polypeptide consisting of an amino acid sequence defined by amino acid residues 258-414 of SEQ ID NO.94 or to epitopes comprised within this region, and to monoclonal antibodies binding to this region but which do not bind the TDP-43 321-AMM/GGG mutant

---

5. claims: 2, 4, 7-51(all partially)

subject-matter relating to monoclonal antibodies binding to a TDP-43 polypeptide consisting of an amino acid sequence defined by amino acid residues 390-414 of SEQ ID NO.94 or to epitopes comprised within this region, wherein serine at least one of the positions 409 and 410 is phosphorylated

---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2012/002905

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5688511 A	18-11-1997	NONE	
WO 2008081008 A1	10-07-2008	AU 2008203703 A1	10-07-2008
		BR PI0806328 A2	06-09-2011
		CA 2674140 A1	10-07-2008
		CA 2764852 A1	10-07-2008
		CN 101622275 A	06-01-2010
		CN 102603893 A	25-07-2012
		CN 103408661 A	27-11-2013
		EA 200900954 A1	26-02-2010
		EA 201201067 A1	30-10-2013
		EP 2099826 A1	16-09-2009
		EP 2426143 A2	07-03-2012
		EP 2436696 A1	04-04-2012
		JP 2010514454 A	06-05-2010
		KR 20090114388 A	03-11-2009
		KR 20120017469 A	28-02-2012
		SG 177954 A1	28-02-2012
		US 2010202968 A1	12-08-2010
		WO 2008081008 A1	10-07-2008
CN 101634656 A	27-01-2010	NONE	
WO 2009099941 A2	13-08-2009	CA 2713871 A1	13-08-2009
		JP 2011510661 A	07-04-2011
		US 2011065600 A1	17-03-2011
		WO 2009099941 A2	13-08-2009

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
C12N 1/21	*(2006.01)*	C12N	1/21		4H045
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	5/00	101	
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12P	21/08		
A61P 25/28	*(2006.01)*	A61P	25/28		
A61P 21/00	*(2006.01)*	A61P	21/00		
A61P 25/14	*(2006.01)*	A61P	25/14		
A61P 25/00	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61P 25/16	*(2006.01)*	A61P	25/16		
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61K 51/00	*(2006.01)*	A61K	49/02	A	
A61K 49/00	*(2006.01)*	A61K	49/00	C	
A61K 39/00	*(2006.01)*	A61K	39/00	H	
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61K	45/00		
G01N 33/53	*(2006.01)*	A61K	49/00	A	
		G01N	33/53	D	

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

(74)代理人 100181674
弁理士 飯田 貴敏
(74)代理人 100181641
弁理士 石川 大輔
(74)代理人 230113332
弁護士 山本 健策
(72)発明者 ローガー, ニッチ
スイス国 ツェーハー－８１２６ ツミコン, ランクヴィスシュトラーセ ２７
(72)発明者 ホック, クリストフ
スイス国 ツェーハー－８７０３ エルレンバッハ, リーシュトラーセ ４３
(72)発明者 バレンコ モントラシオ, マリア グラジア
スイス国 ツェーハー－８８３４ シンデレジ, フォゲルネシュトラーセ ７
(72)発明者 モントラシオ, ファビオ
スイス国 ツェーハー－８８３４ シンデレジ, フォゲルネシュトラーセ ７
(72)発明者 グリム, ヤン
スイス国 ツェーハー－８６００ デューベンドルフ, ビュルクリシュトラーセ １６
(72)発明者 ベリスヴィル, ジャン－リュ
スイス国 ツェーハー－８０３７ チューリッヒ, ロートブックシュトラーセ ２７
(72)発明者 ワインレブ, ポール
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０１８１０, アンドーバー, ブランドレット アベニュー １８
(72)発明者 クーマラスワミ, ヤナキ
スイス国 ツェーハー－８００４ チューリッヒ, アンヴァントシュトラーセ ４５

(72)発明者　キンテローモンソン，　オマール
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２４５３，　ウォルサム，　ワシントン　アベニュー　７６

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA41 BA61 CA01 CA04 CA05 CA09 CA11 CA20
DA01 DA02 DA05 DA06 DA11 EA04 GA11 HA01 HA11
4B064 AG26 AG27 CA01 CA02 CA19 DA01 DA13
4B065 AA01X AA26X AA57X AA87X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA01 CA24
CA25 CA44 CA46
4C084 AA19 NA05 ZC412
4C085 AA03 AA14 AA16 BB41 BB43 BB50 CC23 GG02 GG03 GG04
GG05 GG06 GG10 HH01 HH03 HH07 HH11 KA04 KA27 KA29
KB07 KB15 KB99 LL13 LL17
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 DA76 EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2015505665A5	公开(公告)日	2015-10-29
申请号	JP2014537750	申请日	2012-10-26
[标]申请(专利权)人(译)	Biogen Idec公司国际神经科学门的Em-基于硬 苏黎世大学		
申请(专利权)人(译)	Biogen Idec公司国际神经科学有限公司 苏黎世大学		
[标]发明人	ローガーニッチ ホッククリストフ バレンコモントラシオマリアグラジア モントラシオファビオ グリムヤン ベリスヴィルジャンリュ ワインレブポール クーマラスワミヤナキ キンテロモンソンオマール		
发明人	ローガー, ニッチ ホック, クリストフ バレンコ モントラシオ, マリア グラジア モントラシオ, ファビオ グリム, ヤン ベリスヴィル, ジャン-リュ ワインレブ, ポール クーマラスワミ, ヤナキ キンテロ-モンソン, オマール		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/18 C07K16/46 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 A61P25/28 A61P21/00 A61P25/14 A61P25/00 A61P25/16 A61K39/395 A61K51/00 A61K49/00 A61K39/00 A61K45/00 G01N33/53		
CPC分类号	A61K39/3955 A61K49/16 A61K2039/505 A61K2039/54 C07K16/18 C07K2317/14 C07K2317/21 C07K2317/34 C07K2317/52 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/622 C07K2317/92 G01N33/6896 G01N2333/47 G01N2800/2814 A61P21/00 A61P25/00 A61P25/02 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61K51/1018		
FI分类号	C12N15/00.A C07K16/18.ZNA C07K16/46 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 C12P21/08 A61P25/28 A61P21/00 A61P25/14 A61P25/00 A61P25/16 A61K39/395.N A61K49/02.A A61K49/00.C A61K39/00.H A61K45/00 A61K49/00.A G01N33/53.D		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA41 4B024/BA61 4B024/CA01 4B024/CA04 4B024/CA05 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/CA20 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA06 4B024/DA11 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA11 4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA01 4B064/CA02 4B064/CA19 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA01X 4B065/AA26X 4B065/AA57X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA19 4C084/NA05 4C084/ZC412 4C085/AA03 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/BB50 4C085/CC23 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4C085/GG06 4C085/GG10 4C085/HH01 4C085/HH03 4C085/HH07 4C085/HH11 4C085/KA04 4C085/KA27 4C085/KA29 4C085/KB07 4C085/KB15 4C085/KB99 4C085/LL13 4C085/LL17 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		

代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作
优先权	61/553113 2011-10-28 US
其他公开文献	JP2015505665A JP6240611B2

摘要(译)

提供了新颖的TDP-43特异性结合分子，包括多肽如人抗体，以及其片段，衍生物和变体。还提供了与这些TDP-43特异性结合分子有关的方法。还公开了与TDP-43特异性结合分子相关的测定，试剂盒和固体支持物，包括多肽如人抗体。TDP-43特异性结合分子，抗体，免疫球蛋白链以及其结合片段，衍生物和变体可分别用于TDP-43靶向免疫治疗和诊断的药物和诊断组合物中。