

(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2017-505758

(P2017-505758A)

(43) 公表日 平成29年2月23日(2017.2.23)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/12 (2006.01)	C07K 16/12 ZNA	2G045
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 A	4C085
C07K 16/46 (2006.01)	C07K 16/46	4H045
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53 D	
GO1N 33/569 (2006.01)	GO1N 33/569 E	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 82 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-541258 (P2016-541258)	(71) 出願人	514264606
(86) (22) 出願日	平成26年12月19日 (2014.12.19)		アルサニス・バイオサイエンスズ・ゲゼル シャフト・ミト・ベシュレンクテル・ハフ ツング
(85) 翻訳文提出日	平成28年8月10日 (2016.8.10)		オーストリア国 1030 ウィーン, ヘル ムートークヴァルティンガラーガッセ 2
(86) 国際出願番号	PCT/EP2014/078708	(74) 代理人	110000475
(87) 国際公開番号	W02015/091935		特許業務法人みのり特許事務所
(87) 国際公開日	平成27年6月25日 (2015.6.25)	(72) 発明者	ナギー, エスター
(31) 優先権主張番号	13198484.1		オーストリア国、エー-1070 ウィー ン、ヴェストバーンシュトラーセ 32- 34/イー/12
(32) 優先日	平成25年12月19日 (2013.12.19)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 黄色ブドウ球菌の LUKGH (LUKAB) 毒素に対する抗体及び抗体配列

(57) 【要約】

本発明は、L u k G H 複合体に特異的に結合する少なくとも1つの結合部位を有する抗体を提供し、当該抗体は、表1に挙げられたCDR1~CDR3配列のいずれか、又は機能的に活性なそのCDR変異体を含む抗体重鎖可変領域(VH)を少なくとも含む。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

L u k G H 複合体と特異的に結合する少なくとも 1 つの結合部位を含む抗体であって、表 1 に挙げられた C D R 1 ~ C D R 3 配列のいずれか、又はその機能的に活性な C D R 変異体を含む抗体重鎖可変領域 (V H) を少なくとも含む、抗体。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の抗体であって、以下のグループメンバー i) ~ viii) からなる群より選択される抗体；

i)

A) 以下を含む抗体

- a) 配列番号 2 又は配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 1 ; 及び
- b) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 2 ; 及び
- c) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

- a) 配列番号 2 又は配列番号 1 5 のアミノ酸配列からなる親 C D R 1 ; 又は
- b) 配列番号 4 のアミノ酸配列からなる親 C D R 2 ; 又は
- c) 配列番号 6 のアミノ酸配列からなる親 C D R 3

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体；

ii)

A) 以下を含む抗体

- a) 配列番号 2 6、配列番号 3 6 又は配列番号 3 8 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 1 ; 及び
- b) 配列番号 2 8、配列番号 3 7、配列番号 3 9 又は配列番号 4 0 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 2 ; 及び
- c) 配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

- a) 配列番号 2 6、配列番号 3 6 又は配列番号 3 8 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 C D R 1 ; 又は
- b) 配列番号 2 8、配列番号 3 7、配列番号 3 9 又は配列番号 4 0 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 C D R 2 ; 又は
- c) 配列番号 3 0 のアミノ酸配列からなる親 C D R 3

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体；

iii)

A) 以下を含む抗体

- a) 配列番号 4 7、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3 又は配列番号 6 4 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 1 ; 及び
- b) 配列番号 4 9、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 5 又は配列番号 6 6 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 2 ; 及び
- c) 配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

- a) 配列番号 4 7、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3 又は配列番号 6 4 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 C D R 1 ; 又は
- b) 配列番号 4 9、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 5 又は配列番号 6 6 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 C D R 2 ; 又は

10

20

30

40

50

c) 配列番号 51 のアミノ酸配列からなる親 CDR 3
の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;
iv)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 71、配列番号 77、配列番号 79、配列番号 81、配列番号 83 又は配列番号 85 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR 1 ; 及び

b) 配列番号 72、配列番号 78、配列番号 84 又は配列番号 4 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR 2 ; 及び

c) 配列番号 73 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 3
又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 71、配列番号 77、配列番号 79、配列番号 81、配列番号 83 又は配列番号 85 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 1 ; 又は

b) 配列番号 72、配列番号 78、配列番号 84 又は配列番号 4 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 2 ; 又は

c) 配列番号 73 のアミノ酸配列からなる親 CDR 3
の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;
v)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 87、配列番号 97、配列番号 99 又は配列番号 101 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR 1 ; 及び

b) 配列番号 88、配列番号 98、配列番号 100 又は配列番号 102 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR 2 ; 及び

c) 配列番号 89 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 3
又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 87、配列番号 97、配列番号 99 又は配列番号 101 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 1 ; 又は

b) 配列番号 88、配列番号 98、配列番号 100 又は配列番号 102 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 2 ; 又は

c) 配列番号 89 のアミノ酸配列からなる親 CDR 3
の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;
vi)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 104、配列番号 110、配列番号 112、配列番号 38、配列番号 114、配列番号 119 又は配列番号 120 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR 1 ; 及び

b) 配列番号 105、配列番号 109、配列番号 111、配列番号 113、配列番号 102、配列番号 115 又は配列番号 121 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR 2 ; 及び

c) 配列番号 106 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 3
又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 104、配列番号 110、配列番号 112、配列番号 38、配列番号 114、配列番号 119 又は配列番号 120 のアミノ酸配列からなる親 CDR 1 ; 又は

b) 配列番号 105、配列番号 109、配列番号 111、配列番号 113、配列番号 102、配列番号 115 又は配列番号 121 のアミノ酸配列からなる親 CDR 2 ; 又は

c) 配列番号 106 のアミノ酸配列からなる親 CDR 3
の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;
vii)

10

20

30

40

50

A) 以下を含む抗体

- a) 配列番号 1 2 5 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 1 ; 及び
- b) 配列番号 1 2 6 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 2 ; 及び
- c) 配列番号 1 2 7 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

- a) 配列番号 1 2 5 のアミノ酸配列からなる親 C D R 1 ; 又は
- b) 配列番号 1 2 6 のアミノ酸配列からなる親 C D R 2 ; 又は
- c) 配列番号 1 2 7 のアミノ酸配列からなる親 C D R 3

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

10

viii)

A) 以下を含む抗体

- a) 配列番号 1 3 4 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 1 ; 及び
- b) 配列番号 1 3 5 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 2 ; 及び
- c) 配列番号 1 3 7 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

- a) 配列番号 1 3 4 のアミノ酸配列からなる親 C D R 1 ; 又は
- b) 配列番号 1 3 5 のアミノ酸配列からなる親 C D R 2 ; 又は
- c) 配列番号 1 3 7 のアミノ酸配列からなる親 C D R 3

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

20

ここで、前記機能的に活性な C D R 変異体のいずれかは、前記親 C D R 配列内に少なくとも 1 つの点変異を含み、且つ、親 C D R 配列と少なくとも 6 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又は それからなる。

【請求項 3】

グループメンバー iv) の抗体、又はその機能的に活性な変異体である、請求項 2 に記載の抗体であって、ここで、

a) V H C D R 1 における 7 位で、アミノ酸残基が S、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及び Y から選択され、好ましくは E、F、H、I、K、L、M、R、V、W 又は Y のいずれかであり、より好ましくは E、F、M、W 又は Y のいずれかである ;

30

b) V H C D R 2 における 1 位で、アミノ酸残基が N、A、D、E、F、H、L、S、T、V 及び Y から選択され、好ましくは F、H 又は Y のいずれかである ;

c) V H C D R 2 における 3 位で、アミノ酸残基が Y、H、T 及び W から選択される ;

d) V H C D R 2 における 5 位で、アミノ酸残基が S、A、E、F、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W 及び Y から選択され、好ましくは N、R 又は W のいずれかであり、より好ましくは N 又は W である ;

e) V H C D R 2 における 7 位で、アミノ酸残基が S、D、F、H、K、L、M、N、R 及び W から選択される ;

40

f) V H C D R 2 における 9 位で、アミノ酸残基が Y、D、E、F、N、S 及び W から選択され、好ましくは D 又は H であり、より好ましくは H である ;

g) V H C D R 3 における 4 位で、アミノ酸残基が R、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、S、T、V 及び W から選択され、好ましくは D 又は H である ;

h) V H C D R 3 における 5 位で、アミノ酸残基が G、A、F 及び Y から選択される ;

i) V H C D R 3 における 6 位で、アミノ酸残基が M、E、F、H 及び Q から選択され、好ましくは F 又は H である ; 及び / 又は

j) V H C D R 3 における 7 位で、アミノ酸残基が H、A、D、E、F、G、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、W 及び Y から選択され、好ましくは E、K、Q、R、W

50

又は Y のいずれかであり、より好ましくは W 又は Y である。

【請求項 4】

機能的に活性な C D R 変異体が、

a) 親 C D R 配列中の 1, 2 又は 3 つの点変異；又は

b) 親 C D R 配列の 4 つの C 末端あるいは 4 つの N 末端、又は 4 つの中心アミノ酸位のいずれかにおける 1 又は 2 つの点変異

の少なくとも 1 つを含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 5】

以下からなる群より選択される、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の抗体：

a) 以下を含む抗体

a. 配列番号 38 の C D R 1 配列；及び

b. 配列番号 39 の C D R 2 配列；及び

c. 配列番号 30 の C D R 3 配列；

b) 以下を含む抗体

a. 配列番号 47 の C D R 1 配列；及び

b. 配列番号 49 の C D R 2 配列；及び

c. 配列番号 51 の C D R 3 配列；

c) 以下を含む抗体

a. 配列番号 83 の C D R 1 配列；及び

b. 配列番号 84 の C D R 2 配列；及び

c. 配列番号 73 の C D R 3 配列；

d) 以下を含む抗体

a. 配列番号 104 の C D R 1 配列；及び

b. 配列番号 105 の C D R 2 配列；及び

c. 配列番号 106 の C D R 3 配列；

e) 以下を含む抗体

a. 配列番号 114 の C D R 1 配列；及び

b. 配列番号 115 の C D R 2 配列；及び

c. 配列番号 106 の C D R 3 配列。

10

20

30

40

50

【請求項 6】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の抗体であって、以下を含む抗体：

a) 図 2 に示される任意の V H 配列から選択される V H アミノ酸配列；

b) 配列番号 147、配列番号 149、配列番号 151、配列番号 153、配列番号 155、配列番号 157、配列番号 159、配列番号 161、配列番号 163、配列番号 165、配列番号 167、配列番号 169、及び配列番号 171 からなる群より選択される抗体重鎖(H C)アミノ酸配列；

c) 配列番号 147、配列番号 149、配列番号 151、配列番号 153、配列番号 155、配列番号 157、配列番号 159、配列番号 161、配列番号 163、配列番号 165、配列番号 167、配列番号 169、及び配列番号 171 からなる群より選択される抗体重鎖(H C)アミノ酸配列、これはさらに、前記 V H 配列の第一アミノ酸が Q であれば、C 末端アミノ酸の欠失及び / 又は Q 1 E 点変異を含む。

【請求項 7】

さらに、表 1 に挙げられた C D R 4 ~ C D R 6 配列のいずれか、又はその機能的に活性な C D R 変異体を含む、抗体軽鎖可変領域(V L)を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 8】

請求項 7 に記載の抗体であって、以下のグループメンバー i) ~ viii) からなる群より選択される抗体；

i)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 9 又は配列番号 19 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 4 ; 及び

b) 配列番号 11、配列番号 16 又は配列番号 21 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 5 ; 及び

c) 配列番号 13、配列番号 17、配列番号 23 又は配列番号 24 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 6

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 9 又は配列番号 19 のアミノ酸配列からなる親 C D R 4 ; 又は

b) 配列番号 11、配列番号 16 又は配列番号 21 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 C D R 5 ; 又は

c) 配列番号 13、配列番号 17、配列番号 23 又は配列番号 24 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 C D R 6

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

ii)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 32 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 4 ; 及び

b) 配列番号 33 又は配列番号 41 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 5 ; 及び

c) 配列番号 35、配列番号 42、配列番号 43 又は配列番号 45 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 6

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 32 のアミノ酸配列からなる親 C D R 4 ; 又は

b) 配列番号 33 又は配列番号 41 のアミノ酸配列からなる親 C D R 5 ; 又は

c) 配列番号 35、配列番号 42、配列番号 43 又は配列番号 45 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 C D R 6

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

iii)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 53、配列番号 67 又は配列番号 19 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 4 ; 及び

b) 配列番号 21 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 5 ; 及び

c) 配列番号 54、配列番号 68、配列番号 69 又は配列番号 70 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 6

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 53、配列番号 67 又は配列番号 19 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 C D R 4 ; 又は

b) 配列番号 21 のアミノ酸配列からなる親 C D R 5 ; 又は

c) 配列番号 54、配列番号 68、配列番号 69 又は配列番号 70 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 C D R 6

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

iv)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 75 又は配列番号 32 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 4 ; 及び

b) 配列番号 41 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 5 ; 及び

c) 配列番号 76 又は配列番号 86 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R

6

10

20

30

40

50

又は

- B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、
- a) 配列番号 75 又は配列番号 32 のアミノ酸配列からなる親 CDR 4 ; 又は
 - b) 配列番号 41 のアミノ酸配列からなる親 CDR 5 ; 又は
 - c) 配列番号 76 又は配列番号 86 のアミノ酸配列からなる親 CDR 6

の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

v)

A) 以下を含む抗体

- a) 配列番号 92 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 4 ; 及び
- b) 配列番号 94 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 5 ; 及び
- c) 配列番号 96 又は配列番号 103 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 6

又は

- B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、
- a) 配列番号 92 のアミノ酸配列からなる親 CDR 4 ; 又は
 - b) 配列番号 94 のアミノ酸配列からなる親 CDR 5 ; 又は
 - c) 配列番号 96 又は配列番号 103 のアミノ酸配列からなる親 CDR 6

の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

vi)

A) 以下を含む抗体

- a) 配列番号 92 又は配列番号 116 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 4 ; 及び
- b) 配列番号 94 又は配列番号 117 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 5 ; 及び
- c) 配列番号 108、配列番号 118 又は配列番号 123 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR 6

又は

- B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、
- a) 配列番号 92 又は配列番号 116 のアミノ酸配列からなる親 CDR 4 ; 又は
 - b) 配列番号 94 又は配列番号 117 のアミノ酸配列からなる親 CDR 5 ; 又は
 - c) 配列番号 108、配列番号 118 又は配列番号 123 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 6

の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

vii)

A) 以下を含む抗体

- a) 配列番号 32 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 4 ; 及び
- b) 配列番号 41 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 5 ; 及び
- c) 配列番号 129、配列番号 130、配列番号 131 又は配列番号 132 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR 6

又は

- B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、
- a) 配列番号 32 のアミノ酸配列からなる親 CDR 4 ; 又は
 - b) 配列番号 41 のアミノ酸配列からなる親 CDR 5 ; 又は
 - c) 配列番号 129、配列番号 130、配列番号 131 又は配列番号 132 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 6

の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

viii)

A) 以下を含む抗体

- a) 配列番号 92 又は配列番号 116 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 4 ; 及び

10

20

30

40

50

b) 配列番号 94 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 5 ; 及び
 c) 配列番号 140、配列番号 96、配列番号 142 又は配列番号 143 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR 6
 又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、
 a) 配列番号 92 又は配列番号 116 のアミノ酸配列からなる親 CDR 4 ; 又は
 b) 配列番号 94 のアミノ酸配列からなる親 CDR 5 ; 又は
 c) 配列番号 140、配列番号 96、配列番号 142 又は配列番号 143 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 6

の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

ここで、前記機能的に活性な CDR 変異体のいずれかは、前記親 CDR 配列内に少なくとも 1 つの点変異を含み、且つ、親 CDR 配列と少なくとも 60 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又は それからなる。

【請求項 9】

グループメンバー vi) の抗体、又はその機能的に活性な変異体である、請求項 8 に記載の抗体であって、ここで、

a) VL CDR 4 における 7 位で、アミノ酸残基が N、A、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、S、W 及び Y からなる群より選択され、好ましくは F、L、W、又は Y のいずれかであり、より好ましくは L 又は W である ;

b) VL CDR 4 における 8 位で、アミノ酸残基が S、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及び Y から選択され、好ましくは I 又は W である ;

c) VL CDR 4 における 9 位で、アミノ酸残基が Y、F、R 及び W から選択され、好ましくは R 又は W である ;

d) VL CDR 5 における 1 位で、アミノ酸残基が A、G、S、W 及び Y から選択され、好ましくは G である ;

e) VL CDR 6 における 4 位で、アミノ酸残基が F、H、M、W 及び Y から選択される ; 及び / 又は

f) VL CDR 6 における 5 位で、アミノ酸残基が D、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、及び Y から選択される ; 及び / 又は

g) VL CDR 6 における 8 位で、アミノ酸残基が F、H、R 及び W から選択される

【請求項 10】

図 2 に示される任意の VL 配列から選択される VL アミノ酸配列、または、配列番号 148、配列番号 150、配列番号 152、配列番号 154、配列番号 156、配列番号 158、配列番号 160、配列番号 162、配列番号 164、配列番号 166、配列番号 168、配列番号 170、及び配列番号 172 からなる群より選択される抗体軽鎖(LC)アミノ酸配列、又は前述したいずれかの機能的に活性な CDR 変異体を含み、LuKGH 複合体と、 10^{-8} M 未満、好ましくは 10^{-9} M 未満の Kd で結合する親和性を有する、請求項 7 又は 8 に記載の抗体。

【請求項 11】

請求項 10 に記載の抗体であって、当該抗体又はその機能的に活性な変異体は、図 2 のグループ 4 に示される任意の VL 配列から選択される VL アミノ酸配列、又は、配列番号 158、配列番号 160、配列番号 162 からなる群より選択される抗体軽鎖(LC)アミノ酸配列を含み、ここで

a) VL CDR 4 における 7 位で、アミノ酸残基が N、A、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、S、W 及び Y からなる群より選択され、好ましくは F、L、W、又は Y のいずれかであり、より好ましくは L 又は W である ;

b) VL CDR 4 における 8 位で、アミノ酸残基が S、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及び Y から選択され、好ましくは I 又は W であ

10

20

30

40

50

る；

c) V L C D R 4 における 9 位で、アミノ酸残基が Y、F、R 及び W から選択され、好ましくは R 又は W である；

d) V L C D R 5 における 1 位で、アミノ酸残基が A、G、S、W 及び Y から選択され、好ましくは G である；

e) V L C D R 6 における 4 位で、アミノ酸残基が F、H、M、W 及び Y から選択される；

f) V L C D R 6 における 5 位で、アミノ酸残基が D、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、及び Y から選択される；及び / 又は

g) V L C D R 6 における 8 位で、アミノ酸残基が F、H、R 及び W から選択される

10

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の抗体であって、以下からなる群より選択される抗体：

a) 以下を含む抗体

a . 配列番号 3 8 の C D R 1 配列；及び

b . 配列番号 3 9 の C D R 2 配列；及び

c . 配列番号 3 0 の C D R 3 配列；及び

d . 配列番号 3 2 の C D R 4 配列；及び

e . 配列番号 3 3 の C D R 5 配列；及び

f . 配列番号 3 5 の C D R 6 配列

20

b) 以下を含む抗体

a . 配列番号 4 7 の C D R 1 配列；及び

b . 配列番号 4 9 の C D R 2 配列；及び

c . 配列番号 5 1 の C D R 3 配列；及び

d . 配列番号 5 3 の C D R 4 配列；及び

e . 配列番号 2 1 の C D R 5 配列；及び

f . 配列番号 5 4 の C D R 6 配列

c) 以下を含む抗体

a . 配列番号 8 3 の C D R 1 配列；及び

b . 配列番号 8 4 の C D R 2 配列；及び

c . 配列番号 7 3 の C D R 3 配列；及び

d . 配列番号 7 5 の C D R 4 配列；及び

e . 配列番号 4 1 の C D R 5 配列；及び

f . 配列番号 7 6 の C D R 6 配列

30

d) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 0 4 の C D R 1 配列；及び

b . 配列番号 1 0 5 の C D R 2 配列；及び

c . 配列番号 1 0 6 の C D R 3 配列；及び

d . 配列番号 9 2 の C D R 4 配列；及び

e . 配列番号 9 4 の C D R 5 配列；及び

f . 配列番号 1 0 8 の C D R 6 配列

40

e) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 1 4 の C D R 1 配列；及び

b . 配列番号 1 1 5 の C D R 2 配列；及び

c . 配列番号 1 0 6 の C D R 3 配列；及び

d . 配列番号 1 1 6 の C D R 4 配列；及び

e . 配列番号 1 1 7 の C D R 5 配列；及び

f . 配列番号 1 1 8 の C D R 6 配列

又は、前述したいずれかの機能的に活性な C D R 変異体であって、L u k G H 複合体と、

50

10^{-8} M未満、好ましくは 10^{-9} M未満のKdで結合する親和性を有するもの。

【請求項13】

請求項12に記載の抗体であって、前記c)の抗体又はその機能的に活性な変異体であり、ここで：

a) VH CDR1における7位で、アミノ酸残基がS、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及びYから選択され、好ましくはE、F、H、I、K、L、M、R、V、W又はYのいずれかであり、より好ましくはE、F、M、W又はYのいずれかである；

b) VH CDR2における1位で、アミノ酸残基がN、A、D、E、F、H、L、S、T、V及びYから選択され、好ましくはF、H又はYのいずれかである；

c) VH CDR2における3位で、アミノ酸残基がY、H、T及びWから選択される；

d) VH CDR2における5位で、アミノ酸残基がS、A、E、F、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W及びYから選択され、好ましくはN、R又はWのいずれかであり、より好ましくはN又はWである；

e) VH CDR2における7位で、アミノ酸残基がS、D、F、H、K、L、M、N、R及びWから選択される；

f) VH CDR2における9位で、アミノ酸残基がY、D、E、F、N、S及びWから選択され、好ましくはD又はHであり、より好ましくはHである；

g) VH CDR3における4位で、アミノ酸残基がR、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、S、T、V及びWから選択され、好ましくはD又はHである；

h) VH CDR3における5位で、アミノ酸残基がG、A、F及びYから選択される；

i) VH CDR3における6位で、アミノ酸残基がM、E、F、H及びQから選択され、好ましくはF又はHである；

j) VH CDR3における7位で、アミノ酸残基がH、A、D、E、F、G、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、W及びYから選択され、好ましくはE、K、Q、R、W又はYのいずれかであり、より好ましくはW又はYである；

k) VL CDR4における7位で、アミノ酸残基がN、A、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、S、W及びYからなる群より選択され、好ましくはF、L、W、又はYのいずれかであり、より好ましくはL又はWである；

l) VL CDR4における8位で、アミノ酸残基がS、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及びYから選択され、好ましくはI又はWである；

m) VL CDR4における9位で、アミノ酸残基がY、F、R及びWから選択され、好ましくはR又はWである；

n) VL CDR5における1位で、アミノ酸残基がA、G、S、W及びYから選択され、好ましくはGである；

o) VL CDR6における4位で、アミノ酸残基がF、H、M、W及びYから選択される；

p) VL CDR6における5位で、アミノ酸残基がD、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、及びYから選択される；及び/又は

q) VL CDR6における8位で、アミノ酸残基がF、H、R及びWから選択される。

【請求項14】

表1に挙げられたVH及び/又はVLの任意のフレームワーク領域を含むフレームワークを含み、任意で、前記VHフレームワーク領域(VH FR1)の第一アミノ酸がQの場合は、Q1E点変異を含む、請求項12又は13に記載の抗体。

【請求項15】

図2に示されたHCアミノ酸配列を含む、請求項12～14のいずれか1項に記載の抗

10

20

30

40

50

体。

【請求項 16】

請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の抗体であって、以下からなる群より選択される抗体：

- a) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 147 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 148 の L C アミノ酸配列
- b) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 149 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 150 の L C アミノ酸配列
- c) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 151 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 152 の L C アミノ酸配列
- d) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 153 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 154 の L C アミノ酸配列
- e) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 155 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 156 の L C アミノ酸配列
- f) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 157 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 158 の L C アミノ酸配列
- g) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 159 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 160 の L C アミノ酸配列
- h) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 161 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 162 の L C アミノ酸配列
- i) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 163 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 164 の L C アミノ酸配列
- j) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 165 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 166 の L C アミノ酸配列
- k) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 167 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 168 の L C アミノ酸配列
- l) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 169 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 170 の L C アミノ酸配列
- m) 以下を含む抗体
 - a. 配列番号 171 の H C アミノ酸配列；及び
 - b. 配列番号 172 の L C アミノ酸配列

又は、前述したいずれかの機能的に活性な C D R 変異体であって、L u k G H 複合体と、 10^{-8} M 未満、好ましくは 10^{-9} M 未満の K d で結合する親和性を有するもの。

【請求項 17】

請求項 16 に記載の抗体であって、グループメンバー f)、g) 及び h) のいずれかの抗体、又はその機能的に活性な変異体であって、ここで、

- a) V H C D R 1 における 7 位で、アミノ酸残基が S、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及び Y から選択され、好ましくは E、F、H、

I、K、L、M、R、V、W又はYのいずれかであり、より好ましくはE、F、M、W又はYのいずれかである；

b) VH CDR2における1位で、アミノ酸残基がN、A、D、E、F、H、L、S、T、V及びYから選択され、好ましくはF、H又はYのいずれかである；

c) VH CDR2における3位で、アミノ酸残基がY、H、T及びWから選択される；

d) VH CDR2における5位で、アミノ酸残基がS、A、E、F、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W及びYから選択され、好ましくはN、R又はWのいずれかであり、より好ましくはN又はWである；

e) VH CDR2における7位で、アミノ酸残基がS、D、F、H、K、L、M、N、R及びWから選択される；

f) VH CDR2における9位で、アミノ酸残基がY、D、E、F、N、S及びWから選択され、好ましくはD又はHであり、より好ましくはHである；

g) VH CDR3における4位で、アミノ酸残基がR、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、S、T、V及びWから選択され、好ましくはD又はHである；

h) VH CDR3における5位で、アミノ酸残基がG、A、F及びYから選択される；

i) VH CDR3における6位で、アミノ酸残基がM、E、F、H及びQから選択され、好ましくはF又はHである；

j) VH CDR3における7位で、アミノ酸残基がH、A、D、E、F、G、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、W及びYから選択され、好ましくはE、K、Q、R、W又はYのいずれかであり、より好ましくはW又はYである；

k) VL CDR4における7位で、アミノ酸残基がN、A、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、S、W及びYからなる群より選択され、好ましくはF、L、W、又はYのいずれかであり、より好ましくはL又はWである；

l) VL CDR4における8位で、アミノ酸残基がS、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及びYから選択され、好ましくはI又はWである；

m) VL CDR4における9位で、アミノ酸残基がY、F、R及びWから選択され、好ましくはR又はWである；

n) VL CDR5における1位で、アミノ酸残基がA、G、S、W及びYから選択され、好ましくはGである；

o) VL CDR6における4位で、アミノ酸残基がF、H、M、W及びYから選択される；

p) VL CDR6における5位で、アミノ酸残基がD、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、及びYから選択される；及び/又は

q) VL CDR6における8位で、アミノ酸残基がF、H、R及びWから選択される。

【請求項18】

L u k G H複合体と、 10^{-8} M未満、好ましくは 10^{-9} M未満のK dで結合する親和性を有する、請求項1～17のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項19】

好ましくは 10^{-7} Mより高い、好ましくは 10^{-6} Mより高いK dで、個別のL u k G及び/又はL u k H抗原と結合する親和性を有し、当該親和性がL u k G H複合体と結合する親和性より低い、請求項18に記載の抗体。

【請求項20】

全長モノクローナル抗体、前記結合部位を含む少なくとも1つの抗体ドメインを含むその抗体フラグメント、又は、前記結合部位を含む少なくとも1つの抗体ドメインを含む融合タンパク質である、請求項1～19のいずれか1項に記載の抗体。

【請求項21】

請求項1～20のいずれか1項に記載の抗体。

10

20

30

40

50

黄色ブドウ球菌感染のリスクがあるか又は当該感染を患っている被験体を治療するために使用するための、請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体であって、当該治療は、被験体における感染を限定するのに有効な量の抗体を被験体に投与して、前記感染から生じる疾患状態を寛解させるか、又は肺炎、敗血症、菌血症、創傷感染、膿瘍、手術部位感染、眼内炎、フルンケル症、カルブンケル症、心内膜炎、腹膜炎、骨髄炎又は関節感染等の黄色ブドウ球菌疾患の発病を阻害することを含む、抗体。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体を含む医薬品であって、好ましくは、非経口又は粘膜用製剤を含み、任意で薬学的に許容されるキャリアー又は賦形剤を含有する、医薬品。

10

【請求項 23】

高毒素産生 M R S A 感染を含む任意の黄色ブドウ球菌感染、例えば壊死性肺炎、ならびにフルンケル症及びカルブンケル症における毒素産生を検出する診断用途のための、請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 24】

任意で、標識を含む抗体及び / 又は標識を含むさらなる診断試薬を含む、請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体の診断用製剤。

【請求項 25】

請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体をコードする単離核酸。

【請求項 26】

請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体の単離パラトープ、又は当該パラトープを含む結合分子。

20

【請求項 27】

請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の抗体によって認識される、単離立体構造エピトープであって、

a) L u k G の縁領域、及び接触アミノ酸残基 A s n 7 1 、 T y r 7 3 、 T r p 7 4 、 A s n 2 0 6 、 L e u 2 0 7 、 T r p 2 0 8 、 L y s 2 1 0 、 A s p 2 1 1 、 T r p 2 6 2 、及び P h e 2 6 7 の構造座標を含む、黄色ブドウ球菌の L u k G H 複合体の三次元構造；又は

b) a) の相同体である三次元構造、ここで当該相同体は、接触アミノ酸残基の骨格原子からの平均二乗偏差 0 . 0 0 Å ~ 2 . 0 0 Å を有する結合部位を含むを特徴とする立体構造エピトープ。

30

【請求項 28】

結合分子によって結合される、請求項 27 に記載のエピトープ。

【請求項 29】

好ましくはタンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、核酸、炭水化物、脂質、オリゴペプチド、アプタマー及び小分子化合物、好ましくは抗体、前記結合部位を含む少なくとも 1 つの抗体ドメインを含むその抗体フラグメント、又は前記結合部位を含む少なくとも 1 つの抗体ドメインを含む融合タンパク質、からなる群より選択される結合分子であり、当該結合分子は、黄色ブドウ球菌の L u k G H 複合体を認識する特異的結合剤である、請求項 27 又は 28 に記載のエピトープを特異的に認識する結合分子。

40

【請求項 30】

請求項 27 又は 28 に記載のエピトープを特異的に認識する結合剤を同定するためのスクリーニング法又はアッセイであって、

- 候補化合物を請求項 27 に記載の三次元構造と接触させる工程、及び、
- 前記候補化合物と前記三次元構造間の結合を評価する工程、ここで、前記候補化合物と前記三次元構造間の結合は、当該候補化合物が、黄色ブドウ球菌の L u k G H 複合体を認識する特異的結合剤であることを同定する

を含む、スクリーニング法又はアッセイ。

【請求項 31】

50

- a) 請求項 27 又は 28 に記載のエピトープ；及び
 b) キャリアー、好ましくは薬学的に許容されるキャリアー、好ましくはバッファー及び/又はアジュバント物質を含むキャリアーを含む、免疫原。

【請求項 32】

ワクチン製剤、好ましくは非経口使用のためのワクチン製剤中に存在する、請求項 31 に記載の免疫原。

【請求項 33】

黄色ブドウ球菌感染から被験体を防御するか、前記感染から生じる疾患状態を阻止するか、又は黄色ブドウ球菌肺炎の発病を阻害するのに有効な量の当該免疫原を投与することによって、被験体を治療するために使用するための、請求項 31 又は 32 に記載の免疫原。

【請求項 34】

防御免疫応答を誘導するための、請求項 33 に記載の使用のための免疫原。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、特定のアミノ酸配列を特徴とする黄色ブドウ球菌の細胞毒素 LukGH (LukABとも呼ばれる) に対する抗体に関する。

【背景技術】

【0002】

黄色ブドウ球菌 (*S.aureus*) は、無症候性定着及び中程度の皮膚感染症から重度の深い組織感染、肺炎、血液感染及び敗血症の範囲に渡る幅広いヒトにおける感染を引き起こす可能性がある最も重要なヒト病原体の 1 つである。この病原体は、疾患を引き起こし、宿主防御を妨害する多重病原性メカニズムを使用する。最も強力な病原性因子の 1 つは、白血球、特に食細胞を殺傷することを専門にするロイコシジンである。LukGH (LukABとも呼ばれる) は、ごく最近特定されたロイコシジンであり、多形核細胞 (PMN)、単球及び樹状細胞を溶解でき (Dumon et al. Mol Microbiol. 2011 Feb;79(3):814-25; Ventura et al. PLoS One. 2010 Jul 16;5(7):e11634)、また、それらを活性化して炎症促進性サイトカインを産生することもできる。

【0003】

LukGH は、HlgAB、HlgCB、LukED 及び LukSF (PVL) と同様の二成分細胞溶解素である。LukH (S 成分) 及び LukG (F 成分) は、上述した二成分ロイコシジンの S 及び F 成分と、それぞれ約 30 ~ 40% のアミノ酸相同性を示す。

【0004】

LukGH は、最も変化しやすい二成分黄色ブドウ球菌毒素である。LukSF、LukED 及び HlgABC が、様々な黄色ブドウ球菌株で高度に保存されるのに対し、LukGH は最大 14% のアミノ酸変化を示す。このレベルのアミノ酸相違は、2 つの異なる毒素間、例えば、HlgC 対 LukS、又は、LukS 対 HlgAC あるいは LukE で観察されるもの (~ 16% 相違) にほぼ達する。LukGH の機能に関するデータはほとんどなく、それらは、互いにほとんど同一である Newman 及び LAC (USA300) 株に由来する 2 つの配列を用いて産生されている。他の変異体が、ヒト細胞に活性であるか否かは知られておらず、特に、USA300 及び他の黄色ブドウ球菌クローン複合体と最も異なると考えられている、2 つの黄色ブドウ球菌ゲノム、MRSA252 (EMRSA16) 及び MSHR1132 ("シルバー"黄色ブドウ球菌) から、2 つの配列が派生した。

【0005】

黄色ブドウ球菌培養上清の PMN 溶解活性に基づくと、LukGH は、ヒト固有の細胞に最も強力なロイコトキシンの 1 つであると考えられる (Dumont et al. Infect Immun. 2013 May;81(5):1830-41; Malachowa et al. J Infect Dis. 2012 Oct;206(8):1185-93)。それゆえ、中和抗体によって LukGH の毒素機能を阻害することは、黄色ブドウ球菌

10

20

30

40

50

疾患の間ポジティブな影響を与え、且つ、感染部位への食細胞の遊走を省くことによって宿主防御をサポートすると考えられる。我々の目的は、L u k G H 毒素を中和するモノクローナル抗体を用いて、ヒトの黄色ブドウ球菌感染を予防及び治療するためのヒトの治療方法を開発することである。

【 0 0 0 6 】

文献に基づくと、細胞表面受容体を認識するのは二成分ロイコシジンの S 成分であり、この相互作用は、F 成分の結合と、L u k S F 及び H l g A B について記載されている八量体膜貫通孔構造の形成を引き起こす立体構造変化を誘発する (Colin, Infect Immun, 1994:3184; Meunier, Biochim Biophys Acta, 1997:275)。

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 7 】

本発明の目的は、黄色ブドウ球菌細胞毒素 L u k G H (L u k A B と呼ばれる) に対する抗体であって、この毒素の様々な変異体と交差反応性であり、交差中和能を提供する抗体を提供することである。具体的には、前記目的は、個別の L u k G 又は L u k H 抗原と特異的に結合するが、より少ない程度で L u k G H 複合体と結合する抗体と比較して、インビトロにおいて L u k G H に対する高い中和能、及び改善された防御を伴う抗体に関する。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 8 】

前記目的は、本発明の主題によって解消される。

【 0 0 0 9 】

本発明によれば、L u k G H 複合体と特異的に結合する少なくとも 1 つの結合部位を有する抗体であって、表 1 に挙げられた C D R 1 ~ C D R 3 配列のいずれか又はその機能的に活性な C D R 変異体を含む抗体重鎖可変領域 (V H) を少なくとも含む抗体が提供される。

【 0 0 1 0 】

特に、前記抗体はモノクローナル抗体である。

【 0 0 1 1 】

特に、前記抗体は、以下のグループメンバー i) ~ viii) からなる群より選択される ;

i)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 2 又は配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 1 ; 及び

b) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 2 ; 及び

c) 配列番号 6 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 2 又は配列番号 1 5 のアミノ酸配列からなる親 C D R 1 ; 及び / 又は

b) 配列番号 4 のアミノ酸配列からなる親 C D R 2 ; 及び / 又は

c) 配列番号 6 のアミノ酸配列からなる親 C D R 3

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

ii)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 2 6 、配列番号 3 6 又は配列番号 3 8 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 1 ; 及び

b) 配列番号 2 8 、配列番号 3 7 、配列番号 3 9 又は配列番号 4 0 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 2 ; 及び

c) 配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 3

又は

10

20

30

40

50

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 26、配列番号 36 又は配列番号 38 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR1；及び / 又は

b) 配列番号 28、配列番号 37、配列番号 39 又は配列番号 40 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR2；及び / 又は

c) 配列番号 30 のアミノ酸配列からなる親 CDR3

の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体；

iii)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 47、配列番号 55、配列番号 57、配列番号 59、配列番号 61、配列番号 63 又は配列番号 64 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR1；及び

b) 配列番号 49、配列番号 56、配列番号 58、配列番号 60、配列番号 62、配列番号 65 又は配列番号 66 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR2；及び

c) 配列番号 51 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 47、配列番号 55、配列番号 57、配列番号 59、配列番号 61、配列番号 63 又は配列番号 64 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR1；及び / 又は

b) 配列番号 49、配列番号 56、配列番号 58、配列番号 60、配列番号 62、配列番号 65 又は配列番号 66 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR2；及び / 又は

c) 配列番号 51 のアミノ酸配列からなる親 CDR3

の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体；

iv)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 71、配列番号 77、配列番号 79、配列番号 81、配列番号 83 又は配列番号 85 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR1；及び

b) 配列番号 72、配列番号 78、配列番号 84 又は配列番号 4 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR2；及び

c) 配列番号 73 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 71、配列番号 77、配列番号 79、配列番号 81、配列番号 83 又は配列番号 85 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR1；及び / 又は

b) 配列番号 72、配列番号 78、配列番号 84 又は配列番号 4 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR2；及び / 又は

c) 配列番号 73 のアミノ酸配列からなる親 CDR3

の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体；

v)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 87、配列番号 97、配列番号 99 又は配列番号 101 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR1；及び

b) 配列番号 88、配列番号 98、配列番号 100 又は配列番号 102 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR2；及び

c) 配列番号 89 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 87、配列番号 97、配列番号 99 又は配列番号 101 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR1；及び / 又は

10

20

30

40

50

b) 配列番号 88、配列番号 98、配列番号 100 又は配列番号 102 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 2 ; 及び / 又は

c) 配列番号 89 のアミノ酸配列からなる親 CDR 3
 の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;
 vi)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 104、配列番号 110、配列番号 112、配列番号 38、配列番号 114、配列番号 119 又は配列番号 120 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 1 ; 及び

b) 配列番号 105、配列番号 109、配列番号 111、配列番号 113、配列番号 102、配列番号 115 又は配列番号 121 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 2 ; 及び

c) 配列番号 106 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 3
 又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 104、配列番号 110、配列番号 112、配列番号 38、配列番号 114、配列番号 119 又は配列番号 120 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 1 ; 及び / 又は

b) 配列番号 105、配列番号 109、配列番号 111、配列番号 113、配列番号 102、配列番号 115 又は配列番号 121 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 2 ; 及び / 又は

c) 配列番号 106 のアミノ酸配列からなる親 CDR 3
 の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;
 vii)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 125 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 1 ; 及び
 b) 配列番号 126 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 2 ; 及び
 c) 配列番号 127 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 125 のアミノ酸配列からなる親 CDR 1 ; 及び / 又は

b) 配列番号 126 のアミノ酸配列からなる親 CDR 2 ; 及び / 又は

c) 配列番号 127 のアミノ酸配列からなる親 CDR 3

の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;
 viii)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 134 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 1 ; 及び
 b) 配列番号 135 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 2 ; 及び
 c) 配列番号 137 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 3

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 134 のアミノ酸配列からなる親 CDR 1 ; 及び / 又は

b) 配列番号 135 のアミノ酸配列からなる親 CDR 2 ; 及び / 又は

c) 配列番号 137 のアミノ酸配列からなる親 CDR 3

の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

ここで、前記機能的に活性な CDR 変異体のいずれか (特に、上記グループメンバー i) ~ viii) の 1 つに規定されたもの) は、前記親 CDR 配列内に少なくとも 1 つの点変異を含み、且つ、親 CDR 配列と少なくとも 60% の配列同一性、好ましくは少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又は それからなる。

10

20

30

40

50

【0012】

特に、前記抗体は、グループメンバーiv)の抗体(上記参照)であるか、又はその機能的に活性な変異体であり、ここで、

a) V H C D R 1における7位で、アミノ酸残基がS、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及びYから選択され、好ましくはE、F、H、I、K、L、M、R、V、W又はYのいずれかであり、より好ましくはE、F、M、W又はYのいずれかである；及び/又は

b) V H C D R 2における1位で、アミノ酸残基がN、A、D、E、F、H、L、S、T、V及びYから選択され、好ましくはF、H又はYのいずれかである；及び/又は

c) V H C D R 2における3位で、アミノ酸残基がY、H、T及びWから選択される；及び/又は

d) V H C D R 2における5位で、アミノ酸残基がS、A、E、F、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W及びYから選択され、好ましくはN、R又はWのいずれかであり、より好ましくはN又はWである；及び/又は

e) V H C D R 2における7位で、アミノ酸残基がS、D、F、H、K、L、M、N、R及びWから選択される；及び/又は

f) V H C D R 2における9位で、アミノ酸残基がY、D、E、F、N、S及びWから選択され、好ましくはD又はHであり、より好ましくはHである；及び/又は

g) V H C D R 3における4位で、アミノ酸残基がR、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、S、T、V及びWから選択され、好ましくはD又はHである；及び/又は

h) V H C D R 3における5位で、アミノ酸残基がG、A、F及びYから選択される；及び/又は

i) V H C D R 3における6位で、アミノ酸残基がM、E、F、H及びQから選択され、好ましくはF又はHである；及び/又は

j) V H C D R 3における7位で、アミノ酸残基がH、A、D、E、F、G、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、W及びYから選択され、好ましくはE、K、Q、R、W又はYのいずれかであり、より好ましくはW又はYである。

【0013】

特に、前記機能的に活性なC D R変異体は、少なくとも以下の1つを含む；

a) 親C D R配列中の1, 2又は3つの点変異；又は

b) 親C D R配列の4つのC末端あるいは4つのN末端、又は4つの中心アミノ酸位のいずれかにおける1又は2つの点変異。

【0014】

特に、前記機能的に活性な変異抗体は、本発明の機能的に活性なC D R変異体を少なくとも1つ含む。

【0015】

特に、前記機能的に活性な変異体は、親抗体、例えば図1(表1)又は図2に挙げられた任意の抗体と、アミノ酸配列において(好ましくはC D Rにおいて、例えば、親C D Rに由来するC D R変異体を得るために)少なくとも1つの点変異にて異なり、ここで、前記C D Rアミノ酸配列のそれぞれにおける点変異の数は、0, 1, 2又は3のいずれかである。

【0016】

特に、前記抗体は、各C D R配列、又はC D R変異株(機能的に活性なC D R変異体を含む、例えば、あるC D Rループ内に、例えば、5~18アミノ酸からなるC D R長内に、例えば5~15アミノ酸又は5~10アミノ酸からなるC D R領域内に1, 2又は3つの点変異を有する)を利用する抗体に由来する。また、機能的に活性なC D R変異体を含む抗体を提供するために、あるC D Rループ内、例えばアミノ酸5未満からなるC D R長内に、1~2の点変異があってもよい。特定のC D R配列は短くてもよい(例えば、C D R 2又はC D R 5配列)。特定の実施形態によれば、前記機能的に活性なC D R変異体は

、4又は5未満のアミノ酸からなる任意のCDR配列中に1又は2つの点変異を含む。

【0017】

特定の側面によれば、本発明の抗体は、CDR及びフレームワーク配列を含み、ここで、前記CDR及びフレームワーク配列の少なくとも1つは、ヒトの、ヒト化の、キメラの、マウスの又は親和性成熟配列を含み、ここで、好ましくは前記フレームワーク配列は、IgG抗体のもの、例えばIgG1、IgG2、IgG3、又はIgG4サブタイプのもの、又はIgA1、IgA2、IgD、IgE、又はIgM抗体のものである。

【0018】

特定の抗体は、例えば、親抗体の製造可能性又は耐容性を改良するために、例えば、低免疫原性を有する改良された(変異型)抗体、例えば、親抗体と比較してCDR配列及び/又はフレームワーク配列のいずれかに変異を有するヒト化抗体、を提供するために、フレームワーク変異抗体として提供される。

10

【0019】

さらに特定の抗体は、例えば、抗体の親和性を改良するため及び/又は親抗体によって標的にされるエピトープ付近の同じ1つのエピトープ又は複数のエピトープを標的化するために(エピトープ・シフト)、CDR変異抗体として提供される。

【0020】

従って、図1又は図2に挙げられた抗体はいずれも、改良型を設計するために、親抗体として使用されてもよい。

【0021】

特に、前記機能的に活性な変異抗体は、親抗体と同じエピトープに結合する特異性を有する。

20

【0022】

特定の側面によれば、前記少なくとも1つの点変異は、一以上のアミノ酸の、アミノ酸置換、欠失及び/又は挿入のいずれかである。

【0023】

特に、前記機能的に活性な変異抗体は、親抗体と同じエピトープに結合する特異性を有する。

【0024】

特定の側面によれば、前記少なくとも1つの点変異は、一以上のアミノ酸の、アミノ酸置換、欠失及び/又は挿入のいずれかである。

30

【0025】

特に、前記抗体は、以下からなる群より選択される；

a) 以下を含む抗体

- a. 配列番号38のCDR1配列；及び
- b. 配列番号39のCDR2配列；及び
- c. 配列番号30のCDR3配列；

b) 以下を含む抗体

- a. 配列番号47のCDR1配列；及び
- b. 配列番号49のCDR2配列；及び
- c. 配列番号51のCDR3配列；

40

c) 以下を含む抗体

- a. 配列番号83のCDR1配列；及び
- b. 配列番号84のCDR2配列；及び
- c. 配列番号73のCDR3配列；

d) 以下を含む抗体

- a. 配列番号104のCDR1配列；及び
- b. 配列番号105のCDR2配列；及び
- c. 配列番号106のCDR3配列；

e) 以下を含む抗体

50

- a . 配列番号 1 1 4 の C D R 1 配列 ; 及び
- b . 配列番号 1 1 5 の C D R 2 配列 ; 及び
- c . 配列番号 1 0 6 の C D R 3 配列 ;

【 0 0 2 6 】

特に、前記抗体は、以下を含む

- a) 図 2 に示される任意の V H 配列から選択される V H アミノ酸配列 ;
- b) 配列番号 1 4 7、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 1、配列番号 1 5 3、配列番号 1 5 5、配列番号 1 5 7、配列番号 1 5 9、配列番号 1 6 1、配列番号 1 6 3、配列番号 1 6 5、配列番号 1 6 7、配列番号 1 6 9、及び配列番号 1 7 1 からなる群より選択される抗体重鎖 (H C) アミノ酸配列 ;
- c) 配列番号 1 4 7、配列番号 1 4 9、配列番号 1 5 1、配列番号 1 5 3、配列番号 1 5 5、配列番号 1 5 7、配列番号 1 5 9、配列番号 1 6 1、配列番号 1 6 3、配列番号 1 6 5、配列番号 1 6 7、配列番号 1 6 9、及び配列番号 1 7 1 からなる群より選択される抗体重鎖 (H C) アミノ酸配列、これはさらに、前記 V H 配列の第一アミノ酸が Q であれば、C 末端アミノ酸の欠失及び / 又は Q 1 E 点変異を含む。

10

【 0 0 2 7 】

前記特異抗体は、それぞれのシグナル配列を有する又は有さない、あるいは代替りのシグナル又はリーダー配列を有する H C アミノ酸配列を含むと理解される。

【 0 0 2 8 】

特定の側面によれば、前記 H C 配列のそれぞれは、定常領域において末端が延長されていても、欠失されていてもよい (例えば、C 末端アミノ酸の一以上の欠失) 。

20

【 0 0 2 9 】

特に、C 末端リジン残基を含む前記 H C 配列のそれぞれが、好ましくはそのような C 末端リジン残基の欠失とともに利用される。

【 0 0 3 0 】

特定の実施形態によれば、前記抗体はさらに、抗体軽鎖可変領域 (V L) の少なくとも 3 つの相補性決定領域 (C D R 4 ~ C D R 6) を含む。

【 0 0 3 1 】

特に、本発明の抗体はさらに、表 1 に挙げられた C D R 4 ~ C D R 6 配列のいずれか、又はその機能的に活性な C D R 変異体を含む抗体軽鎖可変領域 (V L) を含む。

30

【 0 0 3 2 】

特に、前記抗体は、表 1 に示されている、少なくとも C D R 4 配列、又は少なくとも C D R 4 及び C D R 5 配列、又は少なくとも C D R 4、C D R 5 及び C D R 6 配列を有する。

【 0 0 3 3 】

特定の側面によれば、本発明の抗体は、表 1 に挙げられた C D R の組み合わせを含む。特定の側面によれば、本発明の抗体は、特に、当該抗体がなお機能的に活性であるという条件で、表 1 に挙げられた C D R の組み合わせを含む。

【 0 0 3 4 】

特に、本発明の抗体は、表 1 に挙げられた抗体のいずれかの C D R 1 ~ 6 を含む。しかしながら、別の実施形態では、前記抗体は、異なる C D R の組み合わせを含んでもよい。例えば、この際、表 1 に挙げられた抗体は、ある抗体の 1、2、3、4、5、又は 6 C D R 配列のような少なくとも 1 つの C D R 配列、及び表 1 に挙げられた任意の抗体と異なる抗体のさらなる C D R 配列を少なくとも 1 つ含む。特定の例によれば、前記抗体は、1、2、3、4、5、又は 6 C D R 配列を含み、この際、当該 C D R 配列は、2 以上の抗体、例えば 2、3、4、5、又は 6 の異なる抗体の C D R の組み合わせである。例えば、前記 C D R 配列は、好ましくは、表 1 に挙げられた抗体のいずれかの C D R 1 ~ 3 の 1、2 又は 3 全て、及び、表 1 に挙げられた同じ又は任意の他の抗体の C D R 4 ~ 6 の 1、2 又は 3 全てを含むために、組み合わせられてもよい。

40

【 0 0 3 5 】

50

ここで具体的には、CDR 1, 2 及び 3 と番号を付された CDR は、VH ドメインの結合領域を表し、CDR 4、5 及び 6 は VL ドメインの結合領域を表すと理解される。

【0036】

例えば、前記 CDR 配列は、好ましくは、表 1 に挙げられた抗体のいずれか（例えば、# AB-29、# AB-30、# AB-31、# AB-32、# AB-33、# AB-34、# AB-35、又は # AB-36 と名付けられた任意の抗体、又は、# AB-30-3、# AB-31、# AB-32-6、# AB-34、# AB-34-6、# AB-30-8、# AB-32-9、# AB-34-14、又は # AB-34-15 と名付けられた任意の抗体）の少なくとも CDR 1 ~ 3、及び / 又は、表 1 に挙げられた抗体のいずれか（例えば、# AB-29、# AB-30、# AB-31、# AB-32、# AB-33、# AB-34、# AB-35、又は # AB-36 と名付けられた任意の抗体、又は # AB-30-3、# AB-31、# AB-32-6、# AB-34、# AB-34-6、# AB-30-8、# AB-32-9、# AB-34-14、又は # AB-34-15 と名付けられた任意の抗体）の少なくとも CDR 4 ~ 6 を含むために、組み合わせられてもよい。特定の実施形態によれば、本発明の抗体は、表 1 に挙げられた抗体のいずれか（例えば、# AB-29、# AB-30、# AB-31、# AB-32、# AB-33、# AB-34、# AB-35、又は # AB-36 と名付けられた任意の抗体、又は、# AB-30-3、# AB-31、# AB-32-6、# AB-34、# AB-34-6、# AB-30-8、# AB-32-9、# AB-34-14、又は # AB-34-15 と名付けられた任意の抗体）の CDR 1 ~ 6 を含む。しかしながら、さらなる特定の面によれば、前記抗体は、異なる CDR の組み合わせを含んでもよく、例えば、ここで、表 1 に挙げられた抗体（例えば、# AB-29、# AB-30、# AB-31、# AB-32、# AB-33、# AB-34、# AB-35、又は # AB-36 と名付けられた任意の抗体、又は、# AB-30-3、# AB-31、# AB-32-6、# AB-34、# AB-34-6、# AB-30-8、# AB-32-9、# AB-34-14、又は # AB-34-15 と名付けられた任意の抗体）は、異なる抗体の、1、2、3、4、5、又は 6 CDR 配列のような、少なくとも 1 つの CDR 配列（例えば、表 1 に挙げられた抗体のいずれかと異なる任意の抗体 [例えば、# AB-29、# AB-30、# AB-31、# AB-32、# AB-33、# AB-34、# AB-35、又は # AB-36 と名付けられた抗体のいずれかと異なる任意の抗体、又は、# AB-30-3、# AB-31、# AB-32-6、# AB-34、# AB-34-6、# AB-30-8、# AB-32-9、# AB-34-14、又は # AB-34-15 と名付けられた抗体のいずれかと異なる任意の抗体] の CDR 配列）を含む。例えば、前記抗体は、1、2、3、4、5、又は 6 CDR 配列を含み、ここで、当該 CDR 配列は、2 以上の抗体、例えば、2、3、4、5、又は 6 つの異なる抗体の CDR の組み合わせである。

【0037】

特定の側面では、本発明の抗体は、図 1 又は図 2 に示される任意の HC 及び LC アミノ酸配列の組み合わせ、又は HC 及び LC アミノ酸配列のそのような組み合わせによって形成される結合部位を含む。また、当該抗体がなお機能的に活性であることを条件として、2 つの異なる抗体の免疫グロブリン鎖の組み合わせが使用されてもよい。例えば、ある抗体の HC 配列は、別の抗体の LC 配列と組み合わせられてもよい。さらなる特定の実施形態によれば、図 1 又は図 2 に提供されたフレームワーク領域のいずれかが、ここに記載された CDR 配列及び / 又は VH / VL 組み合わせのいずれかへのフレームワークとして使用されてもよい。

【0038】

図 1 は、各グループにおける CDR のいずれかに類似性を有する異なる HC 配列及び / 又は LC 配列を特徴とする 8 グループの抗体を示し、そして、任意の HC / LC の組み合わせ、特に、同じグループの HC と LC の組み合わせをサポートする。特定の面によれば、ある HC の CDR 1 ~ 3 の 1 つ、例えば CDR 1 は、第二及び任意で第三の HC の任意の他の CDR 配列、例えば第二及び第三 HC の CDR 2 及び CDR 3 それぞれ、と組み合わせられる。特に、この際、CDR 1 ~ 3 配列の組み合わせは、同じグループのものである

。特定の側面によれば、あるLCのCDR4～6の1つ、例えばCDR4は、第二及び任意で第三のLCの任意の他のCDR配列、例えば第二及び第三LCのCDR5及びCDR6それぞれ、と組み合わせられる。特に、この際、CDR4～6配列の組み合わせは、同じグループのものである。

【0039】

特に、前記抗体は、以下のグループメンバーi)～viii)からなる群より選択される；

i)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号9又は配列番号19のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなるCDR4；及び

b) 配列番号11、配列番号16又は配列番号21のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなるCDR5；及び

c) 配列番号13、配列番号17、配列番号23又は配列番号24のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなるCDR6

又は

B) 抗体Aの機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号9又は配列番号19のアミノ酸配列からなる親CDR4；及び/又は

b) 配列番号11、配列番号16又は配列番号21のアミノ酸配列のいずれかからなる親CDR5；及び/又は

c) 配列番号13、配列番号17、配列番号23又は配列番号24のアミノ酸配列のいずれかからなる親CDR6

の機能的に活性なCDR変異体を少なくとも1つ含む抗体；

ii)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号32のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなるCDR4；及び

b) 配列番号33又は配列番号41のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなるCDR5；及び

c) 配列番号35、配列番号42、配列番号43又は配列番号45のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなるCDR6

又は

B) 抗体Aの機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号32のアミノ酸配列からなる親CDR4；及び/又は

b) 配列番号33又は配列番号41のアミノ酸配列からなる親CDR5；及び/又は

c) 配列番号35、配列番号42、配列番号43及び/又は配列番号45のアミノ酸配列のいずれかからなる親CDR6

の機能的に活性なCDR変異体を少なくとも1つ含む抗体；

iii)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号53、配列番号67又は配列番号19のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなるCDR4；及び

b) 配列番号21のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなるCDR5；及び

c) 配列番号54、配列番号68、配列番号69又は配列番号70のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなるCDR6

又は

B) 抗体Aの機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号53、配列番号67又は配列番号19のアミノ酸配列のいずれかからなる親CDR4；及び/又は

b) 配列番号21のアミノ酸配列からなる親CDR5；及び/又は

c) 配列番号54、配列番号68、配列番号69又は配列番号70のアミノ酸配列のいずれかからなる親CDR6

10

20

30

40

50

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

iv)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 7 5 又は配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 4 ; 及び

b) 配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 5 ; 及び

c) 配列番号 7 6 又は配列番号 8 6 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 6

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 7 5 又は配列番号 3 2 のアミノ酸配列からなる親 C D R 4 ; 及び / 又は

b) 配列番号 4 1 のアミノ酸配列からなる親 C D R 5 ; 及び / 又は

c) 配列番号 7 6 又は配列番号 8 6 のアミノ酸配列からなる親 C D R 6

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

v)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 9 2 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 4 ; 及び

b) 配列番号 9 4 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 5 ; 及び

c) 配列番号 9 6 又は配列番号 1 0 3 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 6

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 9 2 のアミノ酸配列からなる親 C D R 4 ; 及び / 又は

b) 配列番号 9 4 のアミノ酸配列からなる親 C D R 5 ; 及び / 又は

c) 配列番号 9 6 又は配列番号 1 0 3 のアミノ酸配列からなる親 C D R 6

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

vi)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 9 2 又は配列番号 1 1 6 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 4 ; 及び

b) 配列番号 9 4 又は配列番号 1 1 7 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 5 ; 及び

c) 配列番号 1 0 8、配列番号 1 1 8 又は配列番号 1 2 3 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 6

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 9 2 又は配列番号 1 1 6 のアミノ酸配列からなる親 C D R 4 ; 及び / 又は

b) 配列番号 9 4 又は配列番号 1 1 7 のアミノ酸配列からなる親 C D R 5 ; 及び / 又は

c) 配列番号 1 0 8、配列番号 1 1 8 又は配列番号 1 2 3 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 C D R 6

の機能的に活性な C D R 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

vii)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 4 ; 及び

b) 配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる C D R 5 ; 及び

c) 配列番号 1 2 9、配列番号 1 3 0、配列番号 1 3 1 又は配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる C D R 6

又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 3 2 のアミノ酸配列からなる親 C D R 4 ; 及び / 又は

10

20

30

40

50

b) 配列番号 41 のアミノ酸配列からなる親 CDR 5 ; 及び / 又は
 c) 配列番号 129、配列番号 130、配列番号 131 又は配列番号 132 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 6
 の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;
 viii)

A) 以下を含む抗体

a) 配列番号 92 又は配列番号 116 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 4 ; 及び

b) 配列番号 94 のアミノ酸配列を含むか、又はそれからなる CDR 5 ; 及び

c) 配列番号 140、配列番号 96、配列番号 142 又は配列番号 143 のアミノ酸配列のいずれかを含むか、又はそれからなる CDR 6
 又は

B) 抗体 A の機能的に活性な変異体である抗体であって、

a) 配列番号 92 又は配列番号 116 のアミノ酸配列からなる親 CDR 4 ; 及び / 又は

b) 配列番号 94 のアミノ酸配列からなる親 CDR 5 ; 及び / 又は

c) 配列番号 140、配列番号 96、配列番号 142 又は配列番号 143 のアミノ酸配列のいずれかからなる親 CDR 6
 の機能的に活性な CDR 変異体を少なくとも 1 つ含む抗体 ;

ここで、前記機能的に活性な CDR 変異体のいずれか (特に、上記グループメンバー i) ~ viii) の 1 つに規定されたもの) は、前記親 CDR 配列内に少なくとも 1 つの点変異を含み、且つ、親 CDR 配列と少なくとも 60% の配列同一性、好ましくは少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、又は それからなる。

【0040】

特に、前記抗体は、グループメンバー iv) の抗体 (上記参照) であるか、又はその機能的に活性な変異体であり、ここで、

a) VL CDR 4 における 7 位で、アミノ酸残基が N、A、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、S、W 及び Y からなる群より選択され、好ましくは F、L、W、又は Y のいずれかであり、より好ましくは L 又は W である ; 及び / 又は

b) VL CDR 4 における 8 位で、アミノ酸残基が S、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及び Y から選択され、好ましくは I 又は W である ; 及び / 又は

c) VL CDR 4 における 9 位で、アミノ酸残基が Y、F、R 及び W から選択され、好ましくは R 又は W である ; 及び / 又は

d) VL CDR 5 における 1 位で、アミノ酸残基が A、G、S、W 及び Y から選択され、好ましくは G である ; 及び / 又は

e) VL CDR 6 における 4 位で、アミノ酸残基が F、H、M、W 及び Y から選択される ; 及び / 又は

f) VL CDR 6 における 5 位で、アミノ酸残基が D、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、及び Y から選択される ; 及び / 又は

g) VL CDR 6 における 8 位で、アミノ酸残基が F、H、R 及び W から選択される

【0041】

特に、前記抗体は、図 2 に示される任意の VL 配列から選択される VL アミノ酸配列、または、配列番号 148、配列番号 150、配列番号 152、配列番号 154、配列番号 156、配列番号 158、配列番号 160、配列番号 162、配列番号 164、配列番号 166、配列番号 168、配列番号 170、及び配列番号 172 からなる群より選択される抗体軽鎖 (LC) アミノ酸配列、又は前述したいずれかの機能的に活性な CDR 変異体を含み、LuKGH 複合体と、 10^{-8} M 未満、好ましくは 10^{-9} M 未満、好ましくは 10^{-10} M 未満、好ましくは 10^{-11} M 未満の Kd で結合する親和性 (例えば、ピコモル範囲の親和性) を有する。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 2 】

特に、前記抗体又はその機能的に活性な変異体は、図 2、グループ 4 に示される任意の V L 配列から選択される V L アミノ酸配列、又は、配列番号 1 5 8、配列番号 1 6 0、配列番号 1 6 2 からなる群より選択される抗体軽鎖(L C)アミノ酸配列を含み、ここで

a) V L C D R 4 における 7 位で、アミノ酸残基が N、A、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、S、W 及び Y からなる群より選択され、好ましくは F、L、W、又は Y のいずれかであり、より好ましくは L 又は W である；及び / 又は

b) V L C D R 4 における 8 位で、アミノ酸残基が S、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及び Y から選択され、好ましくは I 又は W である；及び / 又は

c) V L C D R 4 における 9 位で、アミノ酸残基が Y、F、R 及び W から選択され、好ましくは R 又は W である；及び / 又は

d) V L C D R 5 における 1 位で、アミノ酸残基が A、G、S、W 及び Y から選択され、好ましくは G である；及び / 又は

e) V L C D R 6 における 4 位で、アミノ酸残基が F、H、M、W 及び Y から選択される；及び / 又は

f) V L C D R 6 における 5 位で、アミノ酸残基が D、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、及び Y から選択される；及び / 又は

g) V L C D R 6 における 8 位で、アミノ酸残基が F、H、R 及び W から選択される

【 0 0 4 3 】

特に、前記抗体は、以下から成る群より選択される

a) 以下を含む抗体

a . 配列番号 3 8 の C D R 1 配列；及び

b . 配列番号 3 9 の C D R 2 配列；及び

c . 配列番号 3 0 の C D R 3 配列；及び

d . 配列番号 3 2 の C D R 4 配列；及び

e . 配列番号 3 3 の C D R 5 配列；及び

f . 配列番号 3 5 の C D R 6 配列

b) 以下を含む抗体

a . 配列番号 4 7 の C D R 1 配列；及び

b . 配列番号 4 9 の C D R 2 配列；及び

c . 配列番号 5 1 の C D R 3 配列；及び

d . 配列番号 5 3 の C D R 4 配列；及び

e . 配列番号 2 1 の C D R 5 配列；及び

f . 配列番号 5 4 の C D R 6 配列

c) 以下を含む抗体

a . 配列番号 8 3 の C D R 1 配列；及び

b . 配列番号 8 4 の C D R 2 配列；及び

c . 配列番号 7 3 の C D R 3 配列；及び

d . 配列番号 7 5 の C D R 4 配列；及び

e . 配列番号 4 1 の C D R 5 配列；及び

f . 配列番号 7 6 の C D R 6 配列

d) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 0 4 の C D R 1 配列；及び

b . 配列番号 1 0 5 の C D R 2 配列；及び

c . 配列番号 1 0 6 の C D R 3 配列；及び

d . 配列番号 9 2 の C D R 4 配列；及び

e . 配列番号 9 4 の C D R 5 配列；及び

f . 配列番号 1 0 8 の C D R 6 配列

e) 以下を含む抗体

10

20

30

40

50

- a . 配列番号 1 1 4 の C D R 1 配列 ; 及び
- b . 配列番号 1 1 5 の C D R 2 配列 ; 及び
- c . 配列番号 1 0 6 の C D R 3 配列 ; 及び
- d . 配列番号 1 1 6 の C D R 4 配列 ; 及び
- e . 配列番号 1 1 7 の C D R 5 配列 ; 及び
- f . 配列番号 1 1 8 の C D R 6 配列

又は、前述したいずれかの機能的に活性な C D R 変異体（特に、上記グループメンバー a) ~ e) の 1 つに規定された抗体）であって、L u k G H 複合体と、 10^{-8} M 未満、好ましくは 10^{-9} M 未満、好ましくは 10^{-10} M 未満、好ましくは 10^{-11} M 未満の K d で結合する親和性（例えば、ピコモル範囲の親和性）を有する。

10

【 0 0 4 4 】

特に、前記抗体は、グループメンバー c) の抗体（上記参照、配列番号 8 3 の C D R 1 配列 ; 配列番号 8 4 の C D R 2 配列 ; 配列番号 7 3 の C D R 3 配列 ; 配列番号 7 5 の C D R 4 配列 ; 配列番号 4 1 の C D R 5 配列 ; 配列番号 7 6 の C D R 6 配列を特徴とする）又はその機能的に活性な変異体であり、ここで :

a) V H C D R 1 における 7 位で、アミノ酸残基が S、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及び Y から選択され、好ましくは E、F、H、I、K、L、M、R、V、W 又は Y のいずれかであり、より好ましくは E、F、M、W 又は Y のいずれかである ; 及び / 又は

b) V H C D R 2 における 1 位で、アミノ酸残基が N、A、D、E、F、H、L、S、T、V 及び Y から選択され、好ましくは F、H 又は Y のいずれかである ; 及び / 又は

20

c) V H C D R 2 における 3 位で、アミノ酸残基が Y、H、T 及び W から選択される ; 及び / 又は

d) V H C D R 2 における 5 位で、アミノ酸残基が S、A、E、F、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W 及び Y から選択され、好ましくは N、R 又は W のいずれかであり、より好ましくは N 又は W である ; 及び / 又は

e) V H C D R 2 における 7 位で、アミノ酸残基が S、D、F、H、K、L、M、N、R 及び W から選択される ; 及び / 又は

f) V H C D R 2 における 9 位で、アミノ酸残基が Y、D、E、F、N、S 及び W から選択され、好ましくは D 又は H であり、より好ましくは H である ; 及び / 又は

30

g) V H C D R 3 における 4 位で、アミノ酸残基が R、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、S、T、V 及び W から選択され、好ましくは D 又は H である ; 及び / 又は

h) V H C D R 3 における 5 位で、アミノ酸残基が G、A、F 及び Y から選択される ; 及び / 又は

i) V H C D R 3 における 6 位で、アミノ酸残基が M、E、F、H 及び Q から選択され、好ましくは F 又は H である ; 及び / 又は

j) V H C D R 3 における 7 位で、アミノ酸残基が H、A、D、E、F、G、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、W 及び Y から選択され、好ましくは E、K、Q、R、W 又は Y のいずれかであり、より好ましくは W 又は Y である ; 及び / 又は

40

k) V L C D R 4 における 7 位で、アミノ酸残基が N、A、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、S、W 及び Y からなる群より選択され、好ましくは F、L、W、又は Y のいずれかであり、より好ましくは L 又は W である ; 及び / 又は

l) V L C D R 4 における 8 位で、アミノ酸残基が S、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及び Y から選択され、好ましくは I 又は W である ; 及び / 又は

m) V L C D R 4 における 9 位で、アミノ酸残基が Y、F、R 及び W から選択され、好ましくは R 又は W である ; 及び / 又は

n) V L C D R 5 における 1 位で、アミノ酸残基が A、G、S、W 及び Y から選択され、好ましくは G である ; 及び / 又は

50

o) V L C D R 6 における 4 位で、アミノ酸残基が F、H、M、W 及び Y から選択される；及び / 又は

p) V L C D R 6 における 5 位で、アミノ酸残基が D、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、及び Y から選択される；及び / 又は

q) V L C D R 6 における 8 位で、アミノ酸残基が F、H、R 及び W から選択される
【 0 0 4 5 】

特に、前記抗体は、免疫グロブリンの定常領域または定常ドメインからなる免疫グロブリン・フレームワーク等のフレームワークを含み、これは、表 1 に挙げられた V H 及び / 又は V L の任意のフレームワーク領域を含み、任意で、前記 V H フレームワーク領域 (V H F R 1) の第一アミノ酸が Q の場合は、Q 1 E 点変異を含む。

10

【 0 0 4 6 】

特に、前記抗体は、図 2 に示される H C アミノ酸配列を含む。

【 0 0 4 7 】

特に、前記抗体は、以下からなる群より選択される：

a) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 4 7 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 4 8 の L C アミノ酸配列

b) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 4 9 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 5 0 の L C アミノ酸配列

20

c) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 5 1 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 5 2 の L C アミノ酸配列

d) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 5 3 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 5 4 の L C アミノ酸配列

e) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 5 5 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 5 6 の L C アミノ酸配列

f) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 5 7 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 5 8 の L C アミノ酸配列

30

g) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 5 9 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 6 0 の L C アミノ酸配列

h) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 6 1 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 6 2 の L C アミノ酸配列

i) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 6 3 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 6 4 の L C アミノ酸配列

40

j) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 6 5 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 6 6 の L C アミノ酸配列

k) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 6 7 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 6 8 の L C アミノ酸配列

l) 以下を含む抗体

a . 配列番号 1 6 9 の H C アミノ酸配列；及び

b . 配列番号 1 7 0 の L C アミノ酸配列

50

m) 以下を含む抗体

a. 配列番号171のHCアミノ酸配列; 及び

b. 配列番号172のLCアミノ酸配列

又は、前述したいずれかの(特に、上記グループメンバーa)~m)の1つに規定された抗体の)機能的に活性なCDR変異体であって、LuKGH複合体と、 10^{-8} M未満、好ましくは 10^{-9} M未満、好ましくは 10^{-10} M未満、好ましくは 10^{-11} M未満のKdで結合する親和性(例えば、ピコモル範囲の親和性)を有する。

【0048】

特に、前記抗体は、グループメンバーf)(上記参照、配列番号157のHCアミノ酸配列; 及び配列番号158のLCアミノ酸配列を特徴とする)、g)(配列番号159のHCアミノ酸配列; 及び配列番号160のLCアミノ酸配列を特徴とする)、及びh)(配列番号161のHCアミノ酸配列; 及び配列番号162のLCアミノ酸配列を特徴とする)のいずれかの抗体、又は前述したいずれかの機能的に活性な変異体であり、ここで、

a) VH CDR1における7位で、アミノ酸残基がS、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及びYから選択され、好ましくはE、F、H、I、K、L、M、R、V、W又はYのいずれかであり、より好ましくはE、F、M、W又はYのいずれかである; 及び/又は

b) VH CDR2における1位で、アミノ酸残基がN、A、D、E、F、H、L、S、T、V及びYから選択され、好ましくはF、H又はYのいずれかである; 及び/又は

c) VH CDR2における3位で、アミノ酸残基がY、H、T及びWから選択される; 及び/又は

d) VH CDR2における5位で、アミノ酸残基がS、A、E、F、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W及びYから選択され、好ましくはN、R又はWのいずれかであり、より好ましくはN又はWである; 及び/又は

e) VH CDR2における7位で、アミノ酸残基がS、D、F、H、K、L、M、N、R及びWから選択される; 及び/又は

f) VH CDR2における9位で、アミノ酸残基がY、D、E、F、N、S及びWから選択され、好ましくはD又はHであり、より好ましくはHである; 及び/又は

g) VH CDR3における4位で、アミノ酸残基がR、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、S、T、V及びWから選択され、好ましくはD又はHである; 及び/又は

h) VH CDR3における5位で、アミノ酸残基がG、A、F及びYから選択される; 及び/又は

i) VH CDR3における6位で、アミノ酸残基がM、E、F、H及びQから選択され、好ましくはF又はHである; 及び/又は

j) VH CDR3における7位で、アミノ酸残基がH、A、D、E、F、G、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、W及びYから選択され、好ましくはE、K、Q、R、W又はYのいずれかであり、より好ましくはW又はYである; 及び/又は

k) VL CDR4における7位で、アミノ酸残基がN、A、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、S、W及びYからなる群より選択され、好ましくはF、L、W、又はYのいずれかであり、より好ましくはL又はWである; 及び/又は

l) VL CDR4における8位で、アミノ酸残基がS、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及びYから選択され、好ましくはI又はWである; 及び/又は

m) VL CDR4における9位で、アミノ酸残基がY、F、R及びWから選択され、好ましくはR又はWである; 及び/又は

n) VL CDR5における1位で、アミノ酸残基がA、G、S、W及びYから選択され、好ましくはGである; 及び/又は

o) VL CDR6における4位で、アミノ酸残基がF、H、M、W及びYから選択される; 及び/又は

10

20

30

40

50

p) V L C D R 6における5位で、アミノ酸残基がD、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、及びYから選択される；及び/又は

q) V L C D R 6における8位で、アミノ酸残基がF、H、R及びWから選択される
【0049】

特定の側面では、本発明の抗体は、図2に示されるH C及びL Cアミノ酸配列の任意の組み合わせ、又はそのようなH C及びL Cアミノ酸配列の組み合わせによって形成された結合部位を含む。

【0050】

特に、前記抗体は、L u k G H複合体と、 10^{-8} M未満、好ましくは 10^{-9} M未満、好ましくは 10^{-10} M未満、好ましくは 10^{-11} M未満のK dで結合する親和性（例えば、ピコモル範囲の親和性）を有する。

10

【0051】

特に、前記抗体は、好ましくは 10^{-7} Mより高い、好ましくは 10^{-6} Mより高いK dで、個別のL u k G及び/又はL u k H抗原と結合する親和性を有し、これは、L u k G H複合体と結合する親和性より低い。

【0052】

特に、個別のL u k G及び/又はL u k H抗原よりもL u k G H複合体に優先的に結合する前記K dの差は、少なくとも2 l o g、好ましくは少なくとも3 l o gである。

【0053】

本発明はさらに、親抗体（本発明の抗体のいずれかであって、図2に示されたH C及びL Cアミノ酸配列の組み合わせのいずれかを含む、又はH C及びL Cアミノ酸配列のそのような組み合わせによって形成された結合部位を含む抗体）の機能的に活性な抗体変異体を産生する方法を提供し、当該方法は、変異抗体を得るために、任意のフレームワーク領域（F R）又は定常ドメイン、又は相補性決定領域（C D R 1 ~ C D R 6）において少なくとも1つの点変異を設計すること、及び、L u k G H複合体に、 10^{-8} M未満、好ましくは 10^{-9} M未満、好ましくは 10^{-10} M未満、好ましくは 10^{-11} M未満のK dで、結合する親和性（例えばピコモル範囲の親和性）によって、前記変異抗体の機能的活性を測定することを含み、ここで、当該機能的活性の測定により、機能的に活性な変異体が、組換え産生方法による産生のために選択される。

20

【0054】

特に、前記L u k G H複合体は、溶液中での、個別のL u k G及びL u k H抗原の会合から生じる抗原構造を特徴とする。

30

【0055】

特に、前記L u k G H複合体は、単離された及び任意で精製された複合抗原として提供される。

【0056】

特に、前記L u k G H複合体は、ヘテロダイマー又はヘテロオリゴマーとしてL u k G及びL u k H成分を含む。

【0057】

特に、前記L u k G H複合体は、黄色ブドウ球菌株に由来する、組換えタンパク質及び/又はタンパク質から構成される。

40

【0058】

特に、前記L u k G及びL u k H成分は、組換え宿主細胞によって同時発現され、当初の供給源から精製され及び/又は同時リフォールディングされる。

【0059】

特に、前記抗原は、可溶性のタンパク質複合体として提供される。

【0060】

特定の側面によれば、前記抗体は、L u k G H複合体が、ホスホコリン又はホスファチジルコリンに、特に哺乳類細胞膜のホスファチジルコリンに結合するのを阻害する。

【0061】

50

特に、前記抗体はL u k G H複合体を中和する能力を有する。

【0062】

特に、本発明の抗体は、様々なL u k G H変異体間で、交差反応性である。

【0063】

特に、前記抗体は、L u k G H複合体及びL u k G H複合変異体を交差中和する。

【0064】

特に、前記抗体は、U S A 3 0 0クローンに由来する、好ましくはT C H 1 5 1 6株に由来するL u k G H複合体、及び少なくとも1つのL u k G H複合変異体に結合する。

【0065】

特に、前記L u k G H複合変異体は、U S A 3 0 0クローンに由来するL u k G H複合体と比較して、L u k G又はL u k H成分のいずれかのアミノ酸配列において少なくとも1つの点変異を有する(例えば、前記配列中の1以上のアミノ酸残基の変更)。M R S A 2 5 2及びM S H R 1 1 3 2株に由来する、大きく異なるL u k G H複合変異体でさえ、本発明の抗体によって、交差-特異的に結合され、及び交差中和されうる。

10

【0066】

特に、本発明の抗体は、U S A 3 0 0クローン(例えば、T C H _ 1 5 1 6株)に由来するL u k G H及び少なくとも1つのL u k G H変異体に結合する、少なくとも1つの結合部位を含む交差中和抗体である。特に、L u k G H毒素は、E M R S A 1 6 M R S A 2 5 2株又はM S H R 1 1 3 2株によって発現される遺伝子からなる群より選択される。

【0067】

特定の側面によれば、前記抗体は、m A b : 毒素比(m o l / m o l) 1 0 0 : 1未満、好ましくは5 0 : 1未満、好ましくは2 5 : 1未満、好ましくは1 0 : 1未満、より好ましくは1 : 1未満のI C 5 0で、細胞アッセイにおいてインビトロ中和能を示す。

20

【0068】

さらなる特定の側面によれば、前記抗体は、ヒト及び非ヒト動物の両方を含む動物において、標的L u k G H複合体を中和し、そしてインビボにおける黄色ブドウ球菌発病、好ましくは肺炎、菌血症、敗血症、膿瘍、皮膚感染症、腹膜炎、カテーテル及び補綴具が関与する感染及び骨髄炎の任意のモデルを阻害する。

【0069】

特に、前記抗体は、全長モノクローナル抗体、結合部位を含む少なくとも1つの抗体ドメインを含むその抗体フラグメント、又は、結合部位を含む少なくとも1つの抗体ドメインを含む融合タンパク質である。好ましくは前記抗体は、マウス、キメラ、ヒト化又はヒト抗体、重鎖抗体、F a b、F d、s c F v及び単一ドメイン抗体(V H、V H H又はV Lのような)からなる群より選択され、好ましくはヒトI g G 1抗体である。

30

【0070】

本発明は、さらに、本発明の抗体の軽鎖及び/又は重鎖を発現するコード配列を含む発現カセット又はプラスミドを提供する。

【0071】

本発明はさらに、本発明の発現カセット又はプラスミドを含む宿主細胞を提供する。

【0072】

特に好ましいのは、宿主細胞及びこうした宿主細胞を使用する産生方法であって、ここで宿主細胞は

40

抗体軽鎖を発現するコード配列を組み込んだ、本発明のプラスミド又は発現カセット；及び

抗体重鎖を発現するコード配列を組み込んだ、本発明のプラスミド又は発現カセットを含む。

【0073】

本発明は、さらに、本発明に係る抗体を産生する方法であって、本発明の宿主細胞を、前記抗体を産生する条件下で培養するか又は維持する方法を提供する。

【0074】

50

本発明はさらに、親抗体（本発明の抗体のいずれかであって、例えば図1又は図2に示された抗体、又は図1又は図2に示されたHC及びLCアミノ酸配列の組み合わせのいずれかを含む、又はHC及びLCアミノ酸配列のそのような組み合わせによって形成された結合部位を含む抗体）の機能的に活性な抗体変異体を産生する方法を提供し、当該方法は、変異抗体を得るために、任意のフレームワーク領域（FR）又は定常ドメイン、又は相補性決定領域（CDR1～CDR6）において少なくとも1つの点変異を設計すること、及び以下のいずれかによって、前記変異抗体の機能的活性を測定することを含む；

- LukGH複合体に、 10^{-8} M未満、好ましくは 10^{-9} M未満、好ましくは 10^{-10} M未満、好ましくは 10^{-11} M未満のKdで、結合する親和性（例えばピコモル範囲の親和性）、及び/又は

- 親抗体と競合する、LukGH複合体への前記変異抗体の結合、

ここで、当該機能的活性の測定により、機能的に活性な変異体が、組換え産生方法による産生のために選択される。

【0075】

機能的に活性な変異抗体は、VH又はVL配列のいずれかで異なってもよく、又は共通のVH及びVL配列を有してもよく、及び、それぞれのFRにおける改変を含んでもよい。突然変異誘発による前記親抗体由来の変異抗体は、当該分野において周知の方法で産生されてもよい。

【0076】

代表的な親抗体は、以下の実施例セクション及び図1及び図2に記載される。特に、前記抗体は、図1又は図2に挙げられた親抗体の機能的に活性な誘導體である。1以上改変されたCDR配列を有する、及び/又は1以上改変されたFR配列（FR1、FR2、FR3又はFR4配列等）、又は改変された定常ドメイン配列を有する変異体が、設計されてもよい。

【0077】

本発明は、さらに、本発明の抗体を産生する方法であって

(a) 本明細書で定義されるエピトープの三次元構造で、非ヒト動物を免疫し；

(b) 単離B細胞から不死化細胞株を形成し；

(c) 前記細胞株をスクリーニングして、黄色ブドウ球菌のLukGH複合体、及び任意で、少なくとも1つのLukGH複合変異体に結合するモノクローナル抗体を産生する細胞株を同定し；及び

(d) モノクローナル抗体、あるいは当該抗体のヒト化型又はヒト型、あるいは当該モノクローナル抗体と同じエピトープ結合特異性を持つその誘導體を産生する工程を含む、方法を提供する。

【0078】

さらなる側面によれば、本発明は、本発明の抗体を産生する方法であって

(a) 黄色ブドウ球菌のLukGH複合体で、非ヒト動物を免疫し、そして抗体を産生するB細胞を単離し；

(b) 単離B細胞から不死化細胞株を形成し；

(c) 前記細胞株をスクリーニングして、黄色ブドウ球菌のLukGH複合体、及び任意で、少なくとも1つのLukGH複合変異体に結合するモノクローナル抗体を産生する細胞株を同定し；及び

(d) モノクローナル抗体、あるいは当該抗体のヒト化型又はヒト型、あるいは当該モノクローナル抗体と同じエピトープ結合特異性を持つその誘導體を産生する工程を含む、方法を提供する。

【0079】

さらなる側面によれば、本発明の抗体は、医学的使用のために、特に、黄色ブドウ球菌感染のリスクがあるか又は当該感染を患っている被験体を治療するために提供され、当該治療は、被験体における感染を限定するのに有効な量の抗体を被験体に投与して、前記感染から生じる疾患状態を寛解させるか、又は黄色ブドウ球菌疾患の発病（肺

10

20

30

40

50

炎、敗血症、菌血症、創傷感染、膿瘍、手術部位感染、眼内炎、フルンケル症、カルブンケル症、心内膜炎、腹膜炎、骨髄炎又は関節感染等)を阻害することを含む。

【0080】

特に、前記抗体は、黄色ブドウ球菌感染に対する防御のために提供される。

【0081】

さらなる側面によれば、黄色ブドウ球菌感染又は当該感染から生じる疾患状態のリスクがあるか又はそれらを患っている被験体を治療するために、本発明の抗体が有効量で使用され、被験体における感染を限定し、前記感染から生じる疾患状態を寛解させるか、又は黄色ブドウ球菌疾患の発症(肺炎、敗血症、菌血症、創傷感染、膿瘍、手術部位感染、眼内炎、フルンケル症、カルブンケル症、心内膜炎、腹膜炎、骨髄炎又は関節感染等)を阻害して治療する方法が、さらに提供される。

10

【0082】

特に、病原性黄色ブドウ球菌に対する防御のための治療法が提供される。

【0083】

さらなる側面によれば、本発明の抗体を含む医薬品であって、好ましくは、非経口又は粘膜用製剤を含み、任意に薬学的に許容されるキャリアー又は賦形剤を含有する、医薬品がさらに提供される。

【0084】

そのような医薬組成物は、前記抗体を唯一の活性物質として含んでもよく、あるいは他の活性物質との組み合わせで、あるいは活性物質のカクテルとして含んでもよく(例えば少なくとも2つ又は3つの異なる抗体の組み合わせ又はカクテル)、例えば、ここで前記他の活性物質は、さらに黄色ブドウ球菌を標的にする(例えばOPK抗体又は少なくとも1種の他の毒素を標的とする抗体)。具体的には、前記抗体のカクテルは、本発明の抗体を1つ以上含み、その各々が毒素を標的とし、当該組み合わせは、カクテル中の単一抗体と比べて、より様々なエピトープ又は毒素を標的とする。

20

【0085】

さらなる側面によれば、高毒素産生MRSA感染を含む任意の黄色ブドウ球菌感染、例えば壊死性肺炎、ならびにフルンケル症及びカルブンケル症における毒素産生を検出する診断用途のための本発明の抗体が提供される。

【0086】

さらなる側面によれば、本発明の抗体の診断用製剤であって、任意で標識を含む抗体及び/又は標識を含むさらなる診断試薬を含有する、製剤がさらに提供される。

30

【0087】

具体的には、前記抗体は、本発明による診断用途のために提供され、当該抗体と被験体の体液試料を接触させることによって、当該被験体における黄色ブドウ球菌による全身感染が生体外で決定され、ここで抗体の特異的免疫反応が、感染を決定する。

【0088】

それゆえ、本発明はさらに、被験体において黄色ブドウ球菌感染を診断するそれぞれの方法に言及し、特に当該方法では、被験体における黄色ブドウ球菌による全身感染症が決定される。

40

【0089】

さらなる側面によれば、本発明の抗体をコードする単離核酸がさらに提供される。

【0090】

さらなる側面によれば、本発明の抗体の単離パラトープ、又は前記パラトープを含む結合分子が提供される。

【0091】

さらなる側面によれば、本発明の抗体によって認識される単離立体構造エピトープが提供される。そのようなエピトープは、単一のエピトープからなってもあるいはエピトープ変異体を含むエピトープの混合物からなってもよく、そのそれぞれが本発明の抗体によって認識される。

50

【0092】

前記エピトープは、以下によって明確に特徴付けられる

a) LukGの縁領域、及び接触アミノ酸残基Asn71、Tyr73、Trp74、Asn206、Leu207、Trp208、Lys210、Asp211、Trp262、及びPhe267の構造座標を含む、黄色ブドウ球菌のLukGH複合体の三次元構造；あるいは

b) a)の相同体である三次元構造、ここで当該相同体は、接触アミノ酸残基の骨格原子からの平均二乗偏差0.00Å~2.00Åを有する結合部位を含む。

【0093】

特に、前記エピトープは結合分子によって結合されるか又は認識される。

10

【0094】

さらなる側面によれば、本明細書に記載されたエピトープを特異的に認識する結合分子であって、好ましくはタンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、核酸、炭水化物、脂質、オリゴペプチド、アプタマー及び小分子化合物、好ましくは抗体、前記結合部位を含む少なくとも1つの抗体ドメインを含むその抗体フラグメント、又は前記結合部位を含む少なくとも1つの抗体ドメインを含む融合タンパク質、からなる群より選択される結合分子が提供される。特に、前記結合分子は、黄色ブドウ球菌のLukGH複合体を認識する特異的結合剤である。特に、前記結合剤は、LukGHが標的細胞に結合するのを妨げ、本発明の抗体と競合する。

【0095】

20

さらなる側面によれば、本明細書に記載のエピトープを特異的に認識する結合剤を同定するためのスクリーニング法又はアッセイであって、

- 候補化合物を本明細書に記載の三次元構造（特に、立体構造エピトープを特徴とする）と接触させる工程、及び、

- 前記候補化合物と前記三次元構造間の結合を評価する工程、ここで、前記候補化合物と前記三次元構造間の結合は、当該候補化合物が、黄色ブドウ球菌のLukGH複合体を認識する特異的結合剤であることを同定する

を含むスクリーニング法又はアッセイが提供される。例えば、前記候補化合物と前記三次元構造又は前記エピトープ間の、正の機能的結合反応は、前記化合物が防御的結合剤であることを特定する。

30

【0096】

さらなる側面によれば、

(a) 本明細書に記載のエピトープ；及び、

(b) キャリアー、好ましくは薬学的に許容されるキャリアー、好ましくはバッファー及び/又はアジュバント物質を含む

を含む、免疫原が提供される。

【0097】

特に、ワクチン製剤中で、好ましくは非経口使用のために、前記免疫原が提供される。

【0098】

40

特に、本明細書に記載の免疫原は、黄色ブドウ球菌感染から被験体を防御するか、前記感染から生じる疾患状態を阻止するか、又は黄色ブドウ球菌肺炎の発病を阻害するのに有効な量の前記免疫原を投与することによって、被験体を治療する際に使用するために、提供される。

【0099】

特に、前記免疫原は、防御免疫応答を誘発するために使用される。

【0100】

特定の側面によれば、黄色ブドウ球菌感染のリスクがある被験体を治療する治療法であって、被験体における感染を防止する、特に病原性黄色ブドウ球菌に対して防御するのに有効な量の免疫原を被験体に投与する工程を含む方法がさらに提供される。

【0101】

50

さらなる側面によれば、本発明は、本発明の抗体をコードするか、又は本発明のエピトープをコードする、単離核酸を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0102】

[図1]表1: Lu k G H特異的 m A b のアミノ酸配列

説明: 欄

A . . . 配列番号 V H F R 1

B . . . 配列番号 V H C D R 1

C . . . 配列番号 V H F R 2

D . . . 配列番号 V H C D R 2

10

E . . . 配列番号 V H F R 3

F . . . 配列番号 V H C D R 3

G . . . 配列番号 V H F R 4

H . . . 配列番号 V L F R 1

I . . . 配列番号 V L C D R 4

J . . . 配列番号 V L F R 2

K . . . 配列番号 V L C D R 5

L . . . 配列番号 V L F R 3

M . . . 配列番号 V L C D R 6

N . . . 配列番号 V L F R 4

20

図1で使用される命名法は、以下の意味を有するものとする:

V H C D R 1 = C D R 1

V H C D R 2 = C D R 2

V H C D R 3 = C D R 3

V L C D R 4 = C D R 4 = V L C D R 1

V L C D R 5 = C D R 5 = V L C D R 2

V L C D R 6 = C D R 6 = V L C D R 3

表1は、8つの部分に分割される(グループ1~8の抗体のために):表1.1-1.8.

表1.1 aは、グループ1の抗体のV H F RおよびC D R配列を示す;

表1.1 bは、グループ1の抗体のV L F RおよびC D R配列を示す;

30

表1.2 aは、グループ2の抗体のV H F RおよびC D R配列を示す;

表1.2 bは、グループ2の抗体のV L F RおよびC D R配列を示す;

表1.3 aは、グループ3の抗体のV H F RおよびC D R配列を示す;

表1.3 bは、グループ3の抗体のV L F RおよびC D R配列を示す;

表1.4 aは、グループ4の抗体のV H F RおよびC D R配列を示す;

表1.4 bは、グループ4の抗体のV L F RおよびC D R配列を示す;

表1.5 aは、グループ5の抗体のV H F RおよびC D R配列を示す;

表1.5 bは、グループ5の抗体のV L F RおよびC D R配列を示す;

表1.6 aは、グループ6の抗体のV H F RおよびC D R配列を示す;

表1.6 bは、グループ6の抗体のV L F RおよびC D R配列を示す;

40

表1.7 aは、グループ7の抗体のV H F RおよびC D R配列を示す;

表1.7 bは、グループ7の抗体のV L F RおよびC D R配列を示す;

表1.8 aは、グループ8の抗体のV H F RおよびC D R配列を示す;

表1.8 bは、グループ8の抗体のV L F RおよびC D R配列を示す;

表2: Lu k G HへのA B - 3 2 - 9 接触残基の変化による結合エネルギーの変化(G)

[図2]選択されたLu k G H特異的m A bの全長アミノ酸配列

[図3]黄色ブドウ球菌Lu k G及びLu k H毒素配列

U S A 3 0 0 T C H 1 5 1 6 株のLu k Hヌクレオチド配列(ジェンバンク、受入番号C P 0 0 0 7 3 0)、配列番号173;

50

USA300 TCH1516株のLukHアミノ酸配列、配列番号174；
 USA300 TCH1516株のLukGヌクレオチド配列、配列番号175；
 USA300 TCH1516株のLukGアミノ酸配列、配列番号176；
 MRSA252株のLukHヌクレオチド配列(ジェンバンク、受入番号 BX571856)、配列番号177；
 MRSA252株のLukHアミノ酸配列、配列番号178；
 MRSA252株のLukGヌクレオチド配列、配列番号179；
 MRSA252株のLukGアミノ酸配列、配列番号180；
 MSHR1132株のLukHヌクレオチド配列(ジェンバンク、受入番号 FR821777)、配列番号181；
 MSHR1132株のLukHアミノ酸配列、配列番号182；
 MSHR1132株のLukGヌクレオチド配列、配列番号183；
 MSHR1132株のLukGアミノ酸配列、配列番号184；
 H19株のLukHヌクレオチド配列(Patrick、ゲノムID 72956；ジェンバンク、受入番号 ACSS01000001~ACSS01000063)、配列番号185；
 H19株のLukHアミノ酸配列、配列番号186；
 H19株のLukGヌクレオチド配列、配列番号187；
 H19株のLukGアミノ酸配列、配列番号188；

10

[図4] 選択されたLukGH mAbの結合親和性

20

[図5] LukGH mAbのインビトロ中和能：mAbはアッセイ培地中で連続的に希釈され、ヒト好中球様分化型HL-60細胞(A、B)又はヒト好中球(C)の中毒化の前に、組換えLukGH_TCH1516(A)、LukGH_MRSA252(B)及びLukGH_MSHR1132(C)でプレインキュベートされた。4時間のインキュベーション後、細胞ATPレベルの発光測定によって、細胞生存率が測定された。以下の式：阻害% = [(通常活性 - 阻害された活性) / (通常活性)] × 100を用いて、毒素活性の阻害%が計算された。無関係の抗原に対して産生されたヒトIgG1コントロールmAbが、コントロールとして含まれた。

[図6] LukGH:AB-32-9複合体の構造；LukGHは灰色の球として表され、接触残基は黒色の球として、AB-32-9のFabフラグメントは、軽鎖が黒色カートンで重鎖が灰色カートンで表される。

30

【発明を実施するための形態】

【0103】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、抗体ドメインからなるか又は抗体ドメインを含むポリペプチド又はタンパク質を指すものとし、抗体ドメインは、リンカー配列を伴う又は伴わない、免疫グロブリンの重鎖及び/又は軽鎖の定常及び/又は可変ドメインと理解される。ポリペプチドは、ループ配列によって連結される抗体ドメイン構造の少なくとも2つのベータ鎖からなるベータ-パレル構造を含むならば、抗体ドメインと理解される。抗体ドメインは、天然構造でもよいし、あるいは突然変異誘発又は誘導体化によって修飾されて、例えば抗原結合特性又は任意の他の特性、例えば安定性又は機能特性、例えばFc受容体FcRn及び/又はFcガンマ受容体への結合が修飾されてもよい。

40

【0104】

本明細書で使用される抗体は、1以上の抗原、あるいはこうした抗原の1以上のエピトープに結合する、特異的結合部位を有し、特に単一可変抗体ドメイン(例えばVH、VL又はVHH)のCDR結合部位、あるいは可変抗体ドメイン対(例えばVL/VH対)の結合部位、VL/VHドメイン対及び定常抗体ドメインを含む抗体、例えばFab、F(ab')、(Fab)₂、scFv、Fv、あるいは全長抗体を含む。

【0105】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、特に、単一可変抗体ドメイン、例えばVH、VL又はVHH、あるいは連結配列又はヒンジ領域を伴う又は伴わない、可変及び/

50

又は定常抗体ドメインの組み合わせを含むか、あるいはこれらからなる、抗体形式を指すものとし、可変抗体ドメイン対（例えばV L / V H対）、V L / V Hドメイン対及び定常抗体ドメインを含むか又はこれらからなる抗体、例えば重鎖抗体、F a b、F (a b ')、(F a b)₂、s c F v、F d、F v、又は全長抗体、例えばI g Gタイプ（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、又はI g G 4サブタイプ）、I g A 1、I g A 2、I g D、I g E、又はI g M抗体が含まれる。用語「全長抗体」は、F cドメインの少なくとも大部分、及び天然存在抗体モノマーに一般的に見られる他のドメインを含む、任意の抗体分子を指すために使用されることができる。この句は、本明細書において、特定の抗体分子が抗体フラグメントではないことを強調するために用いられる。

【0106】

用語「抗体」には、特に、単離型の抗体（異なる標的抗原に対して向けられるか、又は抗体ドメインの異なる構造配置を含む他の抗体を実質的に含まない）が含まれるものとする。なお、単離抗体は、例えば少なくとも1つの他の抗体、例えば異なる特異性を有するモノクローナル抗体又は抗体フラグメントを含む、単離抗体の組み合わせを含有する、組み合わせ調製物に含まれることも可能である。

【0107】

用語「抗体」は、ヒト種を含む動物起源、例えばヒト、マウス、ウサギ、ヤギ、ラマ、ウシ及びウマ、又は鳥類（例えば雌鶏）を含む哺乳動物の抗体に適用されるものとし、この用語は、特に、動物起源の配列、例えばヒト配列に基づく組換え抗体を含むものとする。

【0108】

用語「抗体」は、さらに、異なる種起源の配列、例えばマウス及びヒト起源の配列を持つキメラ抗体に適用される。

【0109】

用語「キメラ」は、抗体に関して用いられる際、重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列各々の1つの部分が、特定の種に由来するか又は特定のクラスに属する抗体中の対応する配列に相同である一方、鎖の残りのセグメントが、別の種又はクラスの対応する配列に相同である抗体を指す。典型的には、軽鎖及び重鎖両方の可変領域は、哺乳動物の1種由来の抗体可変領域を模倣し、一方、定常部分は、別の種由来の抗体配列に相同である。例えば、可変領域は、非ヒト宿主生物由来の、容易に入手可能なB細胞又はハイブリドーマを用いて、現在知られる供給源から得ることができ、定常領域（例えばヒト細胞調製物由来の）と組み合わせられる。

【0110】

用語「抗体」は、さらに、ヒト化抗体に適用されてもよい。

【0111】

用語「ヒト化」は、抗体に関して用いた際、非ヒト種由来の免疫グロブリンから実質的に得られる抗原結合部位を有する分子を指し、ここで、分子の残りの免疫グロブリン構造は、ヒト免疫グロブリンの構造及び/又は配列に基づく。抗原結合部位は、定常ドメインに融合した完全可変ドメイン、又は可変ドメイン中の適切なフレームワーク領域上に移植された相補性決定領域（C D R）のみのいずれかを含むことも可能である。抗原結合部位は、野生型でもよいし、あるいは例えば1以上のアミノ酸置換によって、修飾されていてもよく、好ましくは、ヒト免疫グロブリンにより近似するように修飾される。ヒト化抗体のいくつかの型は、すべてのC D R配列を保持する（例えば、マウス抗体由来の6つすべてのC D Rを含有するヒト化マウス抗体）。他の型は、元の抗体に関して改変されている1以上のC D Rを有する。

【0112】

用語「抗体」は、さらにヒト抗体に適用される。

【0113】

用語「ヒト」は、抗体に関して用いられる際、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来の可変及び定常領域を有する抗体を含むと理解される。本発明のヒト抗体には、ヒト生殖系

10

20

30

40

50

列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（例えばランダム又は部位特異的突然変異誘発によってインビトロで、あるいは体細胞突然変異によってインビボで導入される突然変異）が含まれてもよい（たとえば、CDR中に）。ヒト抗体には、ヒト免疫グロブリンライブラリーから、あるいは1以上のヒト免疫グロブリン遺伝子導入動物から、単離される抗体が含まれる。

【0114】

用語「抗体」は、特に、任意のクラス又はサブクラスの抗体に適用される。重鎖定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、抗体は、抗体IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMの主要なクラスに割り当て可能であり、そしてこれらのいくつかは、さらに、サブクラス（アイソタイプ）、例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2に分けられうる。

10

【0115】

当該用語は、さらに、モノクローナル又はポリクローナル抗体、特に組換え抗体に適用され、こうした用語には、組換え手段によって調製されるか、発現されるか、生成されるか又は単離されるすべての抗体及び抗体構造が含まれ、例えば、異なる起源由来の遺伝子又は配列を含む、動物、例えばヒトを含む哺乳動物から生じる抗体、例えば、キメラ、ヒト化抗体、又はハイブリドマ由来抗体が含まれる。さらなる例は、抗体を発現するよう形質転換された宿主細胞から単離される抗体、あるいは抗体又は抗体ドメインの組換えコンビナトリアルライブラリーから単離される抗体、あるいは他のDNA配列に抗体遺伝子配列をスプライシングすることを含む、任意の他の手段によって、調製されるか、発現されるか、生成されるか、又は単離される抗体を指す。

20

【0116】

用語「抗体」はまた、抗体の誘導体、特に機能的に活性な誘導体も指すと理解される。抗体誘導体は、1以上の抗体ドメイン又は抗体及び/又は融合タンパク質の任意の組み合わせと理解され、ここで、抗体の任意のドメインは、1以上の他のタンパク質（例えば他の抗体、例えばCDRループを含む結合構造、受容体ポリペプチドであってもよいが、リガンド、足場タンパク質、酵素、毒素等でもよい）の任意の位置で、融合させてもよい。多様な化学的技術、例えば共有結合、静電相互作用、ジスルフィド結合等による、他の物質への会合又は結合によって、抗体の誘導体を得てもよい。抗体に結合する他の物質は、脂質、炭水化物、核酸、有機及び無機分子又はその任意の組み合わせ（例えばPEG、プロドラッグ又は薬剤）であってもよい。特定の実施形態において、抗体は、生物学的に許容されうる化合物との特異的相互作用を可能にするさらなるタグを含む誘導体である。本発明で使用可能なタグに関しては、抗体のターゲットへの結合に対して、まったく負の影響がないか又は許容されうる負の影響しかない限り、特別な制限はない。適切なタグの例には、Hisタグ、Mycタグ、FLAGタグ、Streptタグ、カルモジュリン・タグ、GSTタグ、MBPタグ、及びSタグが含まれる。別の特定の実施形態において、抗体は、標識を含む誘導体である。本明細書で使用される「標識」という用語は、「標識」抗体を生成するような、抗体に直接又は間接的に複合化された、検出可能な化合物又は組成物を指す。標識は、それ自体検出可能であってもよく、例えば放射性同位体標識又は蛍光標識であってもよく、あるいは酵素標識の場合、検出可能な基質化合物又は組成物の化学的改変を触媒してもよい。

30

40

【0117】

本明細書に記載する好ましい誘導体は、抗原結合に関して機能的に活性であり、且つ誘導体化されていない抗体と同様に、好ましくは黄色ブドウ球菌を中和する能力を有し、及び/又は防御抗体である。

【0118】

親の抗体又は抗体配列、例えば親のCDR又はFR配列から派生した抗体は、本明細書において、特に、例えば、インシリコの又は組換え工学によって、あるいは化学的誘導体化又は合成によって得られた変異株又は変異体と理解される。

【0119】

50

特に、本発明の抗体から誘導された抗体は、少なくとも1以上のそのCDR領域又はCDR変異体を含んでもよく、例えば、重鎖可変領域の少なくとも3つのCDR及び/又は軽鎖可変領域の少なくとも3つのCDRを有し、前記CDR又はFR領域、あるいはHC又はLCの定常領域の少なくとも1つに、少なくとも1つの点変異を有し、機能的に活性である(例えば、個別のLukG及びLukH毒素の会合によって形成されたエピトープ、すなわちLukGHダイマーのエピトープ、に特異的に結合する)。

【0120】

用語「抗体」はまた、抗体の変異体も指すと理解され、これには、親CDR配列の、機能的に活性なCDR変異体を有する抗体、及び親抗体の機能的に活性な変異抗体も含まれる。

10

【0121】

用語「変異体」は、特に、例えば突然変異誘発法によって、特に特定の抗体アミノ酸配列又は領域において欠失、交換、挿入物導入を行い、あるいはアミノ酸配列を化学的に誘導体化して、例えば定常ドメインにおいて、抗体安定性、エフェクター機能又は半減期を操作するか、あるいは可変ドメインにおいて、例えば当該技術分野において利用可能なアフニティ成熟技術によって抗原結合特性を改善して、得られる変異抗体又は抗体フラグメントなどの抗体を指すものとする。任意の既知の突然変異誘発法が使用可能であり、これには、例えばランダム化技術によって得られる、所望の位置での点変異が含まれる。いくつかのケースでは、位置はランダムに選択される(例えば任意のありうるアミノ酸で、又は抗体配列をランダム化する好ましいアミノ酸の選択を用いて)。用語「突然変異誘発」は、ポリヌクレオチド又はポリペプチド配列を改変するための、当該技術分野で認識される任意の技術を指す。好ましいタイプの突然変異誘発には、エラーブローンPCR突然変異誘発、飽和突然変異誘発、又は他の部位特異的突然変異誘発が含まれる。

20

【0122】

用語「変異体」は、特に、機能的に活性な変異体を含むものとする。

【0123】

本明細書で使用されるCDR配列の「機能的に活性な変異体」という用語は、本明細書で使用される抗体の「機能的に活性なCDR変異体」及び「機能的に活性な変異体」と理解され、「機能的に活性な抗体変異体」と理解される。機能的に活性な変異体は、この配列(親抗体又は親配列)の1以上のアミノ酸の挿入、欠失又は置換による修飾、あるいはアミノ酸配列中の1以上のアミノ酸残基、あるいはヌクレオチド配列内のヌクレオチド、あるいは配列の遠位端のいずれか又は両方(例えば、CDR配列中のN末端及び/又はC末端の1, 2, 3あるいは4つのアミノ酸)、及び/又は中心の1, 2, 3あるいは4つのアミノ酸(すなわち、CDR配列の中央)の化学的誘導体化から生じる配列であって、そしてこうした修飾がこの配列の活性に影響を及ぼさない(特に損なわない)配列を意味する。選択される標的抗原に特異性を有する結合部位の場合、抗体の機能的に活性である変異体は、なお、あらかじめ決定された結合特異性を有するであろうが、これを変化させてもよく、例えば特定のエピトープに対する優れた特異性、親和性、結合活性、Kon又はKoff速度等を変化させてもよい。例えば、親和性成熟抗体は、特に機能的に活性な変異抗体と理解される。このように、親和性成熟抗体中の修飾CDR配列は、機能的に活性なCDR変異体と理解される。さらなる修飾が、例えば、交差特異性を広げて親抗体よりも多くのLukGH複合体あるいはLukGHダイマーの変異体、又は毒素あるいは毒素成分を標的とするために、又は、その反応性を高めるために、突然変異誘発を通じて行われてもよい。

30

40

【0124】

特に、本発明の抗体の機能的に活性な変異体は、本明細書にさらに記載するように、LukGH複合体又はLukGHダイマーに結合する、結合部位を有する。機能的活性のさらなる指標は、細胞膜、特にホスホコリンへのLukG、LukH又はLukGH複合体のいずれかの競合的な結合である。

【0125】

50

機能的活性は、好ましくは細胞溶解毒素に対する抗体の中和能を測定するためのアッセイによって決定され、たとえば、所定の毒素に感受性である細胞の増加した生存能又は機能性を測定することによる標準アッセイで決定される。例えば、抗体が細胞アッセイにおけるインビトロ中和能として、100:1 (mAb:毒素の比[mol/mol])未満、好ましくは50:1未満、好ましくは25:1未満、好ましくは10:1未満、より好ましくは1:1未満のIC50を示す場合、機能的活性と判定される。中和は典型的には、抗体がある場合及びない場合の生存可能細胞のパーセントで表される。強力な抗体では、中和能を表す好ましい方法は、抗体:毒素のモル比であり、より低い値はより高い効力に対応する。10未満の値は、高い機能的活性を規定する。場合によっては、値は最も厳密なアッセイにおいて、1と10の間である。

10

【0126】

機能的に活性である変異体は、例えば、結合部位(すなわちCDR領域によって形成される、又はVH及びVL領域によって形成される結合部位)を含む親抗体(例えば、表1[図1]に又は図2に挙げられた抗体)の配列を変化させることによって得られてもよく、このような親抗体又は配列は、そのLuKGHへの特異的結合を特徴とするが、結合部位以外の抗体領域内に修飾を有し、又は、結合部位内の修飾によって、そのような親抗体から誘導され、抗原結合性を損なわず、そして好ましくは親抗体に類似する生物学的活性(黄色ブドウ球菌又は黄色ブドウ球菌毒素を標的とする特異的結合アッセイ又は機能性試験によって測定される、黄色ブドウ球菌毒素に結合する能力及び/又は特定の効力で、例えば、実質的に同じ生物学的活性で黄色ブドウ球菌を中和する能力を含む)を有する。

20

【0127】

特に、以下のCDR配列の何れか、又は、以下のCDR配列の一以上が、以下を含むように修飾されてもよい。

a) VH CDR1における7位で、アミノ酸残基がS、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及びYから選択され、好ましくはE、F、H、I、K、L、M、R、V、W又はYのいずれかであり、より好ましくはE、F、M、W又はYのいずれかである;及び/又は

b) VH CDR2における1位で、アミノ酸残基がN、A、D、E、F、H、L、S、T、V及びYから選択され、好ましくはF、H又はYのいずれかである;及び/又は

c) VH CDR2における3位で、アミノ酸残基がY、H、T及びWから選択される;及び/又は

30

d) VH CDR2における5位で、アミノ酸残基がS、A、E、F、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W及びYから選択され、好ましくはN、R又はWのいずれかであり、より好ましくはN又はWである;及び/又は

e) VH CDR2における7位で、アミノ酸残基がS、D、F、H、K、L、M、N、R及びWから選択される;及び/又は

f) VH CDR2における9位で、アミノ酸残基がY、D、E、F、N、S及びWから選択され、好ましくはD又はHであり、より好ましくはHである;及び/又は

g) VH CDR3における4位で、アミノ酸残基がR、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、S、T、V及びWから選択され、好ましくはD又はHである;及び/又は

40

h) VH CDR3における5位で、アミノ酸残基がG、A、F及びYから選択される;及び/又は

i) VH CDR3における6位で、アミノ酸残基がM、E、F、H及びQから選択され、好ましくはF又はHである;及び/又は

j) VH CDR3における7位で、アミノ酸残基がH、A、D、E、F、G、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、W及びYから選択され、好ましくはE、K、Q、R、W又はYのいずれかであり、より好ましくはW又はYである;及び/又は

k) VL CDR4における7位で、アミノ酸残基がN、A、D、E、F、G、H、K、L、M、Q、R、S、W及びYからなる群より選択され、好ましくはF、L、W、又は

50

Yのいずれかであり、より好ましくはL又はWである；及び/又は

l) VL CDR4における8位で、アミノ酸残基がS、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、T、V、W、及びYから選択され、好ましくはI又はWである；及び/又は

m) VL CDR4における9位で、アミノ酸残基がY、F、R及びWから選択され、好ましくはR又はWである；及び/又は

n) VL CDR5における1位で、アミノ酸残基がA、G、S、W及びYから選択され、好ましくはGである；及び/又は

o) VL CDR6における4位で、アミノ酸残基がF、H、M、W及びYから選択される；及び/又は

p) VL CDR6における5位で、アミノ酸残基がD、A、D、E、F、G、H、I、K、L、M、N、Q、R、S、T、V、W、及びYから選択される；及び/又は

q) VL CDR6における8位で、アミノ酸残基がF、H、R及びWから選択される【0128】

本明細書で使用される「実質的に同じ生物学的活性」という用語は、同等の又は親抗体に関して決定される活性の少なくとも20%、少なくとも50%、少なくとも75%、少なくとも90%、例えば少なくとも100%、又は少なくとも125%、又は少なくとも150%又は少なくとも175%、又は例えば最大200%である、実質的に同じ活性によって示されるような活性を指す。

【0129】

本明細書に記載される好ましい変異体又は誘導体は、抗原結合に関して機能的に活性であり、好ましくは個々の毒素に特異的に結合する能力を有し、そして、標的毒素ではない他の抗原には有意に結合せず、例えば、少なくとも210g、好ましくは少なくとも310gのKd値の差を有する。機能的に活性な変異体による抗原結合は、典型的には障害されず、親抗体又は配列、又は配列変異体を含む抗体と実質的にほぼ同じ結合親和性に相当し、例えば、210g未満、好ましくは310g未満のKd値の差を有し、しかしながら、さらに向上した親和性を有する可能性もある（例えば、少なくとも110g、好ましくは少なくとも210gのKd値の差）。

【0130】

LukGH複合体への特異的ターゲティングによって測定される機能的活性は、特に、個別の毒素LukG及びLukHを上回るLukGH複合体への優先的な結合によってさらに特徴付けられる。具体的には、本発明の抗体の、ヘテロダイマーのまたはオリゴマーのLukGH抗原への結合が、別々の（単量体の）LukG又はLukHのいずれか又は両方への結合と比較して、はるかに向上していることを、実証することができる（例えば、少なくとも1又は210gの差がある異なる親和性又はKdによって特徴付けられるように）。

【0131】

好ましい実施形態では、親抗体の機能的に活性な変異体は、

a) 抗体の生物学的活性フラグメントであり、当該フラグメントは、分子の配列の少なくとも50%を含み、好ましくは少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、最も好ましくは少なくとも97%、98%又は99%を含み；

b) 少なくとも1つのアミノ酸置換、付加及び/又は欠失によって、抗体から得られ、ここで、機能的に活性な変異体は、分子又はその部分に配列同一性を有し、例えば少なくとも50%の配列同一性、好ましくは少なくとも60%、より好ましくは少なくとも70%、より好ましくは少なくとも80%、さらにより好ましくは少なくとも90%、さらにより好ましくは少なくとも95%、最も好ましくは少なくとも97%、98%又は99%の配列同一性を有する抗体；及び/又は

c) 抗体又はその機能的に活性な変異体、及びさらに、当該ポリペプチド又はヌクレオチド配列に対して異種である少なくとも1つのアミノ酸又はヌクレオチドからなる。

10

20

30

40

50

【0132】

本発明の1つの好ましい実施形態では、本発明に係る抗体の機能的に活性な変異体は、本質的には、上述した変異体と同一であるが、異なる種の相同配列から得られている点で、それぞれ、そのポリペプチド又はヌクレオチド配列とは異なる。これらは、天然存在変異体又は類似体と称される。

【0133】

用語「機能的に活性な変異体」には、天然存在対立遺伝子多型、ならびに変異体又は任意の他の天然に存在しない変異体も含まれる。当該技術分野で知られるように、対立遺伝子多型は、ポリペプチドの生物学的機能を本質的には改変しない、1以上のアミノ酸の置換、欠失又は付加を有することを特徴とする、(ポリ)ペプチドの代替型である。

10

【0134】

機能的に活性な変異体は、例えば1以上の点変異によって、ポリペプチド又はヌクレオチド配列中の配列改変によって得ることも可能であり、ここで、配列改変は、本発明と組み合わせ用いられた際、改変されないポリペプチド又はヌクレオチド配列の機能を保持又は改善する。こうした配列改変には、(保存的)置換、付加、欠失、変異及び挿入が含まれるが、これらに限定されない。

【0135】

特定の機能的に活性な変異体は、CDR変異体である。CDR変異体には、CDR領域中の少なくとも1つのアミノ酸によって修飾されたアミノ酸配列が含まれ、ここで、前記修飾は、アミノ酸配列の化学的又は部分的改変であってもよく、修飾は、変異体が非修飾配列の生物学的特性を保持することを可能にする。CDRアミノ酸配列の部分的改変は、1から数個のアミノ酸、例えば1、2、3、4又は5アミノ酸の欠失又は置換によるもの、あるいは1から数個のアミノ酸、例えば1、2、3、4又は5アミノ酸の付加又は挿入によるもの、あるいは1から数個のアミノ酸、例えば1、2、3、4又は5アミノ酸の化学的誘導体化によるもの、あるいはその組み合わせであってもよい。アミノ酸残基における置換は、保存的置換、例えば1つの疎水性アミノ酸の別の疎水性アミノ酸に関する置換であってもよい。

20

【0136】

保存的置換は、側鎖及び化学的特性において関連するアミノ酸ファミリー内で行われる置換である。こうしたファミリーの例は、塩基性側鎖、酸性側鎖、非極性脂肪族側鎖、非極性芳香族側鎖、非荷電極性側鎖、小側鎖、巨大側鎖等を含むアミノ酸である。

30

【0137】

点変異は、特に、1以上の単一の(非連続的)又は二つ組のアミノ酸の異なるアミノ酸に関する置換又は交換、欠失又は挿入において、操作されないアミノ酸配列と異なるアミノ酸配列の発現を生じる、ポリヌクレオチドの操作と理解される。

【0138】

好ましい点変異は、同じ極性及び/又は電荷のアミノ酸の交換を指す。これに関連して、アミノ酸は、64の3つ組コドンによってコードされる20の天然存在アミノ酸を指す。これらの20アミノ酸は、中性電荷、陽性電荷、及び陰性電荷を有するものに分類できる。

40

【0139】

「中性」アミノ酸を、それぞれの3文字及び1文字コード及び極性ととも、以下に示す：

- アラニン：(Ala、A)非極性、中性；
- アスパラギン：(Asn、N)極性、中性；
- システイン：(Cys、C)非極性、中性；
- グルタミン：(Gln、Q)極性、中性；
- グリシン：(Gly、G)非極性、中性；
- イソロイシン：(Ile、I)非極性、中性；
- ロイシン：(Leu、L)非極性、中性；

50

メチオニン：(Met、M)非極性、中性；
 フェニルアラニン：(Phe、F)非極性、中性；
 プロリン：(Pro、P)非極性、中性；
 セリン：(Ser、S)極性、中性；
 スレオニン：(Thr、T)極性、中性；
 トリプトファン：(Trp、W)非極性、中性；
 チロシン：(Tyr、Y)極性、中性；
 バリン：(Val、V)非極性、中性；及び
 ヒスチジン：(His、H)極性、陽性(10%)中性(90%)

【0140】

「陽性」荷電アミノ酸は以下の通りである：

アルギニン：(Arg、R)極性、陽性；及び
 リジン：(Lys、K)極性、陽性

【0141】

「陰性」荷電アミノ酸は以下の通りである：

アスパラギン酸：(Asp、D)極性、陰性；及び
 グルタミン酸：(Glu、E)極性、陰性

【0142】

「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」は、抗体配列及び本明細書記載の相同体に関して、配列を整列させ、そして最大配列同一性パーセントを達成するために、必要であればギャップを導入した後、そしていかなる保存的置換も配列同一性の一部とは見なさず、特定のポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である、候補配列中のアミノ酸残基の割合と定義される。当業者は、整列を測定するための適切なパラメータを決定することが可能であり、これには、比較しようとする配列の全長に渡って、最大整列を達成するために必要ないかなるアルゴリズムも含まれる。

【0143】

抗体変異体は、特に、例えば糖鎖工学によって産生される、機能性であり、そして機能的等価物として働きうる(例えば特定の標的に結合し、機能的特性を有する)、特異的グリコシル化パターンを持つ相同体、類似体、フラグメント、修飾又は変異体を含むと理解される。本明細書に記載する好ましい変異体は、抗原結合に関して機能的に活性であり、好ましくは黄色ブドウ球菌を中和する能力を有し、及び/又は防御抗体である。

【0144】

本発明の抗体は、Fcエフェクター機能を示してもよいし、又は示さなくてもよい。作用様式は、主に、Fcエフェクター機能を持たない中和抗体によって仲介されるが、Fcは、補体を補充し、そして免疫複合体の形成を通じて、循環からの標的抗原、例えば毒素の除去を補助することも可能である。

【0145】

特異的抗体は、活性Fc部分を欠き、したがって、抗体のFc部分を含有しないか、又はFcガンマ受容体結合部位を含有しない抗体ドメインで構成されてもよいし、あるいは例えばFcエフェクター機能を減少させる、特にADCC及び/又はCDC活性を抑制するか又は減少させる修飾によって、Fcエフェクター機能を欠く抗体ドメインを含んでもよい。代替抗体を操作して、Fcエフェクター機能を増加させる、特にADCC及び/又はCDC活性を増強する修飾を組み込むことも可能である。

【0146】

こうした修飾は、突然変異誘発、例えばFcガンマ受容体結合部位の変異によって、あるいは抗体形式のADCC及び/又はCDC活性に干渉する誘導体又は剤によって、達成可能であり、こうしてFcエフェクター機能の減少又は増加を達成することも可能である。

【0147】

Fcエフェクター機能の有意な減少は、典型的には、ADCC及び/又はCDC活性に

10

20

30

40

50

よって測定される、非修飾（野生型）形式の10%未満の、好ましくは5%未満のFcエフェクター機能を指すと理解される。

【0148】

Fcエフェクター機能の有意な増加は、典型的には、ADCC及び/又はCDC活性によって測定される、非修飾（野生型）形式の少なくとも10%、好ましくは少なくとも20%、30%、40%又は50%のFcエフェクター機能の増加を指すと理解される。

【0149】

用語「糖鎖操作」変異体は、抗体配列に関して、糖鎖工学の結果として、修飾された免疫原性特性、免疫調節性（例えば、抗炎症性）特性、ADCC及び/又はCDCを有するグリコシル化変異体を指すものとする。すべての抗体は、重鎖定常領域において、保存された位置で炭水化物構造を含有し、各アイソタイプは、N連結炭水化物構造の異なるアレイを所有し、これはタンパク質アセンブリ、分泌又は機能活性に可变的に影響を及ぼす。IgG1タイプの抗体は、各CH2ドメインのAsn297に保存されたN連結グリコシル化部位を有する糖タンパク質である。Asn297に付着した2つの複雑な二分岐オリゴ糖は、CH2ドメインの間に包埋され、ポリペプチド主鎖との広範な接触を形成し、そしてその存在は、抗体が抗体依存性細胞傷害性（ADCC）などのエフェクター機能を仲介するために必須である。例えば、N297の例えばAへの変異、又はT299を通じて、N297のN-グリカン除去すると、典型的には、ADCCが減少した脱グリコシル化抗体形式が生じる。特に、本発明の抗体は、グリコシル化された、糖鎖操作された、又は脱グリコシル化された抗体であってもよい。

【0150】

抗体グリコシル化の大きな相違は細胞株間で生じ、そして異なる培養条件下で増殖された所定の細胞株に関してもわずかな相違が見られる。バクテリア細胞における発現は、典型的には、脱グリコシル化抗体を提供する。テトラサイクリンが制御する、二分GlcnAcの形成を触媒する糖転移酵素である(1,4)-N-アセチルグルコサミン転移酵素II(GnTII)の発現を伴うCHO細胞は、改善されたADCC活性を有すると報告された(Umana et al., 1999, Nature Biotech. 17:176-180)。宿主細胞の選択に加えて、抗体の組換え産生中のグリコシル化に影響を及ぼす要因には、増殖様式、培地処方、培養密度、酸素添加、pH、精製スキーム等が含まれる。

【0151】

用語「抗原結合部位」又は「結合部位」は、抗原結合に關与する抗体部分を指す。抗原結合部位は、重(H)鎖及び/又は軽(L)鎖のN末端可変(V)領域、あるいはその可変ドメインのアミノ酸残基によって形成される。「超可変領域」と称される、重鎖及び軽鎖のV領域内の3つの非常に多様なストレッチは、フレームワーク領域として知られる、より保存された隣接ストレッチの間に挿入される。抗原結合部位は、結合エピトープ又は抗原の三次元表面に相補的な表面を提供し、そして超可変領域は、「相補性決定領域」又は「CDR」と称される。CDR中に組み込まれた結合部位は、本明細書において、「CDR結合部位」とも称される。

【0152】

具体的には、本明細書で言及されるCDR配列は、Kabata命名法(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services.(1991)参照)に従って決定される、抗体のアミノ酸配列と理解される。

【0153】

本明細書で使用される「抗原」という用語は、用語「標的」又は「標的抗原」と互換的に用いられ、全標的分子又は抗体結合部位によって認識されるこうした分子のフラグメントを指すものとする。具体的には、免疫学的に関連した、一般的に「エピトープ」、例えばB細胞エピトープ又はT細胞エピトープと称される、抗原の部分構造、例えばポリペプチド又は炭水化物構造は、こうした結合部位によって認識されうる。

【0154】

本明細書で使用される「エピトープ」という用語は、特に、抗体の結合部位に対する特異的結合パートナーを完全に構成してもよいし、又は特異的結合パートナーの一部であってもよい、分子構造を指すものとする。エピトープは、炭水化物、ペプチド性構造、脂肪酸、有機、生化学的又は無機物質又はその誘導体、及びその任意の組み合わせのいずれで構成されてもよい。エピトープが、ペプチド性構造、例えばペプチド、ポリペプチド又はタンパク質で構成される場合、通常、これには、少なくとも3つのアミノ酸、好ましくは5～40のアミノ酸、そしてより好ましくは約10～20の間のアミノ酸が含まれるであろう。エピトープは直鎖又は立体構造エピトープのいずれかであってもよい。直鎖エピトープは、ポリペプチド又は炭水化物鎖の一次配列の単一セグメントで構成される。直鎖エピトープは近接していても又は重複していてもよい。

10

【0155】

立体構造エピトープは、ポリペプチドをフォールディングして、三次構造を形成することによってまとめられたアミノ酸又は炭水化物で構成され、アミノ酸は、直鎖配列においては、互いに必ずしも隣接しない。具体的には、ポリペプチド抗原に関しては、立体構造エピトープ又は不連続エピトープは、一次配列中では分離されているが、ポリペプチドが天然タンパク質/抗原にフォールディングした際には分子表面上の一貫した構造を構築する、2以上の別々のアミノ酸残基の存在によって特徴付けられる。具体的には、立体構造エピトープは、非線形に整列する一連のアミノ酸残基から構成されたエピトープであり、当該残基は、ポリペプチド配列の長さに沿って非連続的様式で、間隔を空け又は集合している。そのような立体構造エピトープは、接触アミノ酸残基及び/又は結晶学的解析によ

20

【0156】

特に、エピトープに寄与する結合残基は、本明細書において、接触アミノ酸残基と理解される。

【0157】

構造座標は、典型的には、結晶形の抗原又は免疫複合体の原子、すなわち散乱中心によるX線の単色ビームの回折で得られるパターンに関連がある数学的方程式から派生したデカルト原子座標と理解される。回折データは、結晶の反復単位の電子密度マップを計算するために使用される。電子密度マップはその後、例えば特異抗体又はFabによって結合されるような、エピトープの個々の原子を確立するために使用される。抗原の一組の構造座標は、三次元の形状を規定する点の相対的な一組であると理解される。個々の座標のわずかな違いは、全体の形状にほとんど影響を与えないであろう。本発明の目的のために、抗原の構造座標によって記載された関連する骨格原子に重ね合わされた際、0.00Åと2.00Åの間の保存残基骨格原子の平均二乗偏差を有する三次元構造は、同一又は実質的に同一とみなされる。本発明の目的のために、構造座標は、たとえわずかな変化が個々の座標中に存在しても、これらが前記構造座標によって規定される全体形状に影響を与えない場合、同一又は実質的に同一とみなされる。

30

【0158】

本明細書に記載される抗体は、LukG毒素の縁(rim)領域、特にLukGH複合体を形成するためにLukH毒素と複合体を形成したLukGを特異的に認識する。前記縁領域は、宿主細胞膜の外葉に並置される毒素のドメインと理解され、当該縁領域は、細胞膜結合に関与する。このように縁部分は、膜アンカーとして働く。本発明の抗体によって標的にされるエピトープは、前記縁部分又は縁領域に位置し、それゆえ、免疫に関連する、すなわち、能動的又は受動的免疫療法による防御に関連する可能性がある。

40

【0159】

本発明の同定されたエピトープに基づいて、さらにそれぞれのパラトープ、例えば本発明の抗体のパラトープ、例えばエピトープを認識する全長抗体の一部等、抗体の抗原結合部位を提供することも実現可能である。それは典型的には、抗体のFv領域の15～22

50

アミノ酸の狭い領域である。そのようなパラトープは、所望の交差反応性結合特性を有する特異的結合剤又は結合分子を得るために、適切なスキャホールド内に組み込まれて、スキャホールド-タイプの分子、例えば融合タンパク質又は人工スキャホールドを得てもよい。

【0160】

本明細書で使用される「結合分子」という用語は、標的を特異的に認識し、特に標的毒素への交差特異性を示す、エピトープ-結合分子又は抗原-結合分子と理解される。結合分子の具体例は、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、核酸、炭水化物、脂質、オリゴペプチド、アプタマー及び小分子化合物、好ましくは抗体、前記結合部位を含む少なくとも1つの抗体ドメインを含むその抗体フラグメント、又は前記結合部位を含む少なくとも1つの抗体ドメインを含む融合タンパク質、からなる群より選択される。

10

【0161】

結合分子は、例えば、結合剤の適切なライブラリー、例えば抗体ライブラリー、又は他の化合物あるいはスキャホールドのライブラリー、例えば、DARPin、HEATリピートタンパク質、ARMリピートタンパク質、テトラトリコペプチド・リピートタンパク質及び天然起源のリピートタンパク質に基づく他のスキャホールドから、候補化合物を得るために適切なスクリーニング法によって選択されてもよく、その後さらにその結合特性に関する特性を明らかにされる。

【0162】

用語「発現」は、以下のように理解される。発現産物（例えば本明細書に記載の抗体等）の望ましいコード配列を含有する核酸分子、及び制御配列（例えば機能可能なリンケージ内のプロモーター等）を、発現目的のために用いてもよい。これらの配列で形質転換されたか又はトランスフェクションされた宿主は、コードされるタンパク質を産生可能である。形質転換を達成するため、発現系はベクター中に含まれていてもよいが、適切なDNAは宿主染色体内に組み込まれてもよい。特に、当該用語は、例えばベクターによって所持され、そして宿主細胞に導入される、外来DNAによってコードされるタンパク質の発現のために適切な条件下にある、宿主細胞及び適合性ベクターを指す。

20

【0163】

コードDNAは、例えば抗体のような特定のポリペプチド又はタンパク質のための特定のアミノ酸配列をコードするDNA配列である。プロモーターDNAは、コードDNAの発現を開始するか、制御するか、あるいは他の方式で仲介するか又は調節するDNA配列である。プロモーターDNA及びコードDNAは、同じ遺伝子由来であってもよく、又は異なる遺伝子由来であってもよく、そして同じ又は異なる生物由来であってもよい。組換えクローニングベクターには、しばしば、クローニング又は発現のための1以上の複製系、宿主における選択のための1以上のマーカー、例えば抗生物質耐性、及び1以上の発現カセットが含まれるであろう。

30

【0164】

本明細書で使用される「ベクター」は、適切な宿主生物において、クローン化組換えヌクレオチド配列、すなわち組換え遺伝子の転写、及びそのmRNAの翻訳に必要な、DNA配列と定義される。

40

【0165】

「発現カセット」は、規定される制限部位でベクター内に挿入可能な発現産物をコードする、DNAコード配列又はDNAセグメントを指す。カセット制限部位は、適切なリーディングフレームでのカセットの挿入を確実にするよう設計される。一般的に、外来DNAは、ベクターDNAの1以上の制限部位で挿入され、その後、ベクターによって、伝達性ベクターDNAとともに、宿主細胞内に運ばれる。挿入された又は付加されたDNAを有するDNAのセグメント又は配列、例えば発現ベクターは「DNA構築物」とも称される。

【0166】

発現ベクターは発現カセットを含み、さらに通常、宿主細胞又はゲノム組込み部位にお

50

ける自律複製起点、1以上の選択可能マーカー（例えばアミノ酸合成遺伝子、あるいは抗生物質、例えばゼオシン、カナマイシン、G418又はハイグロマイシンに対する耐性を与える遺伝子）、いくつかの制限酵素切断部位、適切なプロモーター配列及び転写終結因子を含み、これらの成分は、機能可能に共に連結される。本明細書で使用される「ベクター」という用語は、自己複製ヌクレオチド配列、ならびにゲノム組込みヌクレオチド配列を含む。ベクターの一般的なタイプは「プラスミド」であり、これは一般的に、さらなる（外来）DNAを容易に受け入れ可能であり、そして適切な宿主細胞内に容易に導入可能である、二本鎖DNAの自己完結型分子である。プラスミドベクターは、しばしば、コードDNA及びプロモーターDNAを含有し、そして外来DNAを挿入するのに適した1以上の制限部位を有する。具体的には、用語「ベクター」又は「プラスミド」は、宿主を形質転換し、そして導入した配列の発現（例えば転写及び翻訳）を促進するように、DNA又はRNA配列（例えば外来遺伝子）が宿主細胞内に導入可能であるビヒクルを指す。

10

20

30

40

50

【0167】

本明細書で使用される「宿主細胞」という用語は、特定の組換えタンパク質、例えば本明細書記載の抗体を産生するよう形質転換された一次対象細胞、及びその任意の子孫を指すものとする。すべての子孫が親細胞と正確に同一ではないが（計画的な又は偶発性の突然変異、あるいは環境の違いに起因する）、こうした改変された子孫は、子孫が元来形質転換された細胞のものと同じ機能性を保持する限り、これらの用語に含まれると理解されなければならない。用語「宿主細胞株」は、組換え抗体などの組換えポリペプチドを産生する組換え遺伝子を発現するために用いられる宿主細胞の細胞株を指す。本明細書で使用される「細胞株」という用語は、長期間に渡って増殖する能力を獲得した、特定の細胞タイプの樹立されたクローンを指す。こうした宿主細胞又は宿主細胞株は細胞培養中で維持されてもよく、及び/又は組換えポリペプチドを産生するために培養されてもよい。

【0168】

組成物（例えば、抗原又はエピトープを含む、本明細書において「免疫原」とも称される免疫原性組成物）、あるいは本明細書に記載のワクチンに対する「免疫応答」は、関心の対象となる組成物又はワクチンに対する、細胞-及び/又は抗体媒介性免疫応答の、宿主又は被験体における発現である。通常、こうした応答は、関心の対象となる組成物又はワクチン中に含まれる単数又は複数の抗原に対して特異的に向けられる、被験体が産生する抗体、B細胞、ヘルパーT細胞、サプレッサーT細胞、及び/又は細胞傷害性T細胞からなる。

【0169】

「防御免疫応答」は、非免疫集団のものと比較して、誘導されたあるいは天然の感染または毒素負荷に対し、有意に優れた結果を提供する免疫応答と理解される。毒素に対する防御免疫応答は、主に、高い親和性を有する（例えば 10^{-8} M未満のKdを有する）中和抗体によって媒介される。毒素中和の利点は、標的細胞の保護及び炎症の防止である。Fc介在性免疫複合体形成は、循環から毒素を除去する（RES細胞を介する）ことによっても寄与できる。

【0170】

免疫原又は免疫原性組成物は、通常、抗原又はエピトープ及びキャリアーを含み、特にアジュバントを含んでもよい。用語「アジュバント」は、抗原と組み合わせて投与された際、抗原に対する免疫応答を増大及び/又は再指示するが、単独で投与された際には、抗原に対する免疫応答を生じない化合物を指す。アジュバントは、リンパ球補充、B及び/又はT細胞刺激、ならびにマクロファージ刺激を含む、いくつかのメカニズムによって、免疫応答を増大させうる。代表的なキャリアーは、リボソーム又は陽イオン性ペプチドであり；代表的なアジュバントは、リン酸アルミニウム又は水酸化アルミニウム、MF59又はCpGオリゴヌクレオチドである。

【0171】

核酸、抗体又は他の化合物に関して本明細書で使用される「単離された」又は「単離」という用語は、「実質的に純粋な」型で存在するように、こうした化合物が天然に会合す

るであろう環境から十分に分離されている化合物を指すものとする。「単離された」は、他の化合物又は物質との人工的な又は合成混合物、あるいは基本的活性に干渉せず、例えば不完全な精製のために存在しうる不純物の存在の排除を必ずしも意味しない。特に、本発明の単離された核酸分子は、自然発生ではないもの（例えば、コドン最適化核酸又は cDNA、あるいは化学的に合成されたもの）も含むことを意図している。

【0172】

同様に、本発明の単離抗体は、特に自然発生的ではなく、例えば、別の抗体との組み合わせ調製によって提供され、その組み合わせは天然には発生しない（例えば、1以上の単一特異性抗体との及び/又は少なくとも2つの異なる標的を認識する交差特異性抗体との組み合わせ）か、又は自然発生抗体の最適化もしくは親和性成熟変異体、又は、抗体の製造可能性を改善するために操作されたフレームワーク領域を有する抗体である。

10

【0173】

本発明の核酸に関連して、用語「単離された核酸」が時に用いられる。この用語は、DNAに適用された際、由来する生物の天然存在ゲノムにおいて直接隣接している配列から分離されたDNA分子を指す。例えば「単離された核酸」は、ベクター、例えばプラスミド又はウイルスベクター内に挿入されたか、あるいは原核又は真核細胞又は宿主生物のゲノムDNA内に組み込まれたDNA分子を含むことも可能である。RNAに適用された際、用語「単離された核酸」は、主に、上に定義するような単離されたDNA分子によってコードされるRNA分子を指す。あるいは、当該用語は、天然状態で（すなわち細胞又は組織において）会合するであろう他の核酸から十分に分離されているRNA分子を指すことも可能である。「単離された核酸」（DNA又はRNAいずれか）は、さらに、生物学的又は合成的手段によって直接産生され、そしてその産生中に存在する他の成分から分離されている分子を表すことも可能である。

20

【0174】

ポリペプチド又はタンパク質、例えば本発明の単離抗体又はエピトープに関連して、用語「単離された」は、特に、天然環境において、あるいはこうした調製がインビトロ又はインビボで実施される組換えDNA技術による場合、調製される環境（例えば細胞培養）において、ともに見られる他の化合物などの、天然に会合している物質を含まないか又は実質的に含まない、化合物を指すものとする。単離された化合物を、希釈剤又はアジュバントとともに配合してもよく、そしてなお、単離される実際的な目的のため、例えば、診断又は治療に用いる際には、ポリペプチド又はポリヌクレオチドを薬学的に許容されるキャリアー又は賦形剤と混合してもよい。

30

【0175】

本明細書で使用される「LukGH複合体」という用語は、ダイマー又はオリゴマーを指すものとし、これらには、LukGとLukH成分が1:1のダイマー又は任意の他の比が含まれ、好ましくは少なくとも1つのLukGと少なくとも1つのLukH成分、又は少なくとも2、もしくは少なくとも3、もしくは少なくとも4つのLukG又はLukH成分のいずれか、又はLukGとLukH成分の両方を含む複合体である。LukGHダイマーとは、本明細書において、1分子のLukGと1分子のLukHのヘテロダイマーとして理解され、これらは溶液中で、特に、静電の、又は親水性/疎水性相互作用によって、会合する。驚くべきことに、LukHとLukGが、標的細胞と接触することなく、溶液中で複合体を形成することが見出された。

40

【0176】

用語「中和性」又は「中和」は、本明細書において、最も広い意味で用いられ、そして中和が達成されるメカニズムに関わらず、病原体、例えば黄色ブドウ球菌に、被験体が感染するのを阻害するか、又は病原体が強力なタンパク質毒素を産生することによって感染を促進するのを阻害するか、又は毒素が被験体において標的細胞を損傷するのを阻害する、任意の分子を指す。中和は、例えば、標的細胞上の同族受容体と黄色ブドウ球菌毒素（単数又は複数）の結合及び/又は相互作用を阻害する抗体によって、達成可能である。特定の実施形態において、本明細書記載の抗体は、毒素活性を中和させることも可能であり

50

、ここで、毒素と標的細胞（例えば赤血球）の間の相互作用のインビボ又はインビトロ効果は、減少するか又は除去される。中和はさらに、活性毒素の形成を阻害することによって、例えば黄色ブドウ球菌 LukGH複合体の場合、LukGとLukF抗原のお互いへの結合の阻害によって、又は、標的細胞へのLukGHダイマー又はオリゴマーの結合の阻害によって、又は細胞膜におけるオリゴマー性孔の形成の阻害によって、生じることも可能である。

【0177】

細胞溶解毒素に対する抗体の中和能は、典型的には、所定の毒素に感受性である細胞の増加した生存能又は機能性を測定することによって、標準アッセイにおいて決定される。中和は、抗体を含む及び含まない生存細胞のパーセントによって表すことができる。強力な抗体に関しては、中和能を表す好ましい方式は、抗体：毒素モル比であり、ここで、より低い値はより高い効力に対応する。10未満の値は高い効力を、1未満の値は非常に高い効力を定義する。

10

【0178】

本明細書で使用される「交差中和性」という用語は、複数の毒素（例えば、異なるLukGH変異体を発現している、少なくとも2つ、好ましくは少なくとも3つ、又は少なくとも4つあるいは少なくとも3つの異なる黄色ブドウ球菌株のLukGH複合体のエピトープを有する複数の毒素）の中和を指すものとし、このエピトープは本発明の抗体によって認識される。様々なLukGH複合変異体に普及しているこのようなエピトープは、「交差反応性」エピトープとも呼ばれる。

20

【0179】

用語「黄色ブドウ球菌」又は「S. アウレウス」又は「病原性黄色ブドウ球菌」は、以下のように理解される。黄色ブドウ球菌細菌は、通常、人間及び動物の皮膚上又は鼻中に見られる。当該細菌は、切り傷又は他の創傷を通じて体内に入らない限り、一般的には無害である。典型的には、感染は、健康な人々においては、重要でない皮膚の問題である。歴史的には、感染は、メチシリンのような広域抗生物質によって治療された。しかし、現在、メチシリン及び他のベータ-ラクタム抗生物質、例えばペニシリン及びセファロスポリンに耐性である特定の株が出現してきている。これらはメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（多剤耐性黄色ブドウ球菌、あるいは「MRSA」としても知られる）と呼ばれる。

30

【0180】

黄色ブドウ球菌は、重要なヒト病原体であり、多数の分泌毒素（外毒素）を発現する。これらは、赤血球、好中性顆粒球及び他の免疫細胞、ならびに肺又は皮膚の上皮細胞を含む、多様な宿主細胞タイプを攻撃しうる。黄色ブドウ球菌毒素の主なメンバーは、リンパ球、マクロファージ、肺上皮細胞及び肺内皮細胞に対して細胞溶解機能を発揮する、アルファ溶血素（H1a）である。

【0181】

MRSAを含む黄色ブドウ球菌感染は、一般的には、面皰、おでき又はクモの咬傷に似た小さな赤い隆起として始まる。これらの隆起又は傷は、急速に、外科的排出を必要とする、深く有痛性の膿瘍に変わりうる。細菌は時に皮膚に限局されたままである。ときおり、これらは体内深くに掘り進み、皮膚、軟組織、骨、関節、外科的創傷、血流、心臓弁、肺、又は他の臓器を含む、広い範囲のヒト組織において、潜在的に生命を危うくする感染を引き起こしうる。このように、黄色ブドウ球菌感染は、潜在的に致死性の疾患、例えば壊死性筋膜炎、心内膜炎、敗血症、菌血症、腹膜炎、毒素性ショック症候群、及び壊死性肺炎を含む多様な型の肺炎、ならびにフルンケル症及びカルブンケル症における毒素産生といった、関連する疾患状態をもたらしうる。MRSA感染は、患者が開放性創傷、侵襲的デバイス、及び弱った免疫系のリスクにあるか、又はこうしたものに対する傾向があり、それゆえ、一般人よりも感染のリスクがより大きい、病院又は老人ホームの状況においては、特に厄介である。

40

【0182】

黄色ブドウ球菌毒素を中和する抗体は、病原体及び病原性反応に干渉し、したがって、

50

感染を限定するか又は防止し、及び/又はこうした感染から生じる疾患状態を寛解させるか、あるいは黄色ブドウ球菌の発病、特に肺炎、腹膜炎、骨髄炎、菌血症及び敗血症の発病を阻害することが可能である。これに関連して、「防御抗体」は、本明細書において、能動免疫又は受動免疫において観察される、感染病原体に対する免疫を担う中和抗体と理解される。特に、本明細書に記載する防御抗体は、分泌される病原性因子（外毒素）の毒性効果（例えば細胞溶解、標的細胞による炎症促進性サイトカイン発現の誘導）を中和することが可能であり、それゆえ、黄色ブドウ球菌の病変形成能に干渉する。

【0183】

本明細書で使用される「組換え」という用語は、「遺伝子工学によって調製されるか又は遺伝子操作の結果」を意味するものとする。組換え宿主は、特に、発現ベクター又はクローニングベクターを含むか、あるいは特に宿主に対して外来性であるヌクレオチド配列を使用して、組換え核酸配列を含有するよう遺伝子操作されている。組換えタンパク質は、宿主においてそれぞれの組換え核酸を発現することによって産生される。本明細書で使用される「組換え抗体」という用語には、組換え手段によって調製されるか、発現されるか、生成されるか、又は単離される抗体、例えば（a）ヒト免疫グロブリン遺伝子を遺伝子導入又は染色体導入した動物（例えばマウス）あるいはそこから調製されたハイブリドーマから単離された抗体、（b）抗体を発現するように形質転換された宿主細胞から、例えばトランスフェクターマから単離された抗体、（c）組換えコンビナトリアル・ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体、及び（d）ヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを伴う、任意の他の手段によって調製されるか、発現されるか、生成されるか又は単離される抗体が含まれる。こうした組換え抗体は、例えば抗体成熟中に生じる再編成及び変異を含むよう操作される抗体を含む。

【0184】

本明細書で使用される、用語「特異性」又は「特異的結合」は、分子の不均一集団において、関心対象の同族リガンドを決定する結合反応を指す。したがって、明示される条件（例えばイムノアッセイ条件）下で、抗体は、特定のターゲットに特異的に結合し、そして試料中に存在する他の分子には、有意な量では結合しない。特異的結合は、結合が、ターゲット同一性、高い、中程度又は低い結合親和性又は結合活性に関して選択性であることを意味する。選択的結合性は、通常、他の抗原と比較して、結合定数又は結合動力学が少なくとも10倍異なる場合（少なくとも1log異なる）と理解される）、好ましくは相違が少なくとも100倍である場合（少なくとも2log異なる）と理解される）、より好ましくは少なくとも1000倍である場合（少なくとも3log異なる）と理解される）、達成される。

【0185】

用語「特異性」又は「特異的結合」は、また、1以上の分子に結合する結合剤、例えば交差特異性結合剤にも適用されると理解される。少なくとも2つの異なる抗原を標的にするか、あるいは少なくとも2つの異なる抗原上の交差反応性エピトープを標的とする好ましい交差特異性（多特異性又は交差反応性とも呼ばれる）結合剤は、実質的に類似する結合親和性を有する抗原（例えば、100倍未満の差、あるいは10倍未満の差を有する）と特異的に結合する。

【0186】

例えば、交差-特異抗体は、交差反応性エピトープを保有する様々な抗原に結合できるであろう。少なくとも2つの異なる抗原又は少なくとも2つの異なる抗原の交差反応性エピトープに結合する特異性を有する抗体の結合部位及び抗体はそれぞれ、多特異性又は交差特異的結合部位及び抗体とも呼ばれる。例えば、抗体は、本質的に同じ構造の立体構造エピトープを提供できる、エピトープ内の配列相同性及び/又は構造的類似性を有する複数の異なる抗原で交差反応性である（例えば、少なくとも2つの異なるLuKGH複合変異体に交差反応性である）エピトープに特異的に結合する多特異性結合部位を有していてもよい。

【0187】

10

20

30

40

50

交差反応性結合配列に抗体が示す、抗体の免疫特異性、その結合能及び付随する親和性は、抗体が免疫反応する（結合する）交差反応性結合配列によって決定される。交差反応性結合配列特異性は、少なくとも部分的に、抗体の免疫グロブリンの重鎖可変領域のアミノ酸残基によって、及び／又は軽鎖可変領域アミノ酸残基配列によって、定義されうる。

【0188】

用語「同じ特異性を有する」、「同じ結合部位を有する」又は「同じエピトープに結合する」の使用は、同等のモノクローナル抗体が、同じ又は本質的に同じ、すなわち類似の免疫応答（結合）特性を示し、そしてあらかじめ選択された標的結合配列への結合に関して競合することを示す。特定の標的に対する抗体分子の相対的特異性は、競合アッセイによって、相対的に決定可能である（例えば、Harlow, et al., ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988に記載されるように）。

10

【0189】

本明細書で使用される「被験体」という用語は、温血哺乳動物、特にヒト又は非ヒト動物を指すものとする。MRSAは、非常に重要なヒト病原体であり、これはまた、獣医学においても新たに発生している懸念である。それは、広い範囲の非ヒト動物種に存在する。したがって、用語「被験体」は、イヌ、ネコ、ウサギ、ウマ、ウシ、ブタ及び家禽を含む動物もまた特に指す可能性がある。特に、本発明の医学的使用又はそれぞれの治療法は、黄色ブドウ球菌感染に関連する疾患状態の予防又は治療が必要な被験体に適用される。被験体は、黄色ブドウ球菌感染のリスクがあるか、あるいは初期又は後期疾患を含む疾患を患っている患者であってもよい。用語「患者」には、予防的又は治療的処置のいずれかを受けているヒト及び他の哺乳動物被験体が含まれる。用語「治療」は、したがって、予防的及び治療的処置の両方を含むと意図される。

20

【0190】

被験体は、例えば、黄色ブドウ球菌疾患状態の予防又は治療のために処置される。特に、感染の、あるいはこうした疾患又は疾患再発を発症するいずれかのリスクがある被験体、あるいはこうした感染及び／又はこうした感染に関連する疾患を患う被験体が治療される。

【0191】

特に、用語「予防」は、発病（病態形成）の開始の防止又は発病のリスクを減少させる予防的手段を含むよう意図される、防御手段を指す。

30

【0192】

特に、本明細書に記載する被験体における疾患状態を治療するか、防止するか、又は遅延させるための方法は、状態の原因病原体としての黄色ブドウ球菌の病態形成を妨げることにより、ここで病態形成には、例えば特定の病原性因子又は毒素による、被験体の細胞膜上のポア形成工程が含まれる。

【0193】

本明細書で使用される「毒素」という用語は、黄色ブドウ球菌のアルファ毒素（H1a）及び二成分毒素を指すものとする。本発明の抗体によって標的とされる毒素は、毒素（例えば黄色ブドウ球菌によって発現される、可溶性単量体毒素あるいはポア形成毒素の形態等）、又は毒素成分（二成分毒素の成分等）のいずれかであることが、特に理解される。それゆえ、本明細書で使用される「毒素」という用語は、免疫関連エピトープを有する毒素又は毒素成分の両方を指すものとする。

40

【0194】

黄色ブドウ球菌の病原性は、細菌が真核細胞膜に接着することを可能にする表面会合タンパク質、オプソニン化貪食作用から細菌を保護する莢膜多糖類、及びいくつかの外毒素を含む、多くの病原性因子の組み合わせに起因する。黄色ブドウ球菌は、主に、分泌される病原性因子、例えば溶血素、エンテロトキシン及び毒素性ショック症候群毒素の産生を通じて疾患を引き起こす。これらの分泌される病原性因子は、宿主における多くの免疫学的メカニズムを不活性化させることによって、免疫応答を抑制し、そして組織破壊を引き

50

起こし、そして感染確立を補助する。後者は、ポア形成毒素群によって達成され、このうち最も顕著なものが、黄色ブドウ球菌肺炎の重要な病原性因子である H 1 a である。

【 0 1 9 5 】

黄色ブドウ球菌は、この細菌が様々な種類の免疫細胞、特に体の主な防御システムを構成する白血球の亜集団による攻撃に対抗及び抵抗することを可能にする、多様なアレイのさらなる病原性因子及び毒素を産生する。これらの病原性因子及び毒素の産生は、黄色ブドウ球菌が感染状態を維持することを可能にする。これらの病原性因子のうち、黄色ブドウ球菌は、L u k G 及び L u k H ロイコシジン抗原を産生する。

【 0 1 9 6 】

哺乳動物細胞に対するロイコシジンの毒性は、二成分の作用を伴う。最初のサブユニットはクラス S 成分と称され、そして第二のサブユニットはクラス F 成分と称される。S 及び F サブユニットは相乗的に作用して、単球、マクロファージ、樹状細胞及び好中球（まとめて、貪食細胞として知られる）を含む白血球上に孔を形成する。ガンマ溶血素、特に H 1 g A B 及び H 1 g A - L u k D は赤血球にも作用し、L u k E D は T 細胞に作用する。黄色ブドウ球菌によって産生される二成分ロイコトキシンのレパートリーは、F 及び S 成分の同族及び非同族対を含むことが知られている（例えば、ガンマ溶血素、P V L 毒素及び P V L 様毒素、これには H 1 g A B、H 1 g C B、L u k S F、L u k E D、L u k G H、L u k S - H 1 g B、L u k S D、H 1 g A - L u k D、H 1 g A - L u k F、L u k G - H 1 g A、L u k E F、L u k E - H 1 g B、H 1 g C - L u k D 又は H 1 g C - L u k F が含まれる）。

10

20

【 0 1 9 7 】

本明細書で使用される「実質的に純粋」又は「精製された」という用語は、少なくとも 5 0 % (w / w)、好ましくは少なくとも 6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 % 又は 9 5 % の化合物、例えば核酸分子又は抗体を含む調製物を指すものとする。純度は、化合物に適した方法によって測定される（例えばクロマトグラフィ法、ポリアクリルアミドゲル電気泳動、H P L C 分析等）。

【 0 1 9 8 】

本明細書で使用される「治療的に有効な量」という用語は、化合物、例えば本発明の抗体又は免疫原の「有効量」又は「十分量」という用語のいずれとも互換的に用いられ、被験体に投与された際、有益な又は望ましい結果（臨床的な結果を含む）を達成するのに十分な量又は活性であり、そしてこうしたものとして、有効量又はその同義語は、適用される状況によって決まる。

30

【 0 1 9 9 】

有効量は、こうした疾患又は障害を治療するか、予防するか又は阻害するのに十分である化合物の量を意味するよう意図される。疾患の状況において、本明細書に記載する抗体の治療的有効量は、特に、疾患又は状態を治療するか、調節するか、減弱させるか、逆転させるか、又は影響を及ぼすように用いられ、黄色ブドウ球菌又は黄色ブドウ球菌病態形成の阻害による恩恵を受ける。

【 0 2 0 0 】

こうした有効量に対応する化合物の量は、多様な要因、例えば所定の薬剤又は化合物、製剤処方、投与経路、疾患又は障害のタイプ、治療される被験体又は宿主の同一性等に応じて変化するであろうが、にもかかわらず、当業者によってルーチン的に決定可能である。

40

【 0 2 0 1 】

本発明の抗体又は免疫原は、黄色ブドウ球菌感染の開始を阻害するため予防的に用いられてもよく、又は黄色ブドウ球菌感染（特に、抵抗性であることが知られるか、又は特定の被験体において、他の慣用的な抗生物質療法での治療に抵抗性であることが立証されている、M R S A などの黄色ブドウ球菌感染）を治療するために治療的に用いられてもよい。

【 0 2 0 2 】

50

治療の必要があるヒト患者に提供される、本明細書記載の抗体の治療的有効量は、特に、0.5 ~ 50 mg / kg、好ましくは5 ~ 40 mg / kg、さらにより好ましくは最大20 mg / kg、最大10 mg / kg、最大5 mg / kgの範囲であってもよいが、例えば、急性疾患状態を治療するために、より高い用量が指示されてもよい。

【0203】

さらに、治療的有効量の本発明の抗体を用いた被験体の治療又は予防レジメンは、単回投与からなることも可能であるし、あるいは一連の処理を含んでもよい。例えば、抗体を少なくとも1年に1回、少なくとも半年に1回又は少なくとも1ヶ月に1回投与してもよい。しかし、別の態様において、所定の治療のため、1週間に約1回からほぼ毎日の投与で、抗体を被験体に投与してもよい。治療期間の長さは、多様な要因、例えば疾患の重症度、急性又は慢性疾患であるか、患者の年齢、抗体形式の濃度及び活性によって決まる。治療又は予防に用いられる有効投与量は、特定の治療又は予防レジメンの経過に渡って増加させても又は減少させてもよいことも、認識されるであろう。投与量変化は、当該技術分野に知られる標準的診断アッセイによって生じ、そして明らかになりうる。いくつかの例では、長期投与が必要かもしれない。

10

【0204】

黄色ブドウ球菌感染と関連する疾患状態を発症するリスクがある患者に提供される場合などの、本明細書に記載される免疫原の有効量は、特に、1用量あたり、1 ~ 20 mg / kgの範囲であってもよい。

【0205】

例えば、プライム-ブースト免疫化スキームにしたがって、免疫原を最初の用量として投与して、その後、特定の時間枠内で、1以上のブースター用量（単数又は複数）を投与して、黄色ブドウ球菌感染に対する長期持続性の有効な免疫応答を誘導してもよい。好ましいワクチン接種スケジュールは、3回の用量、例えば0日目の最初の用量、5 ~ 40日目の第二の用量、及び10 ~ 100日目の第三の用量、好ましくは0日目、28日目及び90日目の投与を含むであろう。好ましい加速スケジュールにしたがって、投与は0日目、7日目及び14日目であってもよい。加速スケジュールは、予防のため、例えば待機手術に直面している患者のために指示されうる。通常、ミョウバンがアジュバントとして、例えばリン酸塩又は水酸化物として、用いられる。

20

【0206】

特定の側面によれば、本発明は、本明細書で提示される図に詳細に示されるような代表的な抗体、及び、さらに抗体変異体を提供し、当該変異体は、特に、VHおよびVLアミノ酸配列によって形成される特異的結合部位によって、あるいは、図2のHC及びLCアミノ酸配列によって、又はこのようなVH VLドメインによって形成される結合部位によって特徴付けられる親抗体と、本質的に同じエピトープに結合する変異体を含む。そのような抗体は、例えば、親抗体のそれぞれのCDR又は抗体配列を修飾することによって得られる機能的に活性な変異抗体であってもよい。本明細書に記載された任意の抗体配列は、例えば点変異によって変更される可能性がある「親」配列と見なされることが十分に理解される。

30

【0207】

代表的な親抗体は、以下の実施例セクション及び図1・2に記載される。#AB-29、#AB-30、#AB-31、#AB-32、#AB-33、#AB-34、#AB-35、及び#AB-36と称される抗体は、例えば、1以上の修飾CDR配列を有する機能的に活性なCDR変異体、及び1以上の修飾FR配列（例えばFR1、FR2、FR3あるいはFR4の配列）、又は定常ドメイン配列を有する、及び/又は1以上の修飾CDR配列を有する機能的に活性な抗体変異体を産生するための親抗体として使用される。突然変異誘発によって親抗体から誘導された変異抗体は、以下に例証される（図1参照）。これらの変異抗体は、標的抗原に結合し、機能的に活性であると考えられる。変異VHあるいはVLドメイン、又は変異HCあるいはLC鎖、例えば、それぞれのFRあるいはCDR配列内に修飾を有するものも使用可能であり、これらは機能的に活性である。また、本明細

40

50

書に記載された抗体のFRあるいはCDR配列のいくつかを、他の抗体（例えば図1に挙げられた抗体）のそれらで、交換することも可能である。

【0208】

特に、#AB-30-3、#AB-31、#AB-32-6、#AB-34、#AB-34-6、#AB-30-8、#AB-32-9、#AB-34-14、又は#AB-34-15と称される抗体のいずれか、又はその任意の機能的に活性な変異体は、本明細書に提示される配列を使用して、組換え手段によって製造されることができ、任意にさらなる免疫グロブリン配列が、例えばIgG抗体を産生するために用いられる。

【0209】

同じ結合部位を含むさらなる抗体変異体も実現可能である。特に、図2の抗体の可変領域、または少なくとも1つのCDR配列、好ましくは少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つあるいは少なくとも6つのCDR配列、又はそのCDR変異体を含む抗体が提供され、それらは機能的に活性である。より具体的には、図2に示される配列を特徴とする、#AB-30-3、#AB-31、#AB-32-6、#AB-34、#AB-34-6、#AB-30-8、#AB-32-9、#AB-34-14、又は#AB-34-15と称される抗体が提供される。これらの抗体は、例えば、親和性、安定性又は製造可能性を改善するために、機能的に活性な抗体変異体を設計するのに特に有用である。

10

【0210】

ある側面では、本発明はこのような機能的に活性な変異抗体、好ましくはモノクローナル抗体、最も好ましくはヒト抗体を提供し、それらは重鎖及び軽鎖を含んでおり、ここで、重鎖あるいはVH可変領域又はそれぞれのCDRのいずれかは、#AB-30-3、#AB-31、#AB-32-6、#AB-34、#AB-34-6、#AB-30-8、#AB-32-9、#AB-34-14、又は#AB-34-15と称される抗体の1つである親抗体から、少なくとも1つのFR又はCDR配列を修飾することによって、誘導されたアミノ酸配列を含む。

20

【0211】

ある側面では、本発明はこのような機能的に活性な変異抗体、好ましくはモノクローナル抗体、最も好ましくはヒト抗体を提供し、それらは重鎖及び軽鎖を含んでおり、ここで、軽鎖あるいはVL可変領域又はそれぞれのCDRのいずれかは、#AB-30-3、#AB-31、#AB-32-6、#AB-34、#AB-34-6、#AB-30-8、#AB-32-9、#AB-34-14、又は#AB-34-15と称される抗体の1つである親抗体から、少なくとも1つのFR又はCDR配列を修飾することによって、誘導されたアミノ酸配列を含む。

30

【0212】

ある側面では、本発明はこのような変異抗体、好ましくはモノクローナル抗体、最も好ましくはヒト抗体を提供し、それらは重鎖及び軽鎖を含んでおり、ここで、重鎖及び軽鎖、又はVH/VL可変領域、又はそれぞれのCDRのいずれかは、#AB-30-3、#AB-31、#AB-32-6、#AB-34、#AB-34-6、#AB-30-8、#AB-32-9、#AB-34-14、又は#AB-34-15と称される抗体の1つである親抗体から、少なくとも1つのFR又はCDR配列を修飾することによって、誘導されたアミノ酸配列を含む。

40

【0213】

ある面では、本発明は、上記親抗体から誘導された、可変配列及び/又はCDR配列等の、それぞれの結合配列を含む変異抗体も提供し、ここで、結合配列又はCDRは、親抗体から誘導されたアミノ酸配列と、少なくとも60%、好ましくは少なくとも70%、又は少なくとも80%、又は少なくとも90%、又は少なくとも95%、又は少なくとも99%の同一性を有する配列を含み、当該変異体は機能的に活性な変異体である。

【0214】

特に、機能的活性は、LukGH複合体に結合する特異性及び親和性、任意で、個別の

50

L u k G 及び L u k H 抗原のいずれかの結合を上回る L u k G H 複合体への優先的な結合によって決定される（例えば、それぞれの親抗体と同じエピトープ又は実質的に同じエピトープとの結合によって）。

【0215】

抗体は、所定の時点で1つの抗体のみがエピトープに結合可能であるように、抗体が交差競合する場合、すなわち1つの抗体が他方の結合又は調節効果を妨げる場合、「同じエピトープに結合する」か、又は「同じ結合部位を含む」か、又は「本質的に同じ結合」特性を有するとされる。

【0216】

本明細書で使用される「競合する」又は「交差競合する」という用語は、抗体に関して用いられる場合、同族エピトープと第一抗体の結合の結果が、第二抗体の非存在下での第一抗体の結合に比較して、第二抗体の存在下で、検出可能に減少するように、第一抗体、又はその抗原結合部分が、第二抗体、又はその抗原結合部分の結合に十分に類似の方式でエピトープに結合することを意味する。これとは別に、エピトープへの第二抗体の結合がまた、第一抗体の存在下で検出可能に減少する場合もありうるが、そうである必要はない。すなわち、第一抗体は、第二抗体がそれぞれのエピトープに対する第一抗体の結合を阻害することを伴わずに、そのエピトープへの第二抗体の結合を阻害可能である。しかしながら、各抗体が、同じ、より高い又はより低い程度のいずれであっても、同族エピトープとの他の抗体の結合を検出可能に阻害する場合、抗体は、それぞれのエピトープ（単数又は複数）の結合に関して互いに「交差競合する」とされる。競合及び交差競合抗体はどちらも、本発明に含まれる。

10

20

【0217】

本明細書における競合は、例えば実施例セクションに記載されるように、競合 E L I S A 分析で又は F o r t e B i o 分析で決定した際、約 30% より大きい相対阻害を意味する。特定の状況において、例えば競合分析を用いて、黄色ブドウ球菌のさらなる又は他の毒素の結合に目的とする機能を持つように設計される新規抗体を選択するか又はスクリーニングする場合、何が競合の適切なレベルであるかの基準として、相対阻害のより高い閾値を設定することが望ましいかもしれない。したがって、例えば、競合結合に関して、基準を設定することが可能であり、ここで、抗体が十分に競合性であると見なされる前に、少なくとも 40% の相対阻害が検出されるか、あるいは少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90% 又はさらに少なくとも 100% が検出される。

30

【0218】

本明細書に記載されるように、ある面では、本発明は、例えば、L u k G H 複合体又はヘテロダイマーとの結合に関して、# A B - 3 0 - 3、# A B - 3 1、# A B - 3 2 - 6、# A B - 3 4、# A B - 3 4 - 6、# A B - 3 0 - 8、# A B - 3 2 - 9、# A B - 3 4 - 1 4、又は # A B - 3 4 - 1 5 と称される抗体のいずれかと競合する能力によって特徴付けられる、抗体分子を提供する。

【0219】

本発明の好ましい抗体は、前記の個々の抗原に、高い親和性で、特に高いオン及び/又は低いオフ速度で、あるいは高い結合活性で、結合する。抗体の結合親和性は、通常、解離定数 (K_d 又は K_D) として知られる、抗原結合部位の半数が占有される抗体濃度の観点から特徴付けられる。通常、結合剤は、 $K_d < 10^{-8} M$ 、好ましくは $K_d < 10^{-9} M$ で高親和性結合剤と見なされ、さらにより好ましくは $K_d < 10^{-10} M$ である。

40

【0220】

それにもかかわらず、特定の好ましい実施形態において、個々の抗原結合親和性は、例えば少なくとも2つの抗原に結合する際、中程度の親和性である（例えば 10^{-6} 未満、最大 $10^{-8} M$ の K_d を有する）。

【0221】

本発明によれば、好ましくは、親和性成熟プロセスと組み合わせて（必要であれば）、

50

中程度の親和性の結合剤を提供してもよい。

【0222】

親和性成熟は、標的抗原に対して増加した親和性を持つ抗体が産生されるプロセスである。本明細書に開示する、本発明の多様な実施形態にしたがって、親和性成熟抗体を生成するため、当該技術分野で入手可能な親和性成熟ライブラリーを調製し及び/又は用いる、任意の1以上の方法を使用してもよい。代表的な親和性成熟法及び使用(例えばランダム突然変異誘発、細菌ミューター株継代、部位特異的突然変異誘発、変異ホットスポットターゲティング、簡潔(parsimonious)突然変異誘発、抗体シャフリング、軽鎖シャフリング、重鎖シャフリング、CDR1及び/又はCDR1突然変異誘発)、ならびに本明細書に開示する本発明の多様な実施形態にしたがった方法及び使用の実施を受け入れ可能な親和性成熟ライブラリーを作成し用いる方法は、例えば:Prassler et al. (2009); Immunotherapy, Vol. 1(4), pp. 571-583; Sheedy et al. (2007), Biotechnol. Adv., Vol. 25(4), pp. 333-352; WO2012/009568; WO2009/036379; WO2010/105256; US2002/0177170; WO2003/074679に開示されるものを含む。

10

【0223】

抗体の構造変化(アミノ酸突然変異誘発を含む、又は免疫グロブリン遺伝子セグメントにおける体細胞変異の結果として)と共に、抗原に対する結合部位の変異体が産生され、より高い親和性のために選択される。親和性成熟抗体は、親抗体より数10log倍大きい親和性を示しうる。単一の親抗体を親和性成熟に供してもよい。標的抗原に対して類似の結合親和性を持つ抗体の別のプールは、親和性成熟単一抗体又はこうした抗体の親和性成熟プールを得るために変化された親構造と見なされうる。

20

【0224】

本発明にかかる抗体の好ましい親和性成熟変異体は、結合親和性の少なくとも2倍増加、好ましくは少なくとも5、好ましくは少なくとも10、好ましくは少なくとも50、好ましくは少なくとも100倍増加を示す。親分子のそれぞれのライブラリーを使用する選択キャンペーンの経過において、結合親和性 $K_d < 10^{-8}M$ の特異的標的結合特性を有する本発明の抗体を得るため、中程度の結合親和性を有する任意の抗体とともに親和性成熟を使用してもよい。あるいは、本発明にかかる抗体の親和性成熟によって、親和性をさらにより増加させて、 $10^{-9}M$ 未満、好ましくは $10^{-10}M$ 未満、又はさらに $10^{-11}M$ 未満、最も好ましくはピコモル範囲の K_d に対応する高い値を得ることも可能である。

30

【0225】

ある実施形態では、結合親和性は、親和性ELISAアッセイによって測定される。ある実施形態では、結合親和性は、BIACORE、FORTEBIO又はMSDアッセイによって測定される。ある実施形態では、結合親和性は、キネティック法で測定される。ある実施形態では、結合親和性は、平衡/溶液法によって測定される。

【0226】

補体の活性化を使用する別の経路を通じて、食作用性エフェクター細胞を活性化してもよい。微生物上の表面抗原に結合する抗体は、Fc領域との補体カスケードの最初の成分を誘引し、そして「古典的」補体系の活性化を開始する。これらは、食作用性エフェクター細胞の刺激を生じ、これは最終的に、補体依存性細胞傷害性(CDC)によって標的を殺す。

40

【0227】

特定の実施形態によれば、本発明の抗体は、標準的ADCC又はCDCアッセイにおいて測定されるように、免疫エフェクター細胞の存在下で、細胞傷害性活性を有する。コントロールと比較した際、細胞溶解の割合に有意な増加があれば、ADCC又はCDCアッセイのいずれかによって決定される細胞傷害活性を、本発明の抗体に関して示してもよい。ADCC又はCDCに関連する細胞傷害活性は、好ましくは、絶対パーセント増加として測定され、これは好ましくは5%より高く、より好ましくは10%より高く、さらに好ましくは20%より高い。補体固定化は特に関係がある可能性があり、このメカニズムは

50

、形成された免疫複合体の除去によって、感染部位又は血液から毒素を除去できる。

【0228】

特定の実施形態によれば、本発明の抗体は、IgGのFc部によって発揮される免疫調節機能を有する。シアリル化量を増加させる改変グリコシル化（例えば末端ガラクトース残基上の）は、場合によっては、DC-SIGNシグナル伝達を経て抗炎症作用を有する。Ia、IIa及びIII Fcガンマ受容体を超える、優先的なFcガンマ受容体IIb（抑制性）への結合は、場合によっては、抗炎症作用を提供する。

【0229】

本発明は、特に、多重特異性を持つ中和抗体を同定するプロセスによって、例えば交差反応性発見選択スキームによって得られる、交差反応性抗体を提供する。したがって、2つの標的、標的A及びBとの反応性を示す抗体を含む抗体ライブラリーをまず、標的の1つ、例えば標的Aとの反応性に関して選択し、その後、他方の標的、例えば標的Bとの反応性に関して選択してもよい。各連続選択ラウンドは、生じるプールの反応強度を、両方の標的に向けて強化する。したがって、この方法は、2つの異なる標的に対する交差反応性、及び病原体を交差中和する能力を持つ抗体を同定するために特に有用である。当該方法を拡張して、さらなる標的（単数又は複数）に向かう濃縮のさらなるラウンドを含めることによって、さらなる標的に対して反応性を示す抗体を同定することも可能である。

【0230】

交差反応性抗体は、いくつかの例で、単一の抗原に対するスクリーニングを通じて明らかになる。交差反応性クローンを単離する可能性を増加させるため、多数の抗原に対する前進性のスクリーニングによって、多数の選択圧が適用されるであろう。特別なmAb選択戦略は、交互の様式で、異なる毒素成分を使用する。例えば、中和LukGH mAbは、異なる株から得られたLukGH複合体への結合に関して試験される。

【0231】

図3の各配列を使用する組換え技術によって産生される組換え毒素、又は黄色ブドウ球菌培養上清から単離された毒素は、抗体ライブラリー（例えば、酵母ディスプレイ抗体ライブラリー）から抗体を選択するために使用されることができる。これらは、例えば、Blaise L, Wehnert A, Steukers MP, Van den Beucken T, Hoogenboom HR, Hufton SEによる、"Construction and diversification of yeast cell surface displayed libraries by yeast mating: application to the affinity maturation of Fab antibody fragments. *Gene*. 2004 Nov 24;342(2):211-8"; Boder ET, Wittrup KDによる"Yeast surface display for screening combinatorial polypeptide libraries. *Nat Biotechnol*. 1997 Jun;15(6):553-7"; Kuroda K, UEDA Mによる"Cell surface engineering of yeast for applications in white biotechnology. *Biotechnol Lett*. 2011 Jan;33(1):1-9. doi: 10.1007/s10529-010-0403-9"参照。概説; Lauer TM, Agrawal NJ, Chennamsetty N, Egodage K, Helk B, Trout BLによる"Developability index: a rapid in silico tool for the screening of antibody aggregation propensity. *J Pharm Sci*. 2012 Jan;101(1):102-15"; Orcutt K.D.及びWittrup K.D.による(2010), 207-233 doi: 10.1007/978-3-642-01144-3_15; Rakestraw JA, Aird D, Aha PM, Baynes BM, Lipovsek Dによる"Secretion-and-capture cell-surface display for selection of target-binding proteins. *Protein Eng Des Sel*. 2011 Jun;24(6):525-30"; 米国特許第6,423,538号、米国特許第6,696,251号; 米国特許第6,699,658号; 国際公開公報WO2008118476参照。

【0232】

どちらの場合でも、交差反応性は、当該技術分野で知られる抗体最適化法によって、さらに改善されうる。例えば、本明細書記載の免疫グロブリン鎖の可変領域の特定の領域を、軽鎖シャフリング、デスティネーション（destinational）突然変異誘発、CDR融合（amalgamation）、ならびに選択したCDR及び/又はフレームワーク領域の定方向突然変異誘発を含む、1以上の最適化戦略に供してもよい。

【0233】

10

20

30

40

50

所望の中和特性を持つ抗体を同定するためのスクリーニング法は、標的細胞への毒素結合の阻害、二量体又はオリゴマー形成の阻害、孔形成の阻害、細胞溶解の阻害、サイトカイン、リンホカイン、及び任意の炎症促進性シグナル伝達の誘導の阻害、及びノ又は動物に対するインビボ効果（死亡、溶血、オーバーシュート炎症、臓器不全）の阻害であってもよい。例えば標準アッセイを用いて、所望の毒素への直接結合に基づいて、反応性を評価してもよい。

【0234】

所望の特性を有する中和又は交差中和抗体が同定されたら、抗体によって認識される単数又は複数のドミナントエピトープを決定してもよい。エピトープマッピングのための方法は、当該技術分野で周知であり、例えば、"Epitope Mapping: A Practical Approach, Westwood and Hay, eds., Oxford University Press, 2001"に開示されている。

10

【0235】

エピトープマッピングは、抗体が結合するエピトープの同定に関する。タンパク質上のエピトープの位置を決定するために当業者に知られる多くの方法があり、これには、抗体-抗原複合体の結晶学分析、競合アッセイ、遺伝子断片発現アッセイ、及び合成ペプチドに基づくアッセイが含まれる。参照抗体と「同じエピトープに結合する」抗体は、本明細書において、以下の方式で理解される。2つの抗体が、同一であるか又は立体的に重複するエピトープを認識する場合、抗体は、同じ又は本質的に同じ、あるいは実質的に同じエピトープと結合すると称される。2つの抗体が、同一の又は立体的に重複するエピトープに結合するかどうかを決定するための、一般的に用いられる方法は、競合アッセイであり、当該方法は、標識抗原又は標識抗体のいずれかを用いて、多くの異なる形式のすべてで設計可能である。通常、抗原を96ウェルプレート上に固定して、そして放射性又は酵素標識を用いて、非標識抗体が、標識抗体の結合を遮断する能力を測定する。

20

【0236】

望ましい中和又は交差中和特性を有する抗体が同定されたら、抗体フラグメントを含むこうした抗体を、当該技術分野で周知の方法によって産生することも可能であり、例えば、こうした方法には、ハイブリドーマ技術又は組換えDNA技術が含まれる。

【0237】

ハイブリドーマ法では、マウス又は他の適切な宿主動物、例えばハムスターを免疫して、免疫化に用いたタンパク質に特異的に結合するであろう抗体を産生するか又は産生することが可能なリンパ球を誘発する。あるいは、リンパ球をインビトロで免疫化してもよい。その後、適切な融合剤、例えばポリエチレングリコールを用いて、リンパ球を骨髓腫細胞と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成する。

30

【0238】

ハイブリドーマ細胞が増殖している培地を、抗原に対するモノクローナル抗体の産生に関して定量する。好ましくは、免疫沈降によって、又はインビトロ結合アッセイ、例えば放射免疫アッセイ（RIA）又は酵素連結免疫吸着アッセイ（ELISA）によって、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を決定する。

【0239】

組換えモノクローナル抗体は、例えば、必要な抗体鎖をコードするDNAを単離し、そして周知の組換え発現ベクター、例えば抗体配列をコードするヌクレオチド配列を含む本発明のプラスミド又は発現カセット（単数又は複数）を用いて、発現のためのコード配列で、組換え宿主細胞をトランスフェクションすることによって産生可能である。組換え宿主細胞は、上述したもののような、原核及び真核細胞であってもよい。

40

【0240】

特定の側面によれば、遺伝子操作のためにヌクレオチド配列を用いて、抗体をヒト化するか、あるいは抗体の親和性又は他の特性を改善することも可能である。例えば、抗体を臨床試験及びヒトにおける治療に用いる場合、定常領域を操作して、免疫応答を回避するために、ヒト定常領域により似せてもよい。抗体配列を遺伝子操作して、標的毒素に対するより高い親和性及び黄色ブドウ球菌に対するより高い有効性を得ることが望ましい可能

50

性もある。当業者には、1以上のポリヌクレオチド変化を抗体に作製して、なお、標的毒素に対する結合能を維持することが可能であることが明らかであろう。

【0241】

多様な手段による抗体分子産生は、一般的によく理解されている。米国特許6331415 (Cabillyら)は、例えば、単一細胞において、単一のベクターから、又は2つの別個のベクターから、同時に重鎖及び軽鎖が発現される、抗体の組換え産生のための方法を記載する。Wibbenmeyerら(1999, Biochim Biophys Acta 1430(2):191-202)およびLeeとKwak(2003, J. Biotechnology 101:189-198)は、大腸菌の別個の培養において発現されるプラスミドを用いた、別個に産生される重鎖及び軽鎖からのモノクローナル抗体の産生を記載する。抗体産生に関連する様々な他の技術は、例えば、Harlowらによる"ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1988)"において提示される。

10

【0242】

必要に応じて、本発明の抗体、例えば、#AB-30-3、#AB-31、#AB-32-6、#AB-34、#AB-34-6、#AB-30-8、#AB-32-9、#AB-34-14、又は#AB-34-15と称される抗体のいずれかは、配列決定されてもよく、そして、当該ポリヌクレオチド配列はその後、発現あるいは増殖のためのベクター内でクローン化されてもよい。前記抗体をコードする配列は、宿主細胞内のベクター内で維持されてもよく、そして当該宿主細胞はその後、将来の使用のために、増やされ及び凍結されてもよい。細胞培養物における組換えモノクローナル抗体の産生は、当該技術分野において既知の手段によって、B細胞からの抗体遺伝子のクローニングを通じて実施されることができ

20

【0243】

別の側面において、本発明は、本発明の組換え抗体の産生のためのコード配列を含む単離核酸を提供する。

【0244】

別の側面において、本発明は、本発明の組換えエピトープの産生のためのコード配列を含む単離核酸、又は本発明のこうしたエピトープを含む分子を提供する。しかしながら、本発明のエピトープはまた、例えば当該技術分野において周知の合成法のいずれかを通じて、合成的に産生されてもよい。

30

【0245】

抗体又はエピトープをコードする核酸は、任意の適切な特性を有し、そして任意の適切な特徴又はその組み合わせを含むことも可能である。したがって、例えば、抗体又はエピトープをコードする核酸は、DNA、RNA、又はそのハイブリッドの形であってもよく、そしてこれには、非天然存在塩基、修飾主鎖、例えば核酸の安定性を促進するホスホリチオエート主鎖、又はその両方が含まれてもよい。核酸は、好適には、標的宿主細胞(単数又は複数)において所望の発現、複製、及び/又は選択を促進する特徴を含む、本発明の発現カセット、ベクター又はプラスミド中に取り込まれてもよい。こうした特徴の例には、複製起点成分、選択遺伝子成分、プロモーター成分、エンハンサー要素成分、ポリアダニル化配列成分、終結成分等が含まれてもよく、これらの多くの適切な例は既知である。

40

【0246】

本開示はさらに、本明細書記載の1以上のヌクレオチド配列を含む組換えDNA構築物を提供する。これらの組換え構築物を、任意の開示する抗体をコードするDNA分子が挿入されているベクター、例えばプラスミド、ファージミド、ファージ又はウイルスベクターと組み合わせて用いる。

【0247】

培養中の連続細胞株によって抗体分子を産生する任意の方法を用いて、モノクローナル抗体を産生する。モノクローナル抗体を調製するために適した方法の例には、Kohlerらのハイブリドーマ法(1975, Nature 256:495-497)及びヒトB細胞ハイブリドーマ法

50

(Kozbor, 1984, J. Immunol. 133:3001 ; 及び Brodeur et al., 1987, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, (Marcel Dekker, Inc., New York), pp. 51-63) が含まれる。

【0248】

本発明はさらに、本明細書に記載するような抗体又は免疫原及び薬学的に許容されるキャリアー又は賦形剤を含む、医薬組成物を提供する。これらの医薬組成物を、ボーラス注射又は注入として、あるいは持続注入によって、本発明にしたがって投与してもよい。投与のこうした手段を促進するのに適した薬学的キャリアーが当該技術分野において周知である。

【0249】

薬学的に許容されるキャリアーには、一般的に、本発明によって提供される抗体又は関連組成物又は組み合わせと生理学的に適合する、あらゆる適切な溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤等が含まれる。薬学的に許容されるキャリアーのさらなる例には、無菌水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノール等、及びその任意の組み合わせが含まれる。

【0250】

1つのこうした側面において、抗体を、所望の投与経路に適した1以上のキャリアーと組み合わせてもよく、抗体を、例えば、ラクトース、スクロース、デンプン、アルカン酸のセルロースエステル、ステアリン酸、タルク、ステアリン酸マグネシウム、酸化マグネシウム、リン酸及び硫酸のナトリウム及びカルシウム塩、アラビアゴム、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリジン、ポリビニルアルコールのいずれかと混合してもよく、そして場合によって、慣用的投与のため、さらに錠剤化するか又はカプセル化してもよい。あるいは、抗体を、生理食塩水、水、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、カルボキシメチルセルロースコロイド性溶液、エタノール、コーン油、ピーナツ油、綿実油、ゴマ油、トラガカントゴム、及び/又は多様な緩衝剤中に溶解してもよい。他のキャリアー、アジュバント、及び投与様式は、薬学分野において周知である。キャリアーには、徐放物質又は時間遅延物質、例えばモノステアリン酸グリセリル又はジステアリン酸グリセリルのみ、又はワックスと合わせたもの、あるいは当該技術分野に周知の他の物質が含まれてもよい。

【0251】

さらなる薬学的に許容されるキャリアーが当該技術分野において既知であり、例えば、「REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES」に記載される。液体製剤は、溶液、エマルジョン又は懸濁物であることも可能であり、そしてこれには、懸濁剤、溶解剤、界面活性剤、保存剤、及びキレート剤などの賦形剤が含まれてもよい。

【0252】

医薬組成物は、その中に、本発明の抗体又は免疫原及び1以上の治療的活性薬剤が処方されていることが意図される。所望の程度の純度を有する前記免疫グロブリンを、場合によって薬学的に許容されるキャリアー、賦形剤又は安定化剤と、凍結乾燥製剤又は水溶液の形で混合することによって、本発明の抗体又は免疫原の安定な製剤を保存のために調製する。インピボ投与に用いる製剤は、特に、無菌であり、好ましくは無菌水溶液の形である。これは、無菌濾過膜又は他の方法を通じた濾過によって容易に達成される。本明細書に開示する抗体及び他の治療的活性薬剤は、イムノリポソームとして製剤化され、及び/又は微小カプセル中に封入されることも可能である。

【0253】

本発明の抗体又は免疫原を含む医薬組成物の投与を、経口、皮下、静脈内、鼻腔内、耳内 (intraotically)、経皮、粘膜、局所 (例えばジェル、軟膏、ローション、クリーム等)、腹腔内、筋肉内、肺内 (例えば吸入技術又は肺送達系を使用して)、腔内、非経口、直腸、又は眼内を含む多様な経路で行ってもよい。

【0254】

非経口投与に用いられる代表的な製剤には、例えば無菌溶液、エマルジョン又は懸濁物

10

20

30

40

50

のような、皮下、筋内又は静脈内注射に適したものが含まれる。

【0255】

1つの実施形態では、本発明の抗体又は免疫原は、例えば疾患を改変するか又は防止する単独療法として、被験体に投与される、唯一の治療的活性薬剤である。

【0256】

別の実施形態では、本発明の抗体又は免疫原は、例えば疾患を改変するか又は防止する併用療法として、カクテル中でさらなる抗体又は免疫原と併用され、例えば、前記カクテルが被検体に投与される二以上の治療的活性薬剤を含むように、黄色ブドウ球菌を標的とする混合物又はキット内で併用される。

【0257】

あるいは、本発明の抗体又は免疫原を、限定されるわけではないが、標準的治療（例えば抗生物質、ステロイド性及び非ステロイド性炎症阻害剤、及び/又は他の抗体に基づく療法、例えば抗菌又は抗炎症剤を使用する）を含む、1以上の他の治療又は予防剤と組み合わせ投与する。

【0258】

併用療法は、特に、例えばMRSA感染を治療するのに用いられる、標準レジメンを使用する。これには、抗生物質、例えばチゲサイクリン、リネゾリド、メチシリン及び/又はバンコマイシンが含まれる。

【0259】

併用療法では、抗体を混合物として、あるいは1以上の他の治療レジメンと組み合わせ、例えば同時療法の前に、同時に、又は後にのいずれかで投与してもよい。

【0260】

いくつかの場合、免疫原の予防的投与は、本発明の免疫原を含むワクチン、すなわち一価ワクチンを使用してもよい。にもかかわらず、同じ又は異なる標的病原体に対する免疫応答を誘導するため、異なる免疫原を含む多価ワクチンを使用してもよい。

【0261】

本発明の抗体、免疫原又はそれぞれの医薬品の生物学的特性を、細胞、組織、及び全生物実験において、生体外で特徴付けてもよい。当該技術分野で知られるように、薬剤はしばしば、疾患又は疾患モデルに対する治療に関する薬剤の有効性を測定するため、あるいは薬剤の薬物動態、薬力学、毒性、及び他の特性を測定するため、動物（マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、及びサルを含むが、これらに限定されない）において、インビボで試験される。動物は、疾患モデルと称されることも可能である。治療法は、しばしば、限定されるわけではないが、ヌードマウス、SCIDマウス、異種移植マウス、及びトランスジェニックマウス（ノックイン及びノックアウトを含む）を含むマウスで試験される。こうした実験は、能動又は受動免疫療法に際して、適切な半減期、エフェクター機能、（交差）中和活性及び/又は免疫応答を伴う治療剤として又は予防剤として、使用される抗体の能力の決定のための意義あるデータを提供しうる。任意の生物、好ましくは哺乳動物が、試験に使用可能である。例えば、ヒトに対する遺伝的類似性のため、霊長類、サルが適切な療法モデルである可能性もあり、したがって、これらを用いて、対象となる剤又は組成物の有効性、毒性、薬物動態学、薬力学、半減期、又は他の特性を試験することも可能である。ヒトにおける試験は、最終的には、薬剤としての認可に必要であり、したがって、もちろん、これらの実験が熟慮される。したがって、本発明の抗体、免疫原及びそれぞれの医薬組成物を、ヒトにおいて試験して、治療的又は予防的有効性、毒性、免疫原性、薬物動態学、及び/又は他の臨床特性を決定してもよい。

【0262】

本発明はまた、診断目的のため、例えば生物学的液体試料中の免疫試薬又は標的としての毒素又は抗体を検出し、そしてその濃度を定量的に決定する方法において使用するための、本発明の対象抗体も提供する。

【0263】

本発明はまた、生物学的試料、例えば体液において、毒素又は黄色ブドウ球菌感染のレ

10

20

30

40

50

ベルを検出するための方法であって、本発明の抗体と試料を接触させる工程を含む方法も提供する。本発明の抗体を、任意の既知のアッセイ法、例えば競合的結合アッセイ、直接及び間接的サンドイッチアッセイ、免疫沈降アッセイ、ならびに酵素連結免疫吸着アッセイ（ELISA）において使用してもよい。

【0264】

本発明に従って用いられる体液には、被験体の生物学的試料、例えば組織抽出物、尿、血液、血清、便及び痰が含まれる。

【0265】

1つの態様において、方法は、固体支持体を、標的（例えば本発明の抗体によって標的とされる毒素の少なくとも1つ）と複合体を特異的に形成する、特定のタイプの抗体フラグメントの過剰量と、抗体が前記固体支持体の表面に付着するのを可能にする条件下で、接触させる工程を含む。得られた抗体が付着している固体支持体を、次いで、生物学的液体中の標的が抗体に結合し、そして標的-抗体複合体を形成するように、生物学的液体試料と接触させる。複合体を検出可能マーカーで標識してもよい。あるいは、複合体の形成前に、標的又は抗体のいずれかを標識してもよい。例えば、検出可能マーカー（標識）を抗体に抱合させてもよい。その後、複合体を検出し、定量的に決定し、それによって、生物学的液体試料中の標的を検出し、そしてその濃度を定量的に決定することも可能である。

10

【0266】

特定の用途のため、本発明の抗体を、有機分子、酵素標識、放射性標識、着色標識、蛍光標識、発色標識、発光標識、ハプテン、ジゴキシゲニン、ビオチン、金属錯体、金属、コロイド性金及びその混合物からなる群より選択される、標識又はレポーター分子に抱合させる。標識又はレポーター分子に抱合された抗体を、例えばアッセイ系又は診断法において用いて、例えば黄色ブドウ球菌感染又はそれに関連する疾患状態を診断してもよい。

20

【0267】

本発明の抗体を、例えば結合アッセイ（例えばELISA）及び結合研究において、前記抱合体の単純な検出を可能にする他の分子に抱合してもよい。

【0268】

本発明の別の側面は、1以上の抗体に加えて、多様な診断又は治療剤を含んでもよい、抗体含有キットを提供する。キットにはまた、診断又は治療法において使用するための説明書が含まれてもよい。こうした説明書は、例えば、キット中に含まれているデバイス、例えば診断目的のために生物学的試料を調製するための、例えば、疾患を診断するためにそれぞれの毒素（単数又は複数）を測定する前に、細胞及び/又はタンパク質含有分画を分離するためのツール又はデバイス上に提示されてもよい。好適には、こうしたキットには、本明細書記載の多様な診断法の1以上で使用できる抗体及び診断剤又は試薬が含まれる。別の好ましい実施形態では、キットには、抗体（例えば凍結乾燥型の）と、近い将来の投与のために使用前に混合して注射用組成物を形成する薬学的に許容されるキャリアー（単数又は複数）とが組み合わせて含まれる。

30

【0269】

A B - 2 9 と称される抗体は、特に、図1に示されるアミノ酸配列によって特徴付けられ、そしてさらに、図2に挙げられたH C 及びL C 配列によって特徴付けられ、ここで、前記H C 配列は配列番号147として特定され、前記L C 配列は配列番号148として特定される。特に、前記V H C D R 配列は、C D R 1 配列番号2、C D R 2 配列番号4、及びC D R 3 配列番号6として特定され、前記V H F R 配列は、F R 1 配列番号1、F R 2 配列番号3、F R 3 配列番号5、及びF R 4 配列番号7として特定される。前記V L C D R 配列は、C D R 4 配列番号9、C D R 5 配列番号11、及びC D R 6 配列番号13として特定され、前記V L F R 配列は、F R 1 配列番号8、F R 2 配列番号10、F R 3 配列番号12、及びF R 4 配列番号14として特定される。

40

【0270】

A B - 3 0 と称される抗体は、特に、図1に示されるアミノ酸配列によって特徴付け

50

られ、そしてさらに、図 2 に挙げられた H C 及び L C 配列によって特徴付けられ、ここで、前記 H C 配列は配列番号 1 4 9 として特定され、前記 L C 配列は配列番号 1 5 0 として特定される。特に、前記 V H C D R 配列は、C D R 1 配列番号 2 6、C D R 2 配列番号 2 8、及び C D R 3 配列番号 3 0 として特定され、前記 V H F R 配列は、F R 1 配列番号 2 5、F R 2 配列番号 2 7、F R 3 配列番号 2 9、及び F R 4 配列番号 3 1 として特定される。前記 V L C D R 配列は、C D R 4 配列番号 3 2、C D R 5 配列番号 3 3、及び C D R 6 配列番号 3 5 として特定され、前記 V L F R 配列は、F R 1 配列番号 1 8、F R 2 配列番号 2 0、F R 3 配列番号 3 4、及び F R 4 配列番号 1 4 として特定される。

【 0 2 7 1 】

A B - 3 0 - 3、及び # A B - 3 0 - 8 と称される抗体変異体は、# A B - 3 0 の機能的に活性な変異体であり、図 1 に示されるアミノ酸配列、特に、図 1 に記載の各 V H 又は H C 配列、及びさらに V L 又は L C 配列 (F R 及び C D R 配列を含む) によって特徴付けられ、そしてさらに、図 2 に挙げられた H C 及び L C 配列によって特徴付けられる。

【 0 2 7 2 】

A B - 3 1 と称される抗体は、特に、図 1 に示されるアミノ酸配列によって特徴付けられ、そしてさらに、図 2 に挙げられた H C 及び L C 配列によって特徴付けられ、ここで、前記 H C 配列は配列番号 1 5 5 として特定され、前記 L C 配列は配列番号 1 5 6 として特定される。特に、前記 V H C D R 配列は、C D R 1 配列番号 4 7、C D R 2 配列番号 4 9、及び C D R 3 配列番号 5 1 として特定され、前記 V H F R 配列は、F R 1 配列番号 4 6、F R 2 配列番号 4 8、F R 3 配列番号 5 0、及び F R 4 配列番号 5 2 として特定される。前記 V L C D R 配列は、C D R 4 配列番号 5 3、C D R 5 配列番号 2 1、及び C D R 6 配列番号 5 4 として特定され、前記 V L F R 配列は、F R 1 配列番号 1 8、F R 2 配列番号 2 0、F R 3 配列番号 2 2、及び F R 4 配列番号 1 4 として特定される。

【 0 2 7 3 】

A B - 3 2 と称される抗体は、特に、図 1 に示されるアミノ酸配列によって特徴付けられ、そしてさらに、図 2 に挙げられた H C 及び L C 配列によって特徴付けられ、ここで、前記 H C 配列は配列番号 1 5 7 として特定され、前記 L C 配列は配列番号 1 5 8 として特定される。特に、前記 V H C D R 配列は、C D R 1 配列番号 7 1、C D R 2 配列番号 7 2、及び C D R 3 配列番号 7 3 として特定され、前記 V H F R 配列は、F R 1 配列番号 1、F R 2 配列番号 3、F R 3 配列番号 5、及び F R 4 配列番号 7 4 として特定される。前記 V L C D R 配列は、C D R 4 配列番号 7 5、C D R 5 配列番号 4 1、及び C D R 6 配列番号 7 6 として特定され、前記 V L F R 配列は、F R 1 配列番号 1 8、F R 2 配列番号 2 0、F R 3 配列番号 3 4、及び F R 4 配列番号 1 4 として特定される。

【 0 2 7 4 】

A B - 3 2 - 6、及び # A B - 3 2 - 9 と称される抗体変異体は、# A B - 3 2 の機能的に活性な変異体であり、図 1 に示されるアミノ酸配列、特に、図 1 に記載の各 V H 又は H C 配列、及びさらに V L 又は L C 配列 (F R 及び C D R 配列を含む) によって特徴付けられ、そしてさらに、図 2 に挙げられた H C 及び L C 配列によって特徴付けられる。

【 0 2 7 5 】

A B - 3 3 と称される抗体は、特に、図 1 に示されるアミノ酸配列によって特徴付けられ、そしてさらに、図 2 に挙げられた H C 及び L C 配列によって特徴付けられ、ここで、前記 H C 配列は配列番号 1 6 3 として特定され、前記 L C 配列は配列番号 1 6 4 として特定される。特に、前記 V H C D R 配列は、C D R 1 配列番号 8 7、C D R 2 配列番号 8 8、及び C D R 3 配列番号 8 9 として特定され、前記 V H F R 配列は、F R 1 配列番号 2 5、F R 2 配列番号 2 7、F R 3 配列番号 2 9、及び F R 4 配列番号 9 0 として特定される。前記 V L C D R 配列は、C D R 4 配列番号 9 2、C D R 5 配列番号 9 4、及び C D R 6 配列番号 9 6 として特定され、前記 V L F R 配列は、F R 1 配列

10

20

30

40

50

番号 9 1、FR 2 配列番号 9 3、FR 3 配列番号 9 5、及び FR 4 配列番号 1 4 として特定される。

【0276】

AB-34 と称される抗体は、特に、図 1 に示されるアミノ酸配列によって特徴付けられ、そしてさらに、図 2 に挙げられた HC 及び LC 配列によって特徴付けられ、ここで、前記 HC 配列は配列番号 1 6 5 として特定され、前記 LC 配列は配列番号 1 6 6 として特定される。特に、前記 VH CDR 配列は、CDR 1 配列番号 1 0 4、CDR 2 配列番号 1 0 5、及び CDR 3 配列番号 1 0 6 として特定され、前記 VH FR 配列は、FR 1 配列番号 1 2 5、FR 2 配列番号 2 7、FR 3 配列番号 2 9、及び FR 4 配列番号 1 0 7 として特定される。前記 VL CDR 配列は、CDR 4 配列番号 9 2、CDR 5 配列番号 9 4、及び CDR 6 配列番号 1 0 8 として特定され、前記 VL FR 配列は、FR 1 配列番号 9 1、FR 2 配列番号 9 3、FR 3 配列番号 9 5、及び FR 4 配列番号 1 4 として特定される。

10

【0277】

AB-34-14、# AB-34-6、及び # AB-34-15 と称される抗体変異体は、# AB-34 の機能的に活性な変異体であり、図 1 に示されるアミノ酸配列、特に、図 1 に記載の各 VH 又は HC 配列、及びさらに VL 又は LC 配列 (FR 及び CDR 配列を含む) によって特徴付けられ、そしてさらに、図 2 に挙げられた HC 及び LC 配列によって特徴付けられる。

20

【0278】

図 1 又は図 2 で特定される任意の抗体のさらなる変異体、例えば、CDR 変異体及び / 又は CDR もしくは FR 配列のいずれかに変異を有する変異体、特に、前記親抗体の配列をベースとし、且つ 1 以上の点変異を含む変異体、が考えられる。

【0279】

前述の説明は、以下の実施例を参照して、より完全に理解されるであろう。しかしながら、そのような実施例は、単に、本発明の 1 以上の実施形態を実施する方法の代表であり、本発明の範囲を限定すると理解してはならない。

【実施例】

【0280】

実施例 1 . 高親和性で結合する LukGH mAb の生成

30

組換え毒素の生成：

方法；8つの黄色ブドウ球菌毒素 - LukH_TCH1516、LukH_MRSA252、LukH_MSHR1132、LukH_H19、LukG_TCH1516、LukG_MRSA252、LukG_MSHR1132 及び LukG_H19 - が、個別に、または LukGH 複合体として、大腸菌 Tuner DE3 中で組換え的に産生された。成熟タンパク質のための毒素遺伝子 (SignalP 4.1 Server ; <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/> を用いて決定) が大腸菌発現のためにコドン最適化されて、黄色ブドウ球菌株 USA300_TCH1516、MRSA252 および MSHR1132 および H19 の公表されたゲノム配列に基づく遺伝子合成によって生成された。個別の LukH 及び LukG タンパク質 (USA300_TCH1516、MRSA252 及び MSHR1132 変異体の) が、不溶性型でタグ無しで発現され、封入体から単離され、リフォールディングされ、精製された。リフォールディングされた LukH タンパク質は、サイズ排除および陽イオン交換クロマトグラフィーによって精製され、一方、変性 LukG タンパク質が、陽イオン交換クロマトグラフィーによって精製され、続いてリフォールディングされ、リフォールディングされたタンパク質は、pH 10.2 - 11.0 の陰イオン交換によりさらに精製された。4つの LukGH 複合体 (USA300_TCH1516、MRSA252、MSHR1132 及び H19 変異体) が、異なる抗生物質耐性マーカーを含み、LukH 遺伝子または LukG 遺伝子のどちらか保有するを 2つのプラスミドを有する大腸菌の同時形質移入によって産生された。LukG は、複合体の金属アフィニティー精製を可能にするため、N末端に NusA/His₆ を有する融合タンパク質として発現され、

40

50

他方、L u k Hは、タグを伴わない形態で発現された。2つのタンパク質は、可溶性フラクション中で発見され、固定化金属アフィニティークロマトグラフィー（I M C A）によって同時精製された。N u s A / H i s₆タグは、エンテロキナーゼでタンパク質分解的に除去され、タグを伴わない、成熟L u k G H複合体が生じ、これは陽イオン交換クロマトグラフィーによってさらに精製された。前記タンパク質は、S D S - P A G Eによって純度を、サイズ排除クロマトグラフィーによって単量体状態を、インビトロ毒素効力アッセイで機能性を分析された。

【0281】

同時発現は個別のタンパク質を安定化した。個別の成分は、常に大腸菌の不溶性画分中で発現したのに対し、同時発現L u k G Hは、可溶性画分中で発見された。

10

【0282】

S D S - P A G Eは、複合体中のL u k G : L u k Hの化学量論が1 : 1であることを示唆した。溶液中の複合体のサイズを決定するために、我々は、静的光散乱検出器を備えたD y n o P r o N a n o S t a r (W y a t t) 機器を使用する動的光散乱（D L S）測定を利用した。静的光散乱検出器（M W - S）で測定された分子量は、ヘテロダイマーの計算分子量、73 k D aと非常によく一致する。

【0283】

抗体選択のために、タンパク質が、製造者の説明書に従って、アミノ反応性試薬スルホ-N H S - L C ピオチン（Thermo-Scientific）により標識され、1 - 2.5 ピオチン/タンパク質のピオチンレベルが得られた。

20

【0284】

モノクローナル抗体の選択

毒素-特異的抗体は、インビトロ酵母選択システム及び関連方法を使用して、全長ヒトI g G 1抗体ライブラリーから単離された（WO2009/036379A2 ; WO2010105256 ; WO2012009568）。毒素-結合m A bは、ピオチン標識L u k G H _ T C H 1 5 1 6を、抗体発現酵母細胞と様々な濃度でインキュベートすること、続く磁気ビーズ選択(Miltenyi、Biotec)、及びいくつかの連続する選択周期でストレプトアビジン二次試薬を使用する蛍光活性化細胞分取（FACS、FACS Aria II、BD Biosciences）によって濃縮された。濃縮の最終ラウンド後、酵母は選別され、アガープレート上に蒔かれ、クローン分離株が、配列決定及びI g G 産生のために選択された。より高い親和性に関する抗体の最適化は、低濃度の毒素ベイトを使用する選択ラウンドの連続サイクル中で行われ、軽鎖シャフリングおよび重鎖のC D R 1及びC D R 2の標的突然変異誘発によって生成されたサブ-ライブラリーが使用された。

30

【0285】

抗体はその後、選択された酵母クローンによって産生され、プロテインAアフィニティークロマトグラフィーによって精製された。

【0286】

m A bの様々な毒素への結合は、F o r t e B i o O c t e t R e d装置（Pall Life Sciences）を用いたインターフェロメトリー測定によって、確認された。ピオチン化抗原又は抗体をセンサー上に固定し、そして抗体F a bフラグメントの又は抗原の会合及び解離を、それぞれ（典型的には70 ~ 270 n M）、溶液中で測定した。F a b K d親和性は、S e c t o r I m a g e r 2 4 0 0装置（Meso Scale Discovery）を用いたM S D法で測定した。典型的には、20 p Mのピオチン化抗原が、室温で16時間、様々な濃度のF a bとインキュベートされ、非結合抗原は固定化I g G上に捕獲された。例えば、E s t e pらによる“High throughput solution-based measurement of antibody-antigen affinity and epitope binning”，MABs, Vol. 5(2), pp. 270-278 (2013)も参照。

40

【0287】

結果：

L u k G H m A bが、酵母の表面に発現される全長ヒトI g G 1（多様性約 $\sim 10^{-10}$ ）ライブラリーから、抗原としてL u k G H _ T C H 1 5 1 6を用いた選択の連続的な周

50

期において発見された。最終最適化周期から得られた抗体は、L u k G H_ T C H 1 5 1 6 への高い親和性 (< 5 p M F a b M S D K d によって測定)、及び少なくとも2桁低い L u k G_ T C H 1 5 1 6 への親和性を示し (M S D F a b K d および F o r t e B i o 測定によって測定)、且つ、L u k H_ T C H 1 5 1 6 への結合を示さなかった (図 4)。前記抗体は、研究された L u k G H 変異体の間で交差反応性も示し、F o r t e B i o によって測定された際、L u k G H_ T C H 1 5 1 6、L u k G H_ M R S A 2 5 2、L u k G H_ M S H R 1 1 3 2 及び L u k G H_ H 1 9 への同様の親和性を示す (図 4)。

【 0 2 8 8 】

実施例 2 : L u k G H 中和活性に関するヒト m A b の分析

U S A 3 0 0 L u k G H 毒素及び M R S A 2 5 2 及び M S H R 1 1 3 2 の変異毒素に対するヒト m A b の中和活性が、ヒト全血から単離されたヒト P M N または分化型 (好中球様) のどちらかを使用する生存能アッセイで評価された。H L 6 0 細胞 (A T C C C C L - 2 4 0 TM) は、R o m e r o - S t e i n e r によって記載されるように (Clin Dia gn Lab Immunol, 1997:415)、D M F (N, N - ジメチルホルムアミド、1 0 0 m M) を用いて、3 ~ 5 日間、分化された。分化は、文献に記載されている標準的方法 (例えば、Collado-Escobar, Biochem J, 1994:553; Trayner, Leuk Res, 1998:537; Watanabe, J Leuk Biol, 1993:40) にしたがって、プリリアント・パイオレット 4 2 1 抱合抗 - C D 1 1 b (クローン I C R F 4 4、米国、BioLegend社) および P E - 抱合抗 - C D 7 1 モノクローナル抗体 (クローン O K T 9、米国、eBioscience社) を用いた、C D 7 1 の消失及び C D 1 1 b 染色の出現によって測定した。生存能アッセイのために、細胞は、1 0 % F C S、L - グルタミン、及び P e n / S t r e p (= 好中球培地) を補充した R P M I 1 6 4 0 培地 (オーストリア、PAA Laboratories社) 中で再懸濁され、モノクローナル抗体は、好中球培地中で連続的に希釈され、細胞生存率を > 8 0 % 減少させた固定濃度 [使用した細胞の種類と L u k G H 変異体に応じて、0 . 6 9 ~ 4 . 1 1 n M] の毒素と混合された。生存率アッセイは、抗体を L u k G H へ結合させる 3 0 分のプレ-インキュベーション工程の後に開始された。2 5 , 0 0 0 細胞がウェルごとに添加され、続いて 3 7 %、5 % の C O ₂ を有する湿気のある雰囲気中で、4 時間インキュベーションされた。細胞生存率は、製造者の説明書に従って、細胞 A T P レベル (Cell Titer-Glo [登録商標] Luminescent Cell Viability Assay ; 米国、Promega社) の測定によって評価された。以下の式 : 阻害 % = [(正常な活性 - 阻害された活性) / (正常な活性)] × 1 0 0 を用いて、毒素活性の阻害 % が計算された。コントロール m A b (無関係の抗原に対して産生) は、全てのアッセイに含まれた。

【 0 2 8 9 】

結果 :

L u k G H m A b の毒素中和活性は、8 0 % を超える細胞溶解を誘発する固定濃度 (2 . 7 4 n M、2 0 0 n g / m l) の組換え L u k G H_ T C H 1 5 1 6 とのプレインキュベーション後に、0 . 0 3 ~ 2 0 8 n M の m A b 濃度範囲で、好中球様 H L 6 0 細胞について測定された。選択された抗体は、L u k G H 細胞傷害性の阻害が非常に強力であることが証明された。最も有効な m A b は、最大半量溶解濃度 (I C 5 0) における抗体と毒素のモル比が 1 以下になった。例 (A B - 3 1、A B - 3 2 - 6、A B - 3 2 - 9、A B - 3 4、A B - 3 4 - 1 4、A B - 3 4 - 6 及び A B - 3 4 - 1 5 が、図 5 A に示される)。

【 0 2 9 0 】

他の L u k G H 配列変異体への交差反応性を試験するために、選択された抗体が、M R S A 2 5 2 株の L u k G H 変異体の中和について (例 : A B - 2 9 - 2、A B - 3 0 - 3、A B - 3 1、A B - 3 2 - 6、A B - 3 3、A B - 3 4、A B - 3 4 - 1 5 が図 5 B に示される) および M S H R 1 1 3 2 株の L u k G H 変異体の中和について (例 : 図 5 C 中の、A B - 2 9 - 2、A B - 3 0 - 3、A B - 3 1、A B - 3 2 - 6、A B - 3 3、A B - 3 4、A B - 3 4 - 1 5) も試験された。L u k G H_ T C H 1 5 1 6 について見られるように、最も有効な m A b は、M S H 1 1 3 2 及び M R S A 2 5 2 配列変異体の中和に非常に強力であった。

【0291】

実施例6. LukGH: AB-32-9複合体の結晶構造を用いた抗体のエピトープ・マッピング/結合

AB-32-9のFabフラグメントとの複合体中のLukGHの結晶構造から、LukGH分子内のAB-32-9抗体のエピトープ残基が同定された。エピトープは、特異的結合剤、例えばFab残基と接触している(すなわち、PyMol [PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.5.0.4 Schroedinger, LLC]で測定される、任意のその非水素原子間の距離が、4.0以下である)、Fab-毒素界面での毒素残基と定義される。

【0292】

図6に示されるLukGHエピトープは、LukGの縁領域(球で表示)に見受けられ、AB-32-9 Fabの可変領域の軽鎖(黒色カートン)及び重鎖(灰色カートン)両方の残基に結合している。結晶構造から決定されたLukG接触残基(図6、黒球)はアミノ酸: Asn71、Tyr73、Trp74、Asn206、Leu207、Trp208、Lys210、Asp211、Trp262、Phe267。全てのこれらのアミノ酸は、LukGH変異体間で完全に保存されている。

10

【0293】

実施例7. LukGH: Fab AB-32-9複合体の結晶構造を使用した変異アミノ酸のインシリコ分析

LukGHへの結合が向上した変異体を予測するために、LukGHとの複合体におけるAB-32-9 Fabフラグメントの結晶構造を用いて、全ての接触位置のため、並びにFab接触残基のインシリコ突然変異誘発のため、結合エネルギーが計算された。

20

【0294】

構造体は、YASARA (Krieger E, Koraimann G, Vriend G. Increasing the precision of comparative models with YASARA NOVA--a self-parameterizing force field. Proteins. 2002;47(3):393-402)を用いて調製され、イオン及び水分子が取り除かれ、水素が添加され最適化された(最急降下最小化が使用された)。総合結合エネルギーへの各残基の寄与が、Rosettaスコア12・ファンクション(Kaufmann KW, Lemmon GH, Deluca SL, Sheehan JH, Meiler J. Practically useful: what the Rosetta protein modeling suite can do for you. Biochemistry. 2010 Apr 13;49(14):2987-98)を使用して、さらなる最適化なしで計算された。選択された接触位置は、Cys及びProを除くすべてのアミノ酸に変異され、各変異の結合エネルギー変化が以下の表2に示される。

30

【0295】

インシリコ突然変異誘発は、複数のAB-32-9接触残基の変更が、LukGHへの結合の改善をもたらしうることを示した(すなわち、VL CDR4中のN7F、N7Y、S8I、Y9R、VL CDR2中のA1G、VH CDR1中のS1E、S1F、S1H、S1I、S1K、S1L、S1M、S1R、S1V、S1W、S1Y、VH CDR2中のS5R、S5W、S7D、S7M、S7N、S7R、Y9D、Y9H、VH CDR3中のR4D、R4H、M6F、M6H、H7E、H7K、H7Q、H7R)。LukGHへの結合に影響を与えない比較的多数の変異も存在し(G値<0.5)、これらの変異体は、AB-32-9と同様の結合特性を示すことが予期される(表2)。

40

【 1 - 1 】

Fig. 1: Table 1.1a

Group 1									
mab name	A	VH FR1	B	CDR3	C	VH FR2	D	CDR2	
AB-29-1	1	QVQLVQSGKGLVPSQTLISLTCTVSG	15	GSISLSSGGYYWS	3	WTRQHPKQGLLEWIG	4	NIYYSGSTYVNSLKS	
AB-29-2	1	QVQLVQSGKGLVPSQTLISLTCTVSG	15	GSISLSSGGYYWS	3	WTRQHPKQGLLEWIG	4	NIYYSGSTYVNSLKS	
AB-29-3	1	QVQLVQSGKGLVPSQTLISLTCTVSG	15	GSISLSSGGYYWS	3	WTRQHPKQGLLEWIG	4	NIYYSGSTYVNSLKS	
AB-29-4	1	QVQLVQSGKGLVPSQTLISLTCTVSG	15	GSISLSSGGYYWS	3	WTRQHPKQGLLEWIG	4	NIYYSGSTYVNSLKS	
AB-29-5	1	QVQLVQSGKGLVPSQTLISLTCTVSG	15	GSISLSSGGYYWS	3	WTRQHPKQGLLEWIG	4	NIYYSGSTYVNSLKS	

Group 1									
mab name	E	VH FR3	F	VH CDR3	G	VH FR4			
AB-29	5	RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCC	6	ARDVGRWFGNI	7	WGQGTMTVSS			
AB-29-2	5	RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCC	6	ARDVGRWFGNI	7	WGQGTMTVSS			
AB-29-3	5	RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCC	6	ARDVGRWFGNI	7	WGQGTMTVSS			
AB-29-4	5	RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCC	6	ARDVGRWFGNI	7	WGQGTMTVSS			
AB-29-5	5	RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYCC	6	ARDVGRWFGNI	7	WGQGTMTVSS			

【 1 - 2 】

Fig. 1: Table 1.1b

Group 1									
mab name	H	VH FR1	I	VH CDR1	J	VH FR2	K	CDR3	
AB-29	8	EVLTQSPATLSLSPGERATLSC	9	RASGSYSYLA	10	WYQKPKGAPRLITY	11	DAISNRAI	
AB-29-2	8	EVLTQSPATLSLSPGERATLSC	9	RASGSYSYLA	10	WYQKPKGAPRLITY	11	DAISNRAI	
AB-29-3	8	EVLTQSPATLSLSPGERATLSC	9	RASGSYSYLA	10	WYQKPKGAPRLITY	11	DAISNRAI	
AB-29-4	8	EVLTQSPATLSLSPGERATLSC	9	RASGSYSYLA	10	WYQKPKGAPRLITY	11	DAISNRAI	
AB-29-5	8	EVLTQSPATLSLSPGERATLSC	9	RASGSYSYLA	10	WYQKPKGAPRLITY	11	DAISNRAI	

Group 1									
mab name	L	VH FR3	M	CDR3	N	VH FR4			
AB-29	12	GPAPRFSGSGSDTFTLTISSLPEDFATYYC	13	QRQYVHPPT	14	FGGGTKVEIK			
AB-29-2	12	GPAPRFSGSGSDTFTLTISSLPEDFATYYC	13	QRQYVHPPT	14	FGGGTKVEIK			
AB-29-3	12	GPAPRFSGSGSDTFTLTISSLPEDFATYYC	13	QRQYVHPPT	14	FGGGTKVEIK			
AB-29-4	12	GPAPRFSGSGSDTFTLTISSLPEDFATYYC	13	QRQYVHPPT	14	FGGGTKVEIK			
AB-29-5	12	GPAPRFSGSGSDTFTLTISSLPEDFATYYC	13	QRQYVHPPT	14	FGGGTKVEIK			

【 1 - 3 】

Fig. 1: Table 1.2a

Group 2									
mab name	A	VH FR1	B	CDR1	C	VH FR2	D	CDR2	
AB-30-1	25	QVQLVSGAEVKKPGSSVKVCASG	35	GTFSVAIS	27	WVRAAPGQGLLEWIG	36	ETPTFEGANVAQRFDG	
AB-30-2	25	QVQLVSGAEVKKPGSSVKVCASG	35	GTFSVAIS	27	WVRAAPGQGLLEWIG	37	ETPTFEGANVAQRFDG	
AB-30-3	25	QVQLVSGAEVKKPGSSVKVCASG	38	GTFSVAIS	27	WVRAAPGQGLLEWIG	39	VIETPTFEGANVAQRFDG	
AB-30-4	25	QVQLVSGAEVKKPGSSVKVCASG	38	GTFSVAIS	27	WVRAAPGQGLLEWIG	40	ETPTFEGANVAQRFDG	
AB-30-5	25	QVQLVSGAEVKKPGSSVKVCASG	38	GTFSVAIS	27	WVRAAPGQGLLEWIG	40	ETPTFEGANVAQRFDG	
AB-30-6	25	QVQLVSGAEVKKPGSSVKVCASG	38	GTFSVAIS	27	WVRAAPGQGLLEWIG	40	ETPTFEGANVAQRFDG	
AB-30-7	25	QVQLVSGAEVKKPGSSVKVCASG	38	GTFSVAIS	27	WVRAAPGQGLLEWIG	40	ETPTFEGANVAQRFDG	
AB-30-8	145	EQVLVSGAEVKKPGSSVKVCASG	38	GTFSVAIS	27	WVRAAPGQGLLEWIG	39	VIETPTFEGANVAQRFDG	

Group 2									
mab name	E	VH FR3	F	VH CDR3	G	VH FR4			
AB-30	29	RVTIADSTSTAMELSSLSKSDTAVYCC	30	ARDAGCSSTSKCHQVDFY	31	WGQGLTLVTVSS			
AB-30-2	29	RVTIADSTSTAMELSSLSKSDTAVYCC	30	ARDAGCSSTSKCHQVDFY	31	WGQGLTLVTVSS			
AB-30-3	29	RVTIADSTSTAMELSSLSKSDTAVYCC	30	ARDAGCSSTSKCHQVDFY	31	WGQGLTLVTVSS			
AB-30-4	29	RVTIADSTSTAMELSSLSKSDTAVYCC	30	ARDAGCSSTSKCHQVDFY	31	WGQGLTLVTVSS			
AB-30-5	29	RVTIADSTSTAMELSSLSKSDTAVYCC	30	ARDAGCSSTSKCHQVDFY	31	WGQGLTLVTVSS			
AB-30-6	29	RVTIADSTSTAMELSSLSKSDTAVYCC	30	ARDAGCSSTSKCHQVDFY	31	WGQGLTLVTVSS			
AB-30-7	29	RVTIADSTSTAMELSSLSKSDTAVYCC	30	ARDAGCSSTSKCHQVDFY	31	WGQGLTLVTVSS			
AB-30-8	29	RVTIADSTSTAMELSSLSKSDTAVYCC	30	ARDAGCSSTSKCHQVDFY	31	WGQGLTLVTVSS			

【 1 - 4 】

Fig. 1: Table 1.2b

Group 2									
mab name	H	VH FR1	I	VH CDR1	J	VH FR2	K	CDR3	
AB-30-1	18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	31	RASGSISYLN	20	WYQKPKGAPRLITY	33	GLASSLOS	
AB-30-2	18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	32	RASGSISYLN	20	WYQKPKGAPRLITY	33	GLASSLOS	
AB-30-3	18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	32	RASGSISYLN	20	WYQKPKGAPRLITY	33	GLASSLOS	
AB-30-4	18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	32	RASGSISYLN	20	WYQKPKGAPRLITY	33	GLASSLOS	
AB-30-5	18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	32	RASGSISYLN	20	WYQKPKGAPRLITY	33	GLASSLOS	
AB-30-6	18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	32	RASGSISYLN	20	WYQKPKGAPRLITY	33	GLASSLOS	
AB-30-7	18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	32	RASGSISYLN	20	WYQKPKGAPRLITY	33	GLASSLOS	
AB-30-8	18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	32	RASGSISYLN	20	WYQKPKGAPRLITY	33	GLASSLOS	

Group 2									
mab name	L	VH FR3	M	CDR3	N	VH FR4			
AB-30	34	GPVSRFSGSQSDTFTLTISLQPEDFATYYC	35	QAQYVPPMT	14	FGGGTKVEIK			
AB-30-2	34	GPVSRFSGSQSDTFTLTISLQPEDFATYYC	35	QAQYVPPMT	14	FGGGTKVEIK			
AB-30-3	34	GPVSRFSGSQSDTFTLTISLQPEDFATYYC	35	QAQYVPPMT	14	FGGGTKVEIK			
AB-30-4	34	GPVSRFSGSQSDTFTLTISLQPEDFATYYC	35	QAQYVPPMT	14	FGGGTKVEIK			
AB-30-5	34	GPVSRFSGSQSDTFTLTISLQPEDFATYYC	35	QAQYVPPMT	14	FGGGTKVEIK			
AB-30-6	34	GPVSRFSGSQSDTFTLTISLQPEDFATYYC	35	QAQYVPPMT	14	FGGGTKVEIK			
AB-30-7	34	GPVSRFSGSQSDTFTLTISLQPEDFATYYC	35	QAQYVPPMT	14	FGGGTKVEIK			
AB-30-8	34	GPVSRFSGSQSDTFTLTISLQPEDFATYYC	35	QAQYVPPMT	14	FGGGTKVEIK			

【 1 - 5 】

Fig. 1: Table 2.2b

Group 2	m/b name	VH FR	CDR1	CDR2	VH FR	CDR3	VH FR	CDR4	VH FR
AB-30	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	32	IASRSQSSYLN	20	WYQKPGKAPKLLIY	33	IASLSLQS	33
AB-30-2	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	32	IASRSQSSYLN	20	WYQKPGKAPKLLIY	33	IASLSLQS	33
AB-30-3	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	32	IASRSQSSYLN	20	WYQKPGKAPKLLIY	33	IASLSLQS	33
AB-30-4	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	32	IASRSQSSYLN	20	WYQKPGKAPKLLIY	33	IASLSLQS	33
AB-30-5	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	32	IASRSQSSYLN	20	WYQKPGKAPKLLIY	33	IASLSLQS	33
AB-30-6	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	32	IASRSQSSYLN	20	WYQKPGKAPKLLIY	33	IASLSLQS	33
AB-30-7	44	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	32	IASRSQSSYLN	20	WYQKPGKAPKLLIY	33	IASLSLQS	33
AB-30-8	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	32	IASRSQSSYLN	20	WYQKPGKAPKLLIY	33	IASLSLQS	33

【 1 - 6 】

Fig. 1: Table 1.3a

Group 3	m/b name	VH FR	CDR1	CDR2	VH FR	CDR3	VH FR	CDR4	VH FR
AB-31	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	47	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	49	GTSMWSGSIAYADSVKIG	49
AB-31-2	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	55	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	56	GTSMWSGSIAYADSVKIG	56
AB-31-3	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	57	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	58	GTSMWSGSIAYADSVKIG	58
AB-31-4	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	59	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	60	GTSMWSGSIAYADSVKIG	60
AB-31-5	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	61	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	62	GTSMWSGSIAYADSVKIG	62
AB-31-6	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	63	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	64	GTSMWSGSIAYADSVKIG	64
AB-31-7	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	64	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	65	GTSMWSGSIAYADSVKIG	65
AB-31-8	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	64	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	66	GTSMWSGSIAYADSVKIG	66
AB-31-9	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	64	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	66	GTSMWSGSIAYADSVKIG	66
AB-31-10	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	64	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	66	GTSMWSGSIAYADSVKIG	66
AB-31-11	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	64	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	66	GTSMWSGSIAYADSVKIG	66
AB-31-12	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	64	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	66	GTSMWSGSIAYADSVKIG	66
AB-31-13	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	64	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	66	GTSMWSGSIAYADSVKIG	66
AB-31-14	46	EVQLVESGGGLVQPGISLRISCAASG	64	FTFDYVAMH	48	WYRQAPKGLLEWIS	66	GTSMWSGSIAYADSVKIG	66

【 1 - 7 】

Fig. 1: Table 1.3b

Group 3	m/b name	VH FR	CDR1	CDR2	VH FR	CDR3	VH FR	CDR4	VH FR
AB-31	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	53	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-2	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	53	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-3	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	53	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-4	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	53	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-5	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	53	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-6	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	53	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-7	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	53	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-8	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	53	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-9	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	53	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-10	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	67	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-11	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	19	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-12	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	19	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-13	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	19	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21
AB-31-14	18	DIQMTQSPFSLASVGRVITTC	19	QASQSDIYIN	20	WYQKPGKAPKLLIY	21	DASNLET	21

【 1 - 8 】

Fig. 1: Table 1.4a

Group 4	m/b name	VH FR	CDR1	CDR2	VH FR	CDR3	VH FR	CDR4	VH FR
AB-32	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-1	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-2	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-3	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-4	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-5	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-6	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-7	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-8	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-9	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-10	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-11	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-12	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-13	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14
AB-32-14	32	QVPSRFSGSGLDFTFLISSLPQIEDIATYIC	54	QQQPVVPT	14	FGGGTVEIK	14	FGGGTVEIK	14

【 1 - 9 】

Fig. 1: Table 1.4b

Group 4	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	
AB-32	18	DIWMTQSPFSLASVAGDRVITTC	75	RASQSIINSYLN	20	WYQQRKPSGAKPALLY	41	AASSLQSS												
AB-32.2	18	DIWMTQSPFSLASVAGDRVITTC	75	RASQSIINSYLN	20	WYQQRKPSGAKPALLY	41	AASSLQSS												
AB-32.3	18	DIWMTQSPFSLASVAGDRVITTC	75	RASQSIINSYLN	20	WYQQRKPSGAKPALLY	41	AASSLQSS												
AB-32.4	18	DIWMTQSPFSLASVAGDRVITTC	75	RASQSIINSYLN	20	WYQQRKPSGAKPALLY	41	AASSLQSS												
AB-32.5	18	DIWMTQSPFSLASVAGDRVITTC	75	RASQSIINSYLN	20	WYQQRKPSGAKPALLY	41	AASSLQSS												
AB-32.6	18	DIWMTQSPFSLASVAGDRVITTC	75	RASQSIINSYLN	20	WYQQRKPSGAKPALLY	41	AASSLQSS												
AB-32.7	18	DIWMTQSPFSLASVAGDRVITTC	75	RASQSIINSYLN	20	WYQQRKPSGAKPALLY	41	AASSLQSS												
AB-32.8	18	DIWMTQSPFSLASVAGDRVITTC	75	RASQSIINSYLN	20	WYQQRKPSGAKPALLY	41	AASSLQSS												
AB-32.9	18	DIWMTQSPFSLASVAGDRVITTC	75	RASQSIINSYLN	20	WYQQRKPSGAKPALLY	41	AASSLQSS												
Group 4																				
AB-32	34	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	76	QQQDFDPPT	14	FGGGTVEIK														
AB-32.2	34	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	76	QQQDFDPPT	14	FGGGTVEIK														
AB-32.3	34	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	76	QQQDFDPPT	14	FGGGTVEIK														
AB-32.4	34	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	76	QQQDFDPPT	14	FGGGTVEIK														
AB-32.5	34	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	76	QQQDFDPPT	14	FGGGTVEIK														
AB-32.6	34	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	76	QQQDFDPPT	14	FGGGTVEIK														
AB-32.7	34	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	76	QQQDFDPPT	14	FGGGTVEIK														
AB-32.8	34	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	76	QQQDFDPPT	14	FGGGTVEIK														
AB-32.9	34	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	76	QQQDFDPPT	14	FGGGTVEIK														

【 1 - 10 】

Fig. 1: Table 1.5a

Group 5	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	
AB-33	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	87	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	88	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-33.2	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	87	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	88	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-33.3	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	87	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	88	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-33.4	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	87	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	88	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-33.5	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	87	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	88	GIPTIEGAAVAQKFG																			
Group 5																											
AB-33	29	RVITTTADESTAYMELSSLRSEDTAVYTC	89	ARGTVAADHLYFDL	90	INRGRTLVTVSS																					
AB-33.2	29	RVITTTADESTAYMELSSLRSEDTAVYTC	89	ARGTVAADHLYFDL	90	INRGRTLVTVSS																					
AB-33.3	29	RVITTTADESTAYMELSSLRSEDTAVYTC	89	ARGTVAADHLYFDL	90	INRGRTLVTVSS																					
AB-33.4	29	RVITTTADESTAYMELSSLRSEDTAVYTC	89	ARGTVAADHLYFDL	90	INRGRTLVTVSS																					
AB-33.5	29	RVITTTADESTAYMELSSLRSEDTAVYTC	89	ARGTVAADHLYFDL	90	INRGRTLVTVSS																					

【 1 - 11 】

Fig. 1: Table 1.5b

Group 5	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	
AB-33	91	DIWMTQSPFSLAVTPEPAASISCC	92	RSQSQSLLYSNGNYLID	93	IYTLQKPGQSPQLLY	94	LSGNRAAS												
AB-33.2	91	DIWMTQSPFSLAVTPEPAASISCC	92	RSQSQSLLYSNGNYLID	93	IYTLQKPGQSPQLLY	94	LSGNRAAS												
AB-33.3	91	DIWMTQSPFSLAVTPEPAASISCC	92	RSQSQSLLYSNGNYLID	93	IYTLQKPGQSPQLLY	94	LSGNRAAS												
AB-33.4	91	DIWMTQSPFSLAVTPEPAASISCC	92	RSQSQSLLYSNGNYLID	93	IYTLQKPGQSPQLLY	94	LSGNRAAS												
AB-33.5	91	DIWMTQSPFSLAVTPEPAASISCC	92	RSQSQSLLYSNGNYLID	93	IYTLQKPGQSPQLLY	94	LSGNRAAS												
Group 5																				
AB-33	95	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	96	IQALQGLT	14	FGGGTVEIK														
AB-33.2	95	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	96	IQALQGLT	14	FGGGTVEIK														
AB-33.3	95	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	96	IQALQGLT	14	FGGGTVEIK														
AB-33.4	95	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	96	IQALQGLT	14	FGGGTVEIK														
AB-33.5	95	GVPRFSGSGSGLDFTLITSSLPEDFATYTC	96	IQALQGLT	14	FGGGTVEIK														

【 1 - 12 】

Fig. 1: Table 1.6a

Group 6	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	
AB-34	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.2	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.3	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.4	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.5	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.6	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.7	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.8	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.9	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.10	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.11	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.12	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.13	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.14	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
AB-34.15	25	QVQLVQSGAEVKKPKSSVKVSKCASKG	104	GFPSMAIS	27	IYRQAPRQGLEMMG	105	GIPTIEGAAVAQKFG																			
Group 6																											
AB-34	29	RVITTTADESTAYMELSSLRSEDTAVYTC	106	ARAREGDDPYGMV	107	MGQGITVTVSS																					
AB-34.2	29	RVITTTADESTAYMELSSLRSEDTAVYTC	106	ARAREGDDPYGMV	107	MGQGITVTVSS																					
AB-34.3	29	RVITTTADESTAYMELSSLRSEDTAVYTC	106	ARAREGDDPYGMV	107	MGQGITVTVSS																					
AB-34.4	29	RVITTTADESTAYMELSSLRSEDTAVYTC	106	ARAREGDDPYGMV	107	MGQGITVTVSS																					
AB-34.5	29	RVITTTADE																									

【 1 - 17 】

Fig. 1: Table 1.8b

Group 8	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z
AB-36	91	DI	VT	Q	PS	LI	SV	PT	GP	EA	SI	VC	AS	IS	W	Y	Q	Q	Q
AB-36-2	91	DI	VT	Q	PS	LI	SV	PT	GP	EA	SI	VC	AS	IS	W	Y	Q	Q	Q
AB-36-3	91	DI	VT	Q	PS	LI	SV	PT	GP	EA	SI	VC	AS	IS	W	Y	Q	Q	Q
AB-36-4	91	DI	VT	Q	PS	LI	SV	PT	GP	EA	SI	VC	AS	IS	W	Y	Q	Q	Q
AB-36-5	91	DI	VT	Q	PS	LI	SV	PT	GP	EA	SI	VC	AS	IS	W	Y	Q	Q	Q

【 1 - 18 】

Fig. 1 (continued) Table 2.

Region	Number	AA	A	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	O	R	S	T	V	W	Y
VL CD84	7	N	0.05	-0.02	-0.41	-0.53	0.27	-0.22	0.53	-0.13	-1.47	-0.01	0	-0.13	-0.02	0.16	0.76	0.33	-1.02	-0.54
VL CD85	1	A	0	-0.02	0.21	0.01	0.01	-0.08	-1.03	-0.13	0	0	0	-0.07	-0.05	-0.17	0	-0.01	-0.42	-1.35
VL CD86	4	F	1.28	1.02	0.79	0	1.45	0.1	0.69	1.17	0.75	0.37	0.99	0.72	1.17	1.28	1.1	1.06	0.22	0.02
VH CD81	7	S	-0.03	-0.06	-1.74	-1.41	0.3	-0.74	-0.55	-0.94	-0.58	-1.2	-0.25	-0.27	-0.87	0	-0.22	-0.53	-2.17	-1.05
VH CD82	1	N	0.44	0.11	-0.43	-1.72	0.65	-1.12	0.63	0.97	0.02	0.82	0	3.17	2.57	0.42	0.14	-0.16	9.27	-1.73
	3	Y	0.99	0.67	0.88	1.13	1.14	-0.28	1.11	2.2	4.96	0.31	0.75	0.81	0.66	0.69	-0.01	0.83	-0.3	0
	5	S	0.45	0.61	0.39	-0.23	0.52	0.04	0.26	0.13	0.27	-0.28	-1.15	0.33	-0.71	0	0.07	0.48	-1.62	-0.29
	7	S	1.01	-0.5	0.77	0.43	1.06	-0.15	1.33	-0.04	0.37	-0.55	-0.67	0.64	-0.94	1.39	1.6	0.06	0.52	0
	9	Y	1.03	-0.75	0.38	-0.22	1.67	-1.44	0.93	0.78	1.17	1.06	-0.02	0.96	0.77	-0.05	1.8	2.94	0.31	0
VH CD83	3	E	2.05	2.01	0	1.35	2.69	1.7	1.83	3.29	1.83	1.6	1.95	1.9	4.92	2.04	2.04	2.02	2.26	0.54
	4	R	-0.33	-0.58	-0.05	0.49	-0.3	0.34	0.08	-0.1	0.28	-0.16	0.2	-0.05	0	-0.35	0.28	0.1	0.05	0.51
	6	G	0.38	2	3.99	0.14	0	9.32	3.83	6.48	3.24	3.32	4.74	6.38	4.9	0.75	2.05	1.07	9.35	0.37
	7	H	0.09	-0.09	-0.56	-0.8	0.33	0	-0.01	-0.63	0.14	-0.42	-0.4	-0.6	-0.58	0.03	0.34	0.35	-1.73	-1.98

【 2 - 1 】

Fig. 2

Variable region VH or VL: **BOLD AND UNDERLINED CAPS LETTERS**
Constant region: NORMAL CAPS LETTERS

AB-29 HC: (SEQ ID 147)

QVQLVQSGQGLVLPKPSQTLSTCTVSGGSIYVNGMYWYRQHPGKLEWIGNIIYSGTYNPNLSKRVTISVDTS
KNOFSLKSSVTAADTAVYICARDAGCSSTCHDKVYFDYWGQTLVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTEVTCVVDVSHEDPEVFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVSNVHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

AB-29 LC: (SEQ ID 148)

EVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFSGSGSGDTFTLTISL
PEDEAVYFCQQRYMPPPTFGGGTKVEIKRRTVAAPSFIFFPSSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVNDNALQ
GNSQSQSVTEQDSKSTYSLSLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFRNGEC

AB-30 HC: (SEQ ID 149)

QVQLVQSGAEVKKPKGSSVVKSCAKSGGTSYSAISWVRAQPGQLEWIGNIEPIGFANYAQKFGQGRVITADES
ISTAYMELSLRSEDVAVYICARDAGCSSTCHDKVYFDYWGQTLVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTEVTCVVDVSHEDPEVFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVSNVHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

AB-30 LC: (SEQ ID 150)

DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQSIYLNWYQQKPKAPKLIYVASSLQSGVPSRFSGGSGDTFTLTISL
QPEDFATYICQQAYPPPTFGGGTKVEIKRRTVAAPSFIFFPSSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVNDNALQ
GNSQSQSVTEQDSKSTYSLSLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFRNGEC

AB-30-3 HC: (SEQ ID 151)

QVQLVQSGAEVKKPKGSSVVKSCAKSGGTSYSAISWVRAQPGQLEWIGNIEPIGFANYAQKFGQGRVITADES
ISTAYMELSLRSEDVAVYICARDAGCSSTCHDKVYFDYWGQTLVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTEVTCVVDVSHEDPEVFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVSNVHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

AB-30-3 LC: (SEQ ID 152)

DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQSIYLNWYQQKPKAPKLIYVASSLQSGVPSRFSGGSGDTFTLTISL
QPEDFATYICQQAYPPPTFGGGTKVEIKRRTVAAPSFIFFPSSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVNDNALQ
GNSQSQSVTEQDSKSTYSLSLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFRNGEC

【 2 - 2 】

Fig. 2 (continued)

AB-30-8 HC: (SEQ ID 153)

EVQLVQSGAEVKKPKGSSVVKSCAKSGGTSYSAISWVRAQPGQLEWIGNIEPIGFANYAQKFGQGRVITADES
ISTAYMELSLRSEDVAVYICARDAGCSSTCHDKVYFDYWGQTLVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTEVTCVVDVSHEDPEVFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVSNVHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

AB-30-8 LC: (SEQ ID 154)

DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQSIYLNWYQQKPKAPKLIYVASSLQSGVPSRFSGGSGDTFTLTISL
QPEDFATYICQQAYPPPTFGGGTKVEIKRRTVAAPSFIFFPSSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVNDNALQ
GNSQSQSVTEQDSKSTYSLSLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFRNGEC

AB-31 HC: (SEQ ID 155)

EVQLVQSGGLVQPGSRLSLSAASGFTFYDNNMHWVRAQPGKLEWIGNIIYSGTYNPNLSKRVTISVDTSK
AKNSLYLQMNLSRAEDTALYCAKAKGTAFDIWGGQTLVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTEVTCVVDVSHEDPEVFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVSNVHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

AB-31 LC: (SEQ ID 156)

DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQSIYLNWYQQKPKAPKLIYVASSLQSGVPSRFSGGSGDTFTLTISL
QPEDFATYICQQAYPPPTFGGGTKVEIKRRTVAAPSFIFFPSSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVNDNALQ
GNSQSQSVTEQDSKSTYSLSLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFRNGEC

AB-32 HC: (SEQ ID 157)

QVQLVQSGGLVQPGSRLSLSAASGFTFYDNNMHWVRAQPGKLEWIGNIIYSGTYNPNLSKRVTISVDTSK
AKNSLYLQMNLSRAEDTALYCAKAKGTAFDIWGGQTLVTVSSASTKGPSVFLPAPSSKTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTEVTCVVDVSHEDPEVFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVSNVHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

AB-32 LC: (SEQ ID 158)

DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQSIYLNWYQQKPKAPKLIYVASSLQSGVPSRFSGGSGDTFTLTISL
QPEDFATYICQQAYPPPTFGGGTKVEIKRRTVAAPSFIFFPSSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVNDNALQ
GNSQSQSVTEQDSKSTYSLSLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFRNGEC

【 図 2 - 3 】

Fig. 2 (continued)

AB-32-6 HC: (SEQ ID 159)
 QLQLQESGPGLVKPSSETLTLCTVSGGSSGSSYYWDIRQPPGKLEWIGNIYKSGTYNPSLKRVTISVDTSKN
 QFSLKLSVTAADTAIVYCARERGMHYMDVWGKTTTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
 PVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTRKDKVPEKSCDKHTHTCP
 PELLGGPSVFLFPPKPKDMLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVFNWVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTV
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
 ENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHLEALHNHYTQKLSLSLSPGK
 AB-32-6 LC: (SEQ ID 160)
 DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQINSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGDTFTLTISSL
 QPEDFATYYCQQQFDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVNDALQ
 SGNQSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFNRGEC

AB-32-9 HC: (SEQ ID 161)
 ELQLQESGPGLVKPSSETLTLCTVSGGSSGSSYYWDIRQPPGKLEWIGNIYKSGTYNPSLKRVTISVDTSKN
 QFSLKLSVTAADTAIVYCARERGMHYMDVWGKTTTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
 PVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTRKDKVPEKSCDKHTHTCP
 PELLGGPSVFLFPPKPKDMLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVFNWVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTV
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
 ENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHLEALHNHYTQKLSLSLSPG
 AB-32-9 LC: (SEQ ID 162)
 DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQINSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGGDTFTLTISSL
 QPEDFATYYCQQQFDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVNDALQ
 SGNQSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFNRGEC

AB-33 HC: (SEQ ID 163)
 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKCKASGDTWISGAIWVROAPGQGLEWVGGIIPIFGPANYAQKFGQGRVITADES
 STAYMELSLRSEDTAVYYCARAREGDDPYGMVWGGQTTTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
 DYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTRKDKVPEKSCDKHTHTCP
 PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDMLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVFNWVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSV
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHLEALHNHYTQKLSLSLSPGK
 AB-33 LC: (SEQ ID 164)
 DIVMTQSPSLPVTGPEPASICRSSQSLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYASNRASGVPDRFSGSGGDTFTL
 KISRVEADVGVYVYCMQARLFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVNDALQ
 SGNQSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFNRGEC

【 図 2 - 5 】

Fig. 2 (continued)

AB-34-15 HC: (SEQ ID 171)
 EVQLVQSGAEVKKPGSSVKCKASGDTWISGAIWVROAPGQGLEWVGGIIPIFGDAVYAQKFGQGRVITADES
 STAYMELSLRSEDTAVYYCARAREGDDPYGMVWGGQTTTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
 DYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTRKDKVPEKSCDKHTHTCP
 PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDMLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVFNWVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSV
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHLEALHNHYTQKLSLSLSPG
 AB-34-15 LC: (SEQ ID 172)
 DIVMTQSPSLPVTGPEPASICRSSQSLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYASNRASGVPDRFSGSGGDTFTL
 KISRVEADVGVYVYCMQARLFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVNDALQ
 SGNQSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFNRGEC

【 図 2 - 4 】

Fig. 2 (continued)

AB-34 HC: (SEQ ID 165)
 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKCKASGDTWISGAIWVROAPGQGLEWVGGIIPIFGDAVYAQKFGQGRVITADES
 STAYMELSLRSEDTAVYYCARAREGDDPYGMVWGGQTTTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
 DYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTRKDKVPEKSCDKHTHTCP
 PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDMLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVFNWVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSV
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHLEALHNHYTQKLSLSLSPGK
 AB-34 LC: (SEQ ID 166)
 DIVMTQSPSLPVTGPEPASICRSSQSLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYASNRASGVPDRFSGSGGDTFTL
 KISRVEADVGVYVYCMQARLFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVNDALQ
 SGNQSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFNRGEC

AB-34-14 HC: (SEQ ID 167)
 EVQLVQSGAEVKKPGSSVKCKASGDTWISGAIWVROAPGQGLEWVGGIIPIFGDAVYAQKFGQGRVITADES
 STAYMELSLRSEDTAVYYCARAREGDDPYGMVWGGQTTTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
 DYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTRKDKVPEKSCDKHTHTCP
 PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDMLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVFNWVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSV
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHLEALHNHYTQKLSLSLSPG
 AB-34-14 LC: (SEQ ID 168)
 DIVMTQSPSLPVTGPEPASICRSSQSLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYASNRASGVPDRFSGSGGDTFTL
 KISRVEADVGVYVYCMQARLFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVNDALQ
 SGNQSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFNRGEC

AB-34-6 HC: (SEQ ID 169)
 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKCKASGDTWISGAIWVROAPGQGLEWVGGIIPIFGDAVYAQKFGQGRVITADES
 STAYMELSLRSEDTAVYYCARAREGDDPYGMVWGGQTTTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
 DYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTRKDKVPEKSCDKHTHTCP
 PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDMLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVFNWVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSV
 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIETKISKAKQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHLEALHNHYTQKLSLSLSPGK
 AB-34-6 LC: (SEQ ID 170)
 DIVMTQSPSLPVTGPEPASICRSSQSLYSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYASNRASGVPDRFSGSGGDTFTL
 KISRVEADVGVYVYCMQARLFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWVKVNDALQ
 SGNQSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFNRGEC

【 図 3 - 1 】

Fig. 3

LukH USA300 TCH1516 nucleotide sequence (SEQ ID 173)
 AACTGGCTCATAAAGATAGTCAGGATCAAAATAAAAAAGAACACCTGGATTAATCAACAAGAAAGATAAACC
 CAATGTACCAATAAAGATAAATAAGACCCGACCCGATGACATTTGGCAAAAACGTAATACCAACCAACGTA
 CCGAAACGGTGTATGATGAAAAACGAATATTCTGCAGAACCTGCAATTTGATTCATGATGACCCGACCTACG
 ACAAAAATGTGCTGCTGGTTAAAAACAGGGCAGCATTCTTAACTCAAAATGGAAGTACAAAAGAAAG
 AAAAACTCAACTGCTGCTGAAATATCCGTCAGATACCTGTCGATTTCCAGGTGAACGTAATCGCAAAACCGAA
 ATTCTGGCAACTGCCGAAAAACAAATCACTACCCCAAGTGTAGTACGTTTCTTATAGCTCTGCGCGT
 AAATTCGACTCTACCAAGGACTGCTGCTACGAGTTCACCTCATACTCGAAAACCTCTGCTACCAACGAA
 AACTACGATACGATCGCAAGCGGCAAAAACATAAATCGCATGTTCTGCTGCTCAATGCTAACGATCTGAA
 TATGGCGGTGAATTAATAATCGCAAGCAAGTCTGCTTTTACCGAATACCGCATCGGACGGTCAAAA
 CCGGAACTGCTATTGCTGCAAAATATGTTACCGGCGCTGCTGCTGCTGCTTAAATCCGGAATTCGAA
 TACTGAGCAACGAAAATCTAACGAAAACCGAGTCAAGTCACTACGCGTAAATCAAGATATCTGAA
 AACCGTCCGCGATTCTACTACCGACCCGATCTGCGGAGAAAACAAAGATGCTGACGCGCTGCTGACCTA
 TGAAGTTGACTGAAAAACAAACCGTGAAGTGTGACAAATCTCGGACGACAAATACCGTCAACAAAGAA
 GGT

LukH USA300 TCH1516 aminoacid sequence (SEQ ID 174)
 NSAHKDSQDQNKKEHVDKSKQDKRNVTKDKNSTAPDIGNKIKRTETVDEKTIQLNQLQDFDIDPDTYDKN
 VLLWKKGSHMSLKFESHKEKSNWLVKYPSEVDFVQRNKRTEILDQLPKNKIKAVDSTYSYGGKDFDSTKGI
 GRTSSNSYKSTISYNNQYDITASGKNNWVHWVSIANDLKYGEVNRNDELLFRNTRIAVYENPELFSKYRY
 PALVRSFNGPEFLITLSNEKSNKQFQVETVTRNQDILKRNPIHYAPPILEKNQDGRILVYEVWVKNTKVVQVYS
 DDNKPKYEG

LukH USA300 TCH1516 nucleotide sequence (SEQ ID 175)
 AAAATCAACAGCGAAATCAACAAGTCAGCGAAAAAATCTGGATGGCAGTACGAAATGTACACGCGCACGG
 CAACACGAGCGATTTCGAGAAAAACATCACCCAGAGCTGCAATTTAATTTCTGACCGAACCGAATCAAGTA
 AAGAAACGGTGTTCATCAAAACAAAGGACCCATCGGCTCAGGTCGCTGCTATTCTGACCGAATGCTACTGG
 AACTCGACCTCGCTGCGCGGGTAGCTATTCTGTGAGTATCAGAAATGTTGATGACAAACAAACCAACGTT
 ACCGATTTTGTCCGAAAAATCAGATGAAAGCGGTGAAGTCAAAATACCTAGCGCTATAAACGGCGCGTGA
 TTCTCTATCATGCTGCGCGCTGCTGAGTAAATACGAAAGATGCAAACTATACGAAACCATCTCTTACGA
 GCACCGCTATGCTGCTGCTGATCAGTCCAGTACACACACATCAAAAGCGTGGTGGAAAGTCAAGCGCACCT
 GATCAATAACATGGCGATGATCACCCGCTCACTGACGATGATAGCGACACACCGCAGCAAAATGAAATTTT
 TAGTCTGACCGCAAGTAACTCTGCTGGCGAAAGATAACTTACGCGGAAAGCAAAATCGCGTACCGTGT
 CGGAAGGCTTAAATCCGGAATCTGCTGCGCTGATGCTCATGATAAAAAGCAAAAGTAAAGTCAAGTCTGTT
 TCACTAACAACTGCTCATGATGATGATCAAAATCGACTGGAACCGCATGCTGCGGTTACTGAGCGCGTG
 AAAACACGCTGATAAAAAGAAAGAAATGCTGCACTGATGAAAGTGAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGTCAAGT
 TCGTGAAGTTCTGAATGATAAAAAA

【 図 3 - 2 】

Fig. 3 (continued)

LukG USA300 TCH1516 amino acid sequence (SEQ ID 176)

KINSEIKQVSEKNDLGDGDKMYRTRATSDSQKNITQSLQFNFLTEPNYDKETVFIKAKGTIGSLRLIDPNGYWNSTLR
WPGYSYVSIQNVDDNNTNVTDFAPKNQDESREVKYTYGKTDGDFINRGGITGNITKESNYSYISYQSPYRITLDQ
DSTSHKGVGWVKEAHLINNMGHDHTRQLTNDSDNRVSEFSLTRNGNLWAKDNFTPKNMPVTVSEGFNPEFLAV
M5SHDKDKGSKFVYHVKRSMDFKIDWNRHGFVWYSGENHVDKKEKLSALYVEVDWKTNFKVNLNDEK

LukH MRS252 nucleotide sequence (SEQ ID 177)

GCAACAAGGACTCCAGGACAGCAAAAAGAACACGTCGATAAAGCAGCAGAAAGAAAGCGTAATG
TCAACGATAAAGATAAAATACCCGGGCGGATGACATGGCAAAACCGCAAGGTTACCAACGACCTACCGTC
AGTGAATATGACAAAGAAACCAATATTCGACGAACCTGCAATTTGATTCATCGATGACCCGACGTACGACAAA
AATGTGCTCGTGTAAAAGCAGAGTAGTACATCCAACTGAAATTTGAAAGCAGCCGTAATGAAACCAAC
CGAGTGGCTGAAATTCGCGCAATACCATGTGATTCAGGTGCAACGCAATCCGAAAACGGAATTCG
GACCACTGCCCAGAAAACAGATCTCAACCGAAAAGGATTCGACGTTAGTATTCCTCGGGCGGTAATTC
GACAGACCAAAAGGATTTGGTCCAGCCAGCAGCAACAGTACTCGAAGAGATCTCTTACACAGCAAAATA
CGATACCATCGCAAGCGCAAAACAAATAAACCGCATCTTCTGGTCTGTGTTGTAAGTACTGAAATGAG
TAACGAAATCAAAAATCGCAACGAAATTTCTGTTACCGTAATACCCGCTGAGTACGGTGAAGAAACCGGGA
ACTGCAATTTGGTCTGAAATATGTTACCGGCGCTGTTCCGCTCCGCTTAATCCGGAATTTCTGACCTACATC
AGCAAGAAAAGTCTAAGCAAAAGACCGGTTGCAAGTACCTACGCGCAATCAGGATTTCTGAAAACAA
CGCCGGCATTCACTACGCTGACCGCATCTGGAAACAAAAGAGTGGCAGCGTTTATGTCTGTATGAAG
TGGACTGAAAATAAGACCGTTAAGGTTGCGAAAATATCTGATCAGAACAGCGCTCAAAAGAAAGT

LukH MRS252 amino acid sequence (SEQ ID 178)

ANKDSQDQTKKEHVKAQKQKRNVDKDKNTPGDDIGKNGKVRTSEYDEKTNLQNLQDFDIDPPTYDKNV
LLVKQSHSNLKFESHKEENSTWLYKPYSEYHVDQVQRNPKTEILDQLPKNKISTAKVDSTFSYSLGGKDFDSTKIG
RTSSNSKSYNQNDYDIAAGKNNNRHVHWSVANDLKYNEIKNRNDFLFRNTRLSVENPELFSKRYRPA
LVRSGNPEFLTYLSNEKSNKTRFEVYTRNQDLKKNPQIHGPILEKNGDQGRFVYVEVDWKNKTVKVDKYS
DQNKPYKEG

【 図 3 - 4 】

Fig. 3 (continued)

LukH MSHR amino acid sequence (SEQ ID 182)

DSQDQNKKEHVKAQKQKRNVDKDKNTPGDDIGKNGKVRTSEYDEKTNLQNLQDFDIDPPTYDKNV
LLVKQSHSNLKFESHKEENSTWLYKPYSEYHVDQVQRNPKTEILDQLPKNKISTAKVDSTFSYSLGGKDFDSTKIG
RTSSNSKSYNQNDYDIAAGKNNNRHVHWSVANDLKYNEIKNRNDFLFRNTRLSVENPELFSKRYRPA
LVRSGNPEFLTYLSNEKSNKTRFEVYTRNQDLKKNPQIHGPILEKNGDQGRFVYVEVDWKNKTVKVDKYS
DQNKPYKEG

LukH MSHR nucleotide sequence (SEQ ID 183)

AAAATCAAAATCGGAAATCGCAAGTATGAGCAAGCAATATCGACGGCAATCAAGAAATGTTTACCCGCAAGC
AACGACCTCGGATAGCCAGAAAAGATCGACCGTCTGCAATTTAATCTTCTGCAAGCAAGCAATCAAGCA
GGAAACGGTGTTCATCAAGCAAGGCAACCATCGGCTCTGATGAAATTCGGAACCGCAAGCCTACTGGA
ATGATACCTCGGTTGGCGGGTATGATTTCCGTCAATCCAGAACTGATACAATAACCAATCAAGAGTTA
CGGATTTGCCCGGAAAACAGAGCAAAACCGCAAGTCAAGTACTACCGCTATAAAACGGCGGAT
TTCGATTAAGCCGGCGGATTTACCGGTAACATCACGAAAGAACGTAATTTCTGAAACCATCAGTATACCG
CAACGAGTATCGCACCTGATTCGACCGCCGCGACGAATAAGGCGGTTGGTGGAAAGTCAAGCCCATCT
GATCAACAATGTGGCTATCATCAACCGCAACCTGACGAAAGCAATCCGCAATCGTGGCTCAGCAATTTT
TACCTGAGCGGTAACGGTAATCTGTGGGCAAGATACTTCAAGCCGCAAAATAAGATGCGCGTACCGTGT
CGAAGCGTTTAAACCGGATTTTGGCGGTTATGTCGATGATAAAAGCAACAAGCAAGCAATTTGTTG
GTTACATAAAGCTACGATGATGACTTAAATCGATGGATGCCCATGGCTCTGGGGTACTGACCGCT
AAAATACGTTGACCGAAGGAAAGAAAATCTGCACTGTATGAAGTCAAGTGGAAACCCACGACGTGAA
GTTCAATAAGCTCGTGTGACAAAAGAAAGAAA

LukH MSHR amino acid sequence (SEQ ID 184)

KIKSEITQVSEKNDIGNTKMFRTATSDSQKISQSLQFNFLTEPNYDKETVFIKAKGTIGSLRLIDPNGYWNSTLR
WPGYSYVSIQNVDDNNTNVTDFAPKNQDESREVKYTYGKTDGDFINRGGITGNITKESNYSYISYQSPYRITLDQ
DSTSHKGVGWVKEAHLINNMGHDHTRQLTNDSDNRVSEFSLTRNGNLWAKDNFTPKNMPVTVSEGFNPEFLAV
M5SHDKDKGSKFVYHVKRSMDFKIDWNRHGFVWYSGENHVDKKEKLSALYVEVDWKTNFKVNLNDEK

【 図 3 - 3 】

Fig. 3 (continued)

LukG MRS252 nucleotide sequence (SEQ ID 179)

GCAAGCTCGTATGCGGAAATCAAAGCAAGTACCACCGCTCTCAGAAAAGAACCTGGATGGCAGCAACCAAGT
GTACACCCGTTACCGGACCAAGCAGGATACGGAAAGAAATAGCCAGTCTCTGCAATTAATTTCTCTGACCGA
ACCGACTAAGCAAAAGAAACGGTGTATTAAGCAAGGGCACTGGGAGCGGCTGAAAATTTCTGATC
GAAACCGCTACTGGAAACGACACCGCTGGCGCGGTATTAATCCCTTCATTCAGAACCTCGATGACAA
ATACTCAACCAATGTACAGGATTTGACCGGAAAACCAAGCAAGTACCGTGAAGTGAATACTACCTACCGGT
ATAGACGGGGGATTTTCAGTATCAATCGCGCGGCTCTGACCGGTAACATCAAGGCAAAAGCAACTACCTCG
GAAACCATCAGCTACCAAGCAACCGCTTATCGTACCCCTGATTGATCAGCCGACAGCAATAAAGGCGTCCGCTGG
AAGTGGAAAGCCATAGCATCAATAACATGGGTATGATACACCCGTCACCTGACGACGACTCTGATGACCG
CGTGAATCTGAAATTTTCTGCTACCCGCAATGGCAACTGTGGGCAAGGATAAATTCAGCGGAAAACAA
GATCCGCTGACCGTTCGAAAGCTTAAATCCGGAATTTCCGCTGTTATCCATGATAAAACGCAAAAGG
TAAGTACGCTTTCATCGTCACTATAAACCGTCTGATGATGACTTAACTGATGATGAAATGATGATGATGATG
GGGTTACTGGAGTGGTGAACACCGTTCGACCAAGAAAGAAAGCTGTCGCCCTGTATGAAGTGGATGG
AAAACGACGACGCTTAACGATTAAGACCATCAACGATAAGAAAGCAGAAAG

LukG MRS252 amino acid sequence (SEQ ID 180)

ASSYAEIKSITTVSEKNDIGDKMYRTRATSDTEKISQSLQFNFLTEPNYDKETVFIKAKGTIGSLRLIDP
WPGYSYVSIQNVDDNNTNVTDFAPKNQDESREVKYTYGKTDGDFINRGGITGNITKESNYSYISYQSPYR
ITLDQPTTKNGVAVKVAHNNMGGHDHTRQLTNDSDRVKSEIFSLTRNGNLWAKDNFTPKNMPVTVSEGFN
PEFLAVM5SHDKNDKGRSFVYHVKRSMDFKIDWNRHGFVWYSGENHVQKKEKLSALYVEVDWKTNFKVNLN
DKKEQ

LukH MSHR nucleotide sequence (SEQ ID 181)

GACTCACAGGACAAAACAAAAGGAAACACGTTGATGAAAGCAGCAGAAAGCAAGCAAGATAGCACCAGGA
AAGGCAAAAACCTTCCCGCCCGGATGACTGCTGGGAAAACGCGAAGGTGACCAAACTGACGAAAGCAATA
CGATGAAAAGCAACATCTCGAAGCACTGGAATTAATTCATCGATGACCCGACCTGATAAAGCGTCT
CGTGGTGAAGAAAGCAAGGCGATTTATCCAACTGAAGTTCGAAAGTCAAAAGAAAGAAAGCAACGACCT
GGCTGAAATACCGTCAAGTACCATGTTGATTTCCAGGTCAGCGTACCCGAAAACCGGAAATCTGACCAAC
GCGGAAAATAAGATCAGTACCGCAAAAGTGAATCAACTTTTGTATACCTGCGGCGTAAATCGACTCCA
TTAAGGCTACCGTCCGATAGCTCTAAGCACTATTCTCAGACATTTCGTAATACAGCAAACTACGATACGAT
CGCAGCGGCAAAAACAACTAAGTGCATGTCAGTGTGTTATTCGCAAGTATGAAAGTGGCGGTGAAG
TTAAAATCGTAAAGCAAGTATTTGTTCTACCGTAAACCCGACGAGTTCGGTATAACCGGAAATCGT
TGCAGTAAATATGTTACCGCGACTGTCGCAAGTGGTTTAATCCGGAATTTCTGACCTATCGAAGCAAG
AAAGTCTAATGAAAACCGCAGTTCGAAAGTCACTACCGGTAACCAAGATATCTGAAAATAAGCCGGCG
RTLDQPTTKNGVAVKVAHNNMGGHDHTRQLTNDSDRVKSEIFSLTRNGNLWAKDNFTPKNMPVTVSEGFN
PEFLAVM5SHDKNDKGRSFVYHVKRSMDFKIDWNRHGFVWYSGENHVQKKEKLSALYVEVDWKTNFKVNLN
DKKEQ

【 図 3 - 5 】

Fig. 3 (continued)

LukH H19 nucleotide sequence (SEQ ID 185)

GCCAAACAGGACAGCAGGACCAAAACCAAGAAAGGACGCTGGCAAGGCCGCAAAAAGGAGAAAGCGCAAC
GTGAAACGACAGGATAAAGAACACCTGGCCGGATGATTCGGCAAGACCGGTAAGGTGACCAAGCCGACAG
AGACGTTTACGACGAGAAAGCAACATCTCGAAGCACTGCAATCGACTTCTGACGACCGCCGATACGACA
AGAATCTCTGTTAGTGAAGAAAGCAGGCGAGCTCCACAGCACTGAAAGTTCGAAAGCACAAGAGAGAGAA
CAACAGCAGCTGCGTGAATAACCTAGCAGGATACCAAGTGGATTCGAGTGAAGCGCAACCGTAAAGCAGGA
TCTGAGCAGCTGCGCAAGCAAGATCAGTACCGCAAGGTGGCAGCAGCTCAAGTACCAACGCGCGGCG
AAGTTGATGATGTTAAGGCGTTGGCCGCAAGTAGCAACAGCTACAGCAAGCAATGATTAACACAGCA
GAATATGACACAATCGCCAGGCAAGCAACCAACTGGCACGCTGATTGAGCGTGGTGGCAAGACTG
AAATACCGGCGGAGTGAATAATCGCAACGAGGATCTGTTTACCGCAACCCGCTGAGCACCGTGA
AACCTGAGCTGAGCTTTCGCAAGATATCGCTATCCGCACTGTCGCGTACGCGGCTCAACCGGAGTTCCT
GACTACCTGATGACGAGAAAGCAATGAGAAACACAGTTCGAGGTGAACCTACCGGCAACCGGACCTG
TGAAGCAACAAACCGGCGTCACTATGCCCCCGCATCTCGGAAAGAAATGAGCAAGCAAGCAGCGTATGTT
ACTACGAGGTGACTGGAAGCAAAACCGTGAAGGTGATCGACAATACAGGACGACAAACCGCGTATA
AAGAGGGG

LukH H19 amino acid sequence (SEQ ID 186)

ANKDSQDQTKKEHVKAQKQKRNVDKDKNTPGDDIGKNGKVRTSEYDEKTNLQNLQDFDIDPPTYDKNV
LLVKQSHSNLKFESHKEENSTWLYKPYSEYHVDQVQRNPKTEILDQLPKNKISTAKVDSTFSYSLGGKDFDSTKIG
RTSSNSKSYNQNDYDIAAGKNNNRHVHWSVANDLKYNEIKNRNDFLFRNTRLSVENPELFSKRYRPA
LVRSGNPEFLTYLSNEKSNKTRFEVYTRNQDLKKNPQIHGPILEKNGDQGRFVYVEVDWKNKTVKVDKYS
DQNKPYKEG

LukH H19 nucleotide sequence (SEQ ID 187)

AACGCGAGATCAAGCGAGTGGACGAGAAAACCTGGACGGCGAGCAAGATGTACACAGCAGCAGCCACA
CCGCGACGCGCAGAAAACATCAACCGAGTCTGAGTTCATCTCTGACCGCAAGCAACTATGACAAAGAA
ACCGTTTTCATCAAGGCAAGGCAACCTCGGAGTGGTCTGCGCACTTCTGGAGCGAAGCGGCTACTGAGCA
ACCTTACGTTGGCTGGTATGATACAGCTGAGCATCCAGAAATGTGGACACAAACCAACCAAGGATGACCG
ACTCGACCGAAGATCAGGACGAGGCGGAGGTAAGTACACTACGCTGACAGCAAGCGGCGTACT
TAGCATCAACAGGTTGGCTGACCGGCAACATCAACAGGAGGAGCACTACAGCGAAGCATCAGCTATCAGC
AACCAGGTTACCGCACACTGATTGACCGCGCAACCAAAAGGCGGTTGCTGGAAGATGGAGGCCACCTG
ATCAACAATGGGCTATGACCAACACGCTGACGCAACAGATAGCGATGACGCTGTGAAGAGCGAGATCTT
CAGCTGACCCGCAACCGTAAATCTGTGGCCAAAGGCAACTTACCCGCAAAAAGAAAGTCCGGTGGCCTTGA
CGAAAGGCTTCAATCGGAGTTCCTGGCCGTTATGAGCCAGCAGCAAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG
GCTGCTACTACAGCCAGGATGGAGTGGAGTCAAGTACTGCAAGCAAGCAAGCAGGCTCTGCGGCTACTGGAG
GGGAGAACACCTGTCGACGAAAGAGGAG
GTGAAGTTTAAGGTTTTAAAGATAAAGAAAGAAAA

LukH H19 amino acid sequence (SEQ ID 188)

NSEIKQVSEKNDIGDKMYRTRATSDSQKNITQSLQFNFLTEPNYDKETVFIKAKGTIGSLRLIDP
WPGYSYVSIQNVDDNNTNVTDFAPKNQDESREVKYTYGKTDGDFINRGGITGNITKESNYSYISYQSPYRITLDQ
DSTSHKGVGWVKEAHLINNMGHDHTRQLTNDSDNRVSEFSLTRNGNLWAKDNFTPKNMPVTVSEGFNPEFLAV
M5SHDKDKGSKFVYHVKRSMDFKIDWNRHGFVWYSGENHVQKKEKLSALYVEVDWKTNFKVNLNDEK

【 図 4 】

mAb number	MSD Fab Kd (pM)		Forcelis Kd (nM)		LuKGH_H19	LuKGH_TCH1516	LuKGH_TCH1516	LuKGH_TCH1516	LuKGH_TCH1516
	LuKGH_TCH1516	LuKG_TCH1516	LuKGH_MSHR1132	LuKGH_TCH1516					
AB-30-3	0.5	46	0.28	0.39	0.22	0.24	15.5	N.B.	N.B.
AB-31	0.52	170	0.25	0.25	0.24	<0.1	9.7	N.B.	N.B.
AB-32-6	2.8	260	0.26	0.23	0.23	<0.12	31	N.B.	N.B.
AB-32-9			0.31	0.28	0.27	<0.12	29	N.B.	N.B.
AB-34	<0.5	110	0.21	0.36	0.22	0.095	6.9	N.B.	N.B.
AB-34-14			0.22	0.38	0.24	0.094	6.8	N.B.	N.B.
AB-34-6	1.2	N.D.	0.20	0.62	0.24	0.18	12	N.B.	N.B.
AB-34-15			0.24	0.78	0.27	0.20	12	N.B.	N.B.

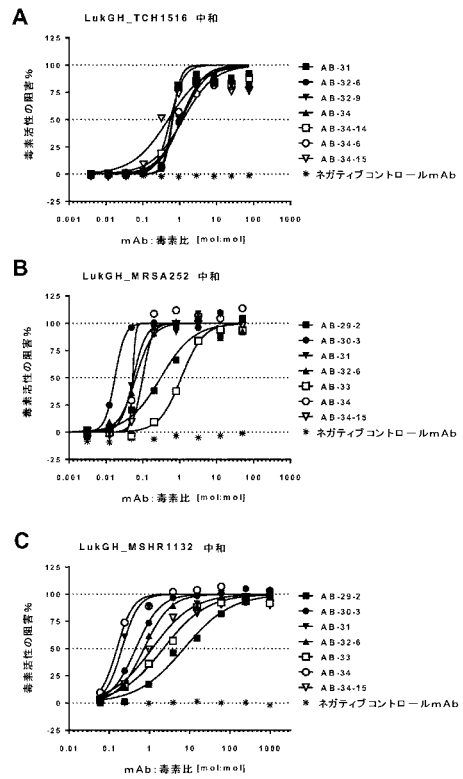
N.D. -- not determined
N.B. -- no binding

-28-

Fig. 4

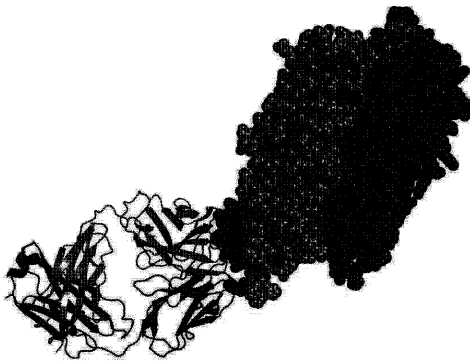
【 図 5 】

Fig. 5



【 図 6 】

Fig. 6



【配列表】

2017505758000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2014/078708

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/12 C07K14/315 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, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2011/274693 A1 (TORRES VICTOR J [US] ET AL) 10 November 2011 (2011-11-10) The whole document, in particular Example 4, Fig.10	1-28, 30-34
X	----- N. MALACHOWA ET AL: "Staphylococcus aureus Leukotoxin GH Promotes Formation of Neutrophil Extracellular Traps", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 191, no. 12, 4 November 2013 (2013-11-04), pages 6022-6029, XP055178705, ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.1301821 The whole document, in particular p.2 last line. -----	1-28, 30-34
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 9 June 2015		Date of mailing of the international search report 18/06/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Chapman, Rob

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/078708

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GORDON YC CHEUNG ET AL: "The potential use of toxin antibodies as a strategy for controlling acute Staphylococcus aureus infections", EXPERT OPINION ON THERAPEUTIC TARGETS, vol. 16, no. 6, 1 June 2012 (2012-06-01), pages 601-612, XP055178709, ISSN: 1472-8222, DOI: 10.1517/14728222.2012.682573 The whole document, in particular section 4 (intro) and 4.1 -----	1-28, 30-34
A	RUDIHOFF S ET AL: "Single amino acid substitution altering antigen-binding specificity", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, US, vol. 79, 1 March 1982 (1982-03-01), pages 1979-1983, XP007901436, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.79.6.1979 the whole document -----	1-20
X,P	WO 2014/187746 A2 (ARSANIS BIOSCIENCES GMBH [AT]) 27 November 2014 (2014-11-27) The whole document, in particular Example 5 -----	1-28, 30-34

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2014/078708

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. forming part of the international application as filed:
- in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- on paper or in the form of an image file.
- b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2014/078708**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.:
1-28, 30-34

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/ EP2014/ 078708

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-28, 30-34

An antibody comprising at least one binding site that specifically binds to a LukGH complex, which antibody comprises at least an antibody heavy chain variable region (VH), which comprises any of the CDR1 to CDR3 sequences as listed in Table 1, or functionally active CDR variants thereof, and related subject-matter

2. claim: 29

A binding molecule which specifically recognizes the conformational epitope of antibodies capable of binding a LukGH complex, preferably selected from the group consisting of a protein, a peptide, a peptidomimetic, a nucleic acid, a carbohydrate, a lipid, an oligopeptide, an aptamer and a small molecule compound, preferably an antibody, an antibody fragment thereof comprising at least one antibody domain incorporating the binding site, or a fusion protein comprising at least one antibody domain incorporating the binding site, wherein the binding molecule is a specific binder that recognizes the LukGH complex of *S. aureus*, and related subject-matter

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2014/078708

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2011274693	A1	10-11-2011	
		AU 2011247989 A1	06-12-2012
		AU 2015200901 A1	12-03-2015
		CA 2798355 A1	10-11-2011
		CN 103025352 A	03-04-2013
		EP 2566519 A2	13-03-2013
		JP 2013531620 A	08-08-2013
		KR 20130060230 A	07-06-2013
		RU 2012152086 A	10-06-2014
		US 2011274693 A1	10-11-2011
		US 2013095115 A1	18-04-2013
		WO 2011140337 A2	10-11-2011

WO 2014187746	A2	27-11-2014	NONE

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/577 (2006.01)	G 0 1 N 33/577	B
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/15	Z
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	R
A 6 1 K 39/085 (2006.01)	A 6 1 K 39/085	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, 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, KM, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

- (72) 発明者 バダラウ, アドリアナ
オーストリア国、エー 1 0 3 0 ウィーン、シュタインガッセ 1 9 / 7
- (72) 発明者 ルーハ, ハラルド
オーストリア国、エー 1 2 2 0 ウィーン、シュッタウシュトラッセ 4 8 / トップ 1 4
- (72) 発明者 ミルキナ, イリーナ
オーストリア国、エー 1 0 2 0 ウィーン、ハルコルトシュトラッセ 7 / トップ 4
- (72) 発明者 バトルズ, マイケル ベンジャミン
アメリカ合衆国、ニューハンプシャー州 0 3 7 6 6、レバノン、ルーセント ドライブ 7
- (72) 発明者 ウォーカー, ローラ エム
アメリカ合衆国、ニューハンプシャー州 0 3 7 6 6、レバノン、ルーセント ドライブ 7
- (72) 発明者 ニールソン, ネルズ
アメリカ合衆国、ニューハンプシャー州 0 3 7 6 6、レバノン、ルーセント ドライブ 7
- (72) 発明者 ジェイン, トゥーシャー エス.
アメリカ合衆国、ニューハンプシャー州 0 3 7 6 6、レバノン、ルーセント ドライブ 7

F ターム(参考) 2G045 AA25 AA28 AA29 AA40 CA02 CA11 CA25 CB01 CB09 CB13
CB17 CB21 DA36 FA11 FB01 FB03 FB08 FB12 FB13 GC15
4C085 AA03 AA14 BA13 BA42 CC07 CC23 DD86 GG02 GG03 GG04
GG06 GG08 GG10
4H045 AA11 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 EA20 EA22 FA74

专利名称(译)	针对金黄色葡萄球菌LUKGH (LUKAB) 毒素的抗体和抗体序列		
公开(公告)号	JP2017505758A	公开(公告)日	2017-02-23
申请号	JP2016541258	申请日	2014-12-19
[标]申请(专利权)人(译)	阿尔萨尼斯生物科学有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	Arusanisu生物科学的法理社会美图-Beshurenkuteru-有限公司		
[标]发明人	ナギーエスター バダラウアドリアナ ルーハハラルド ミルキナイリーナ バトルズマイケルベンジャミン ウォーカーローラエム ニールソンネルズ ジェイントゥーシャーエス		
发明人	ナギー,エスター バダラウ,アドリアナ ルーハ,ハラルド ミルキナ,イリーナ バトルズ,マイケル ベンジャミン ウォーカー,ローラ エム ニールソン,ネルズ ジェイン,トゥーシャー エス.		
IPC分类号	C07K16/12 C12N15/09 C07K16/46 G01N33/53 G01N33/569 G01N33/577 G01N33/50 G01N33/15 A61K39/395 A61K39/085 A61P31/04 A61P37/04		
CPC分类号	A61K39/085 A61K2039/505 C07K14/31 C07K16/1271 C07K2317/21 C07K2317/32 C07K2317/34 C07K2317/51 C07K2317/515 C07K2317/55 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/76 C07K2317/92 G01N33/56938 G01N33/577 A61P9/00 A61P11/00 A61P19/02 A61P19/08 A61P27/02 A61P31/04 A61P37/04 C07K14/315 A61K39/00		
FI分类号	C07K16/12.ZNA C12N15/00.A C07K16/46 G01N33/53.D G01N33/569.E G01N33/577.B G01N33/50.Z G01N33/15.Z A61K39/395.R A61K39/085 A61P31/04 A61P37/04		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA28 2G045/AA29 2G045/AA40 2G045/CA02 2G045/CA11 2G045/CA25 2G045 /CB01 2G045/CB09 2G045/CB13 2G045/CB17 2G045/CB21 2G045/DA36 2G045/FA11 2G045/FB01 2G045/FB03 2G045/FB08 2G045/FB12 2G045/FB13 2G045/GC15 4C085/AA03 4C085/AA14 4C085 /BA13 4C085/BA42 4C085/CC07 4C085/CC23 4C085/DD86 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG06 4C085/GG08 4C085/GG10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045 /CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA22 4H045/FA74		
优先权	2013198484 2013-12-19 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供具有特异性结合LukGH复杂, 抗体, 表1中列出的CDR1~CDR3序列之一, 或功能活性的至少一个结合位点的抗体CDR包含抗体重链可变区至少包括突变体(VH)。技术领域

(5) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 K 16/12 (2006. 01)	C O 7 K 16/12	Z N A 2 G O 4 5
C 1 2 N 15/00 (2006. 01)	C 1 2 N 15/00	A 4 C O 8 5
C O 7 K 16/46 (2006. 01)	C O 7 K 16/46	4 H O 4 5
G O 1 N 33/53 (2006. 01)	G O 1 N 33/53	D
G O 1 N 33/569 (2006. 01)	G O 1 N 33/569	E

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 82 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-541258 (P2016-541258)	(71) 出願人	514264606
(86) (22) 出願日	平成26年12月19日 (2014. 12. 19)		
(85) 翻訳文提出日	平成28年8月10日 (2016. 8. 10)		
(86) 国際出願番号	PCT/EP2014/078708		
(87) 国際公開番号	W02015/091935		
(87) 国際公開日	平成27年6月25日 (2015. 6. 25)		
(31) 優先権主張番号	13198484. 1		
(32) 優先日	平成25年12月19日 (2013. 12. 19)	(74) 代理人	110000475
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		特許業務法人みのり特許事務所
		(72) 発明者	ナギー、 エスター
			オーストリア国、 エー-1070 ウィー
			ン、 ヴェストバーンシュトラッセ 32-
			34/イー/12

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 黄色ブドウ球菌の LUKGH (LUKAB) 毒素に対する抗体及び抗体配列