

(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2020-510609

(P2020-510609A)

(43) 公表日 令和2年4月9日(2020.4.9)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/18 (2006.01)	C07K 16/18 ZNA	4C085
C12N 15/13 (2006.01)	C12N 15/13	4H045
C07K 14/47 (2006.01)	C07K 14/47	
A61K 39/395 (2006.01)	A61K 39/395 N	
A61P 25/00 (2006.01)	A61K 39/395 D	
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 110 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2019-523016 (P2019-523016)
 (86) (22) 出願日 平成29年11月7日 (2017.11.7)
 (85) 翻訳文提出日 令和1年6月26日 (2019.6.26)
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2017/001490
 (87) 国際公開番号 WO2018/083538
 (87) 国際公開日 平成30年5月11日 (2018.5.11)
 (31) 優先権主張番号 62/418,674
 (32) 優先日 平成28年11月7日 (2016.11.7)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 518156428
 ニューラクル サイエンス カンパニー
 リミテッド
 大韓民国 02841 ソウル ソンブク
 ーク アナムーロ 145 サンハクァン
 702-2
 (74) 代理人 110000800
 特許業務法人創成国際特許事務所
 (72) 発明者 チョン, ジュンホ
 大韓民国 13590 キョンギード ソ
 ンナムーシ アイワンプラス プーンリム
 ソヒョンードン ブンダンーグ ソヒョ
 ンーロ 170 ティーードン ルーム
 1801

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 配列類似性を持つ抗ファミリー19、メンバーA5抗体及びその用途

(57) 【要約】

【課題】 ヒトFAM19A5に特異的に結合する抗体及びこの抗体を含む組成物を提供する。

【解決手段】 特定の態様において、前記抗体はヒトFAM19A5に特異的に結合し、FAM19A5活性を調節し、例えば、このような抗体を用いて反応性神経膠症の開始及び/又は反応性星状細胞の過度な増殖を阻害、抑制、減少又は逆転させる。本発明はまた、ヒトFAM19A5に特異的に結合する抗体を投与することによって中枢神経系損傷、退行性脳障害又は神経病症状性疼痛のような障害を治療する方法を提供する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

(1) SEQ ID NO: 5を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 6を含む軽鎖可変領域(VL);

(2) SEQ ID NO: 103を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 114を含む軽鎖可変領域(VL);

(3) SEQ ID NO: 104を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 115を含む軽鎖可変領域(VL);

(4) SEQ ID NO: 105を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 116を含む軽鎖可変領域(VL);

10

(5) SEQ ID NO: 106を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 117を含む軽鎖可変領域(VL);

(6) SEQ ID NO: 107を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 118を含む軽鎖可変領域(VL);

(7) SEQ ID NO: 108を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 119を含む軽鎖可変領域(VL);

(8) SEQ ID NO: 109を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 120を含む軽鎖可変領域(VL);

(9) SEQ ID NO: 110を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 121を含む軽鎖可変領域(VL);

20

(10) SEQ ID NO: 111を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 122を含む軽鎖可変領域(VL);

(11) SEQ ID NO: 112を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 123を含む軽鎖可変領域(VL);または

(12) SEQ ID NO: 113を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 124を含む軽鎖可変領域(VL)

を含む基準抗体とヒトFAM19A5エピトープとの結合において相互競合し、配列類似性を持つヒトファミリー19、メンバーA5(FAM19A5)に特異的に結合する、分離された抗体又はその抗原結合部分。

30

【請求項2】

(1) SEQ ID NO: 5を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 6を含む軽鎖可変領域(VL);

(2) SEQ ID NO: 103を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 114を含む軽鎖可変領域(VL);

(3) SEQ ID NO: 104を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 115を含む軽鎖可変領域(VL);

(4) SEQ ID NO: 105を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 116を含む軽鎖可変領域(VL);

(5) SEQ ID NO: 106を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 117を含む軽鎖可変領域(VL);

40

(6) SEQ ID NO: 107を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 118を含む軽鎖可変領域(VL);

(7) SEQ ID NO: 108を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 119を含む軽鎖可変領域(VL);

(8) SEQ ID NO: 109を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 120を含む軽鎖可変領域(VL);

(9) SEQ ID NO: 110を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 121を含む軽鎖可変領域(VL);

(10) SEQ ID NO: 111を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 122を含む軽鎖可変領域(VL);

50

(11) SEQ ID NO: 112を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 123を含む軽鎖可変領域(VL);または

(12) SEQ ID NO: 113を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 124を含む軽鎖可変領域(VL)

を含む基準抗体と同じFAM19A5エピトープと結合し、配列類似性を持つヒトファミリー-19、メンバーA5(FAM19A5)に特異的に結合する、分離された抗体又はその抗原結合部分。

【請求項3】

SEQ ID NO: 2である、少なくとも一つのFAM19A5エピトープに結合することを特徴とする、請求項1又は2に記載の抗FAM19A5抗体。

10

【請求項4】

SEQ ID NO: 4のアミノ酸残基(i)99~107、(ii)102、103、105及び107、(iii)99、100、102、103、105及び107、又は(iv)99、100及び107に相応する一つ以上のアミノ酸において、SEQ ID NO: 2である、FAM19A5エピトープに結合することを特徴とする、請求項3に記載の抗FAM19A5抗体。

【請求項5】

EP6、EP7及び/又はEP8として確認された少なくとも一つのFAM19A5エピトープに結合し、EP6は、アミノ酸KTKQWCDML(SEQ ID NO: 139)を含み、EP7は、アミノ酸GCDLLINR(SEQ ID NO: 140)を含み、EP8は、アミノ酸TCTQPGGR(SEQ ID NO: 141)を含むことを特徴とする、請求項1又は2に記載の抗FAM19A5抗体。

20

【請求項6】

重鎖CDR1、CDR2及びCDR3、及び軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3を含み、

(i)重鎖CDR3は、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 85又はSEQ ID NO: 91を含み;

30

(ii)重鎖CDR1は、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 83又はSEQ ID NO: 89を含み;

(iii)重鎖CDR2は、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 84又はSEQ ID NO: 90を含み;

40

(iv)軽鎖CDR1は、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 86又はSEQ ID NO: 92を含み;

(v)軽鎖CDR2は、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 87又はSEQ ID NO: 93を含み;及び/又は

50

(vi) 軽鎖 CDR3 は、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 88 又は SEQ ID NO: 94

を含むことを特徴とする、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の抗 F A M 1 9 A 5 抗体。

【請求項 7】

(1) SEQ ID NO: 5 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 6 を含む軽鎖可変領域 (VL) ;

(2) SEQ ID NO: 103 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 114 を含む軽鎖可変領域 (VL) ;

(3) SEQ ID NO: 104 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 115 を含む軽鎖可変領域 (VL) ;

(4) SEQ ID NO: 105 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 116 を含む軽鎖可変領域 (VL) ;

(5) SEQ ID NO: 106 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 117 を含む軽鎖可変領域 (VL) ;

(6) SEQ ID NO: 107 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 118 を含む軽鎖可変領域 (VL) ;

(7) SEQ ID NO: 108 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 119 を含む軽鎖可変領域 (VL) ;

(8) SEQ ID NO: 109 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 120 を含む軽鎖可変領域 (VL) ;

(9) SEQ ID NO: 110 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 121 を含む軽鎖可変領域 (VL) ;

(10) SEQ ID NO: 111 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 122 を含む軽鎖可変領域 (VL) ;

(11) SEQ ID NO: 112 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 123 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または

(12) SEQ ID NO: 113 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO: 124 を含む軽鎖可変領域 (VL)

を含むことを特徴とする、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の抗 F A M 1 9 A 5 抗体。

【請求項 8】

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は SEQ ID NO: 5 及び 103 ~ 113 に提示されたアミノ酸配列と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99% 又は約 100% 同ジアミノ酸配列を含み、及び/又は軽鎖可変領域は SEQ ID NO: 6 及び 114 ~ 124 に提示されたアミノ酸配列と少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99% 又は約 100% 同ジアミノ酸配列を含むことを特徴とする、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗 F A M 1 9 A 5 抗体。

【請求項 9】

キメラ抗体、ヒト抗体又はヒト化抗体であることを特徴とする、請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の抗 F A M 1 9 A 5 抗体。

【請求項 10】

SEQ ID NO: 27 及び 145 ~ 155 からなる群から選ばれるアミノ酸配列を含む重鎖、及び SEQ ID NO: 28 及び 156 ~ 166 からなる群から選ばれるアミノ酸配列を含む軽鎖を含むことを特徴とする、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗 F A M 1 9 A 5 抗体。

【請求項 1 1】

次の特性の一つ以上を表すことを特徴とする、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の抗 F A M 1 9 A 5 抗体：

- (a) 酵素結合免疫吸着分析 (E L I S A) によって測定された時、1 0 n M 以下の K_D で可溶性ヒト F A M 1 9 A 5 に結合；
- (b) E L I S A によって測定された時、1 0 n M 以下の K_D で膜結合されたヒト F A M 1 9 A 5 に結合；
- (c) 反応性神経膠症の開始を減少、逆転、遅延及び / 又は予防；
- (d) 反応性星状細胞の過度な増殖を抑制；
- (e) ニューロカン及びニューロン - 神経膠抗原 2 (N G 2) を含むコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの発現を減少；
- (f) ニューロンの核で c - f o s 及び p E R K の発現を増加；
- (g) ニューロンの生存を促進；
- (h) ニューロンで G A P 4 3 の発現を増加；及び
- (i) 軸索突起の再成長を促進。

10

【請求項 1 2】

S E Q I D N O : 2 及び 1 3 9 ~ 1 4 1 と少なくとも約 9 0 % 、少なくとも約 9 5 % 、少なくとも約 9 6 % 、少なくとも約 9 7 % 、少なくとも約 9 8 % 、少なくとも約 9 9 % 又は約 1 0 0 % 同ジアミノ酸配列から本質的に構成されたり又は構成される配列類似性を持つヒトファミリー 1 9 、メンバー A 5 (F A M 1 9 A 5) エピトープであって、表 4 及び表 5 にそれぞれ提示された重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む基準抗体に特異的に結合可能なエピトープ。

20

【請求項 1 3】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項の F A M 1 9 A 5 抗体又は請求項 1 2 のエピトープを暗号化する核酸。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項の F A M 1 9 A 5 抗体と担体を含む組成物。

【請求項 1 5】

疾患又は状態の治療療法で使用するための請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項の F A M 1 9 A 5 抗体。

30

【請求項 1 6】

請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項の F A M 1 9 A 5 抗体と対象の生理学的サンプルを接触させる段階を含む、対象を診断する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、配列類似性を持つファミリー 1 9 、メンバー A 5 (F A M 1 9 A 5) に特異的に結合する抗体、該抗体を含む組成物及び対象の中枢神経系損傷のような障害や疾患を予防又は治療するための前記抗体の用途に関する。

【背景技術】

40

【0 0 0 2】

F A M 1 9 A 5 はタンパク質 T A F A サブファミリーの一員であり、5 個の高度に相同性である小さなタンパク質からなる (T a n g T . Y . e t a l . , G e n o m i c s 8 3 (4) : 7 2 7 - 3 4 (2 0 0 4)) 。このようなタンパク質は、固定した位置で保存されたシステイン残基を含有し、C C - ケモカインファミリーの一員である大食細胞炎症タンパク質 1 - アルファ (M I P - 1 - アルファ) と関連している。T A F A タンパク質は脳と脊髄の特定領域で優先的に発現する。このようなタンパク質は、神経発生過程及び成体神経幹細胞によって生成されて分泌されるものと知られている。

【0 0 0 3】

F A M 1 9 A 5 は、脊椎動物の脳から優先的に発現するが、中枢神経系の発生、分化、

50

形成において重要なものとされ、中枢神経系の損傷及び／又は疾患の予防や治療に使用することができる（特許文献１）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００４】

【特許文献１】米国特許公開第２０１５／０１１８２３０号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００５】

FAM19A5の抑制は、中枢神経系の治療において重要な役割を担うことができ、FAM19A5に特異的に結合してFAM19A5活性を調節できる抗体を開発することが必要である。

10

【課題を解決するための手段】

【０００６】

ヒトFAM19A5に特異的に結合する抗体、例えば、単クローン性抗体又はその抗原結合部分（抗FAM19A5抗体）、抗体又はその抗原結合部分を含む組成物、抗体又はその抗原結合部分を暗号化する核酸、核酸を含むベクター又はベクターを含む細胞が開示される。

【０００７】

一具体例（一実施形態）において、抗FAM19A5抗体は、ヒトFAM19A5エピトープに対する競合において、（１）SEQ ID NO：５を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：６を含む軽鎖可変領域（VL）；（２）SEQ ID NO：１０３を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１１４を含む軽鎖可変領域（VL）；（３）SEQ ID NO：１０４を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１１５を含む軽鎖可変領域（VL）；（４）SEQ ID NO：１０５を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１１６を含む軽鎖可変領域（VL）；（５）SEQ ID NO：１０６を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１１７を含む軽鎖可変領域（VL）；（６）SEQ ID NO：１０７を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１１８を含む軽鎖可変領域（VL）；（７）SEQ ID NO：１０８を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１１９を含む軽鎖可変領域（VL）；（８）SEQ ID NO：１０９を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１２０を含む軽鎖可変領域（VL）；（９）SEQ ID NO：１１０を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１２１を含む軽鎖可変領域（VL）；（１０）SEQ ID NO：１１１を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１２２を含む軽鎖可変領域（VL）；（１１）SEQ ID NO：１１２を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１２３を含む軽鎖可変領域（VL）；または（１２）SEQ ID NO：１１３を含む重鎖可変領域（VH）及びSEQ ID NO：１２４を含む軽鎖可変領域（VL）を含む基準抗体と相互競合する。一具体例において、抗FAM19A5抗体は基準抗体として同一のFAM19A5エピトープに結合する。

20

30

40

【０００８】

一具体例において、抗FAM19A5抗体は、SEQ ID NO：４のアミノ酸残基９９～１０７（すなわち、EGCDLLINR）、例えば、アミノ酸残基１０２、１０３、１０５及び１０７（すなわち、DL-I-R）、アミノ酸残基９９、１００、１０２、１０３、１０５及び１０７（すなわち、EG-DL-I-R）、アミノ酸残基９９、１００及び１０７（すなわち、EG- - - - - R）に相応する一つ以上のアミノ酸において、SEQ ID NO：２である、少なくとも一つのFAM19A5エピトープに結合する。一具体例において、抗FAM19A5抗体は、EP6、EP7及び／又はEP8と確認された少なくとも一つのFAM19A5エピトープに結合し、EP6は、アミノ酸KTKQWCDML（SEQ ID NO：１３９）を含む、又はこれらから本質的に構成さ

50

れ、又はこれらから構成され、EP7は、アミノ酸GCDLLINR (SEQ ID NO: 140) を含む、又はこれらから本質的に構成され、又はこれらから構成され、EP8は、アミノ酸TCTQPGGR (SEQ ID NO: 141) を含む、又はこれらから本質的に構成され、又はこれらから構成される。

【0009】

一具体例において、抗FAM19A5抗体は、重鎖CDR1、CDR2及びCDR3、及び軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3を含み、(i)重鎖CDR3は、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 85、又はSEQ ID NO: 91を含み；(ii)重鎖CDR1は、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 83、又はSEQ ID NO: 89を含み；(iii)重鎖CDR2は、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 84、又はSEQ ID NO: 90を含み；(iv)軽鎖CDR1は、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 86、又はSEQ ID NO: 92を含み；(v)軽鎖CDR2は、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 87、又はSEQ ID NO: 93を含み；及び/又は(vi)軽鎖CDR3は、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 88、又はSEQ ID NO: 94を含む。

【0010】

一具体例において、抗FAM19A5抗体は、(1)SEQ ID NO: 5を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 6を含む軽鎖可変領域(VL)；(2)SEQ ID NO: 103を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 114を含む軽鎖可変領域(VL)；(3)SEQ ID NO: 104を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 115を含む軽鎖可変領域(VL)；(4)SEQ ID NO: 105を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 116を含む軽鎖可変領域(VL)；(5)SEQ ID NO: 106を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 117を含む軽鎖可変領域(VL)；(6)SEQ ID NO: 107を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 118を含む軽鎖可変領域(VL)；(7)SEQ ID NO: 108を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 119を含む軽鎖可変領域(VL)；(8)SEQ ID NO: 109を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 120を含む軽鎖可変領域(VL)；(9)SEQ ID NO: 110を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 121を含む軽鎖可変領域(VL)；(10)SEQ ID NO: 111を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 122を含む軽鎖可変領域(VL)；(11)SEQ ID NO: 112を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO

: 123を含む軽鎖可変領域(VL);または(12)SEQ ID NO:113を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO:124を含む軽鎖可変領域(VL)を含む。

【0011】

一具体例において、抗FAM19A5抗体は重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、SEQ ID NOs:5及び103~113に提示されたアミノ酸配列と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又は約100%同じアミノ酸配列を含み、及び/又は軽鎖可変領域はSEQ ID NOs:6及び114~124に提示されたアミノ酸配列と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又は約100%同じアミノ酸配列を含む。

10

【0012】

一具体例において、抗FAM19A5抗体は、キメラ抗体、ヒト抗体又はヒト化抗体である。

【0013】

一具体例において、抗FAM19A5抗体は、SEQ ID NOs:27及び145~155を含む重鎖及びSEQ ID NOs:28及び156~166を含む軽鎖を含む。

20

【0014】

一具体例において、抗FAM19A5抗体は、次の特性のいずれか一つ以上を表す:

- (a) 酵素結合免疫吸着分析(ELISA)によって測定された時、10nM以下の K_D で可溶性ヒトFAM19A5に結合する;
- (b) ELISAによって測定された時、10nM以下の K_D で膜結合されたヒトFAM19A5に結合する;
- (c) 反応性神経膠症の開始を減少、逆転、遅延、及び/又は予防する;
- (d) 反応性星状細胞の過度な増殖を抑制する;
- (e) ニューロカン及びニューロン-神経膠抗原2(NG2)を含むコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの発現を減少させる;
- (f) ニューロンの核でc-fos及びpERKの発現を増加させる;
- (g) ニューロンの生存を促進する;
- (h) ニューロンでGAP43の発現を増加させる;及び
- (i) 軸索突起の再成長を促進する。

30

【0015】

一具体例において、本発明は、SEQ ID NOs:2及び139~141と少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同じアミノ酸配列から本質的に構成され、又はこれらから構成されるFAM19A5エピトープを提供し、該エピトープはそれぞれ表4及び表5に提示されたような重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む基準抗体に特異的に結合され得る。

40

【0016】

一具体例において、本発明は、開示された抗FAM19A5抗体又はエピトープを暗号化する核酸を提供する。

【0017】

一具体例において、本発明は、開示された抗FAM19A5抗体及び担体を含む組成物を提供する。

【0018】

一具体例において、本発明は、疾患又は状態の治療療法で使用するための抗FAM19A5抗体を提供する。

50

【0019】

具体例

具体例 1

配列類似性を持つヒトファミリー19、メンバーA5 (FAM19A5) に特異的に結合し、次の特性のいずれか一つ以上を表す、分離された単クローン性抗体又はその抗原結合部分：

- (a) 酵素結合免疫吸着分析 (ELISA) によって測定された時、10 nM以下の K_D で可溶性ヒトFAM19A5に結合する；
- (b) ELISAによって測定された時、10 nM以下の K_D で膜結合されたヒトFAM19A5に結合する；
- (c) 反応性神経膠症の開始を減少、逆転、遅延、及び/又は予防する；
- (d) 反応性星状細胞の過度な増殖を抑制する；
- (e) ニューロカン及びニューロン-神経膠抗原2 (NG2) を含むコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの発現を減少させる；
- (f) ニューロンの核でc-fos及びpERKの発現を増加させる；
- (g) ニューロンの生存を促進する；
- (h) ニューロンでGAP43の発現を増加させる；及び
- (i) 軸索突起の再成長を促進する。

10

【0020】

具体例 2

ヒトFAM19A5エピトープに対する結合において重鎖CDR1、CDR2及びCDR3、及び軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3を含む基準抗体と相互競合し、重鎖CDR1はSEQ ID NO: 7のアミノ酸配列を含み、重鎖CDR2はSEQ ID NO: 8のアミノ酸配列を含み、重鎖CDR3はSEQ ID NO: 9のアミノ酸配列を含み、軽鎖CDR1はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含み、軽鎖CDR2はSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含み、軽鎖CDR3はSEQ ID NO: 12のアミノ酸配列を含む、分離された単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

20

【0021】

具体例 3

重鎖CDR1、CDR2及びCDR3、及び軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3を含む基準抗体と同じFAM19A5エピトープに結合し、重鎖CDR1はSEQ ID NO: 7のアミノ酸配列を含み、重鎖CDR2はSEQ ID NO: 8のアミノ酸配列を含み、重鎖CDR3はSEQ ID NO: 9のアミノ酸配列を含み、軽鎖CDR1はSEQ ID NO: 10のアミノ酸配列を含み、軽鎖CDR2はSEQ ID NO: 11のアミノ酸配列を含み、軽鎖CDR3はSEQ ID NO: 12のアミノ酸配列を含む、分離された単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

30

【0022】

具体例 4

SEQ ID NO: 2である、少なくとも一つのFAM19A5エピトープに結合する、具体例2又は3の単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

40

【0023】

具体例 5

抗体又はその抗原結合部分がSEQ ID NO: 2である、FAM19A5にだけ結合する、具体例2~4のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0024】

具体例 6

抗体又はその抗原結合部分が追加のFAM19A5エピトープにさらに結合する、具体例2~4のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0025】

具体例 7

50

抗体又はその抗原結合部分がSEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17及びそれらの任意の組合せからなる群から選ばれる追加のFAM19A5エピトープにさらに結合する、具体例2~4のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0026】

具体例8

単クローン性抗体又はその抗原結合部分が重鎖CDR1、CDR2及びCDR3、及び軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3を含む、前述した具体例のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0027】

10

具体例9

単クローン性抗体又はその抗原結合部分の重鎖CDR3がSEQ ID NO: 9を含む、具体例8の単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0028】

具体例10

単クローン性抗体又はその抗原結合部分の重鎖CDR1がSEQ ID NO: 7を含む、具体例8又は9の単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0029】

具体例11

単クローン性抗体又はその抗原結合部分の重鎖CDR2がSEQ ID NO: 8を含む、具体例8~10のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

20

【0030】

具体例12

単クローン性抗体又はその抗原結合部分の軽鎖CDR1がSEQ ID NO: 10を含む、具体例8~11のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0031】

具体例13

単クローン性抗体又はその抗原結合部分の軽鎖CDR2がSEQ ID NO: 11を含む、具体例8~12のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0032】

30

具体例14

単クローン性抗体又はその抗原結合部分の軽鎖CDR3がSEQ ID NO: 12を含む、具体例8~13のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0033】

具体例15

SEQ ID NO: 5を含む重鎖可変ドメイン及びSEQ ID NO: 6を含む軽鎖可変ドメインを含む、前述した具体例のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0034】

具体例16

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域は、SEQ ID NO: 5に提示されたアミノ酸配列と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同じアミノ酸配列を含む、前述した具体例のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

40

【0035】

具体例17

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO: 6に提示されたアミノ酸配列と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、

50

少なくとも約 99% 又は約 100% 同じアミノ酸配列を含む、前述した具体例のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0036】

具体例 18

抗体が単ドメイン抗体である、前述した具体例のいずれか一つの単クローン性抗体。

【0037】

具体例 19

抗体が IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 及びそれらの変異体から構成される群から選ばれる、前述した具体例のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

10

【0038】

具体例 20

抗体が IgG2 抗体、IgG4 抗体又はそれらの組合せである、具体例 19 の単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0039】

具体例 21

抗体が IgG2 / IgG4 イソタイプ抗体を含む、具体例 19 の単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0040】

具体例 22

Fc 機能がない不変領域をさらに含む、前述した具体例のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

20

【0041】

具体例 23

キメラ抗体、ヒト抗体又はヒト化抗体である、前述した具体例のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0042】

具体例 24

単クローン性抗体が SEQ ID NO: 27 を含む重鎖及び SEQ ID NO: 28 を含む軽鎖を含む、具体例 1 ~ 23 のいずれか一つの単クローン性抗体。

30

【0043】

具体例 25

その抗原結合部分が Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv 又は単鎖 Fv (scFv) である、具体例 1 ~ 23 のいずれか一つのその抗原結合部分。

【0044】

具体例 26

第 2 結合部分を持つ分子に結合された前述した具体例のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分を含む二重特異的分子。

【0045】

具体例 27

SEQ ID NO: 2 と少なくとも 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99% 又は約 100% 同じアミノ酸配列から本質的に構成されたり又はこれらから構成され、SEQ ID NO: 5 の重鎖可変領域及び SEQ ID NO: 6 の軽鎖可変領域を含む基準抗体に特異的に結合され得る、配列類似性を持つヒトファミリー 19、メンバー A5 (FAM19A5) エピトープ。

40

【0046】

具体例 28

具体例 1 ~ 25 のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例 26 の二重特異的分子又は具体例 27 のエピトープを暗号化する核酸。

50

- 【 0 0 4 7 】
 具体例 2 9
 具体例 2 8 の核酸を含むベクター。
- 【 0 0 4 8 】
 具体例 3 0
 遺伝子治療法で使用するための、具体例 2 9 のベクター。
- 【 0 0 4 9 】
 具体例 3 1
 具体例 2 9 の発現ベクターで形質転換された細胞。
- 【 0 0 5 0 】 10
 具体例 3 2
 製剤に結合された、具体例 1 ~ 2 5 のいずれか一つによる単クローン性抗体又はその抗原結合部分又は具体例 2 6 の二重特異的分子を含む免疫コンジュゲート。
- 【 0 0 5 1 】
 具体例 3 3
 具体例 1 ~ 2 5 のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例 2 6 の二重特異的分子又は具体例 3 2 の免疫コンジュゲート及び担体を含む組成物。
- 【 0 0 5 2 】 20
 具体例 3 4
 具体例 1 ~ 2 5 のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例 2 6 の二重特異的分子、又は具体例 3 2 の免疫コンジュゲート及び使用説明書を含むキット。
- 【 0 0 5 3 】
 具体例 3 5
 非ヒト動物を具体例 2 7 のエピトープで免疫化する段階及び抗体又はその抗原結合部分を生成する段階を含む、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分を作製する方法。
- 【 0 0 5 4 】
 具体例 3 6
 適切な条件下に具体例 3 1 の宿主細胞を培養する段階及び抗体又はその抗原結合部分を分離する段階を含む、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分を生成する方法。
- 【 0 0 5 5 】 30
 具体例 3 7
 神経膠症の開始が遅延されるように、具体例 1 ~ 2 5 の単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例 2 6 の二重特異的分子又は具体例 3 2 の免疫コンジュゲートを投与する段階を含む、対象の反応性神経膠症の開始を減少、逆転、遅延及び / 又は予防する方法。
- 【 0 0 5 6 】
 具体例 3 8
 反応性星状細胞の過度な増殖が抑制されるように、具体例 1 ~ 2 5 の単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例 2 6 の二重特異的分子又は具体例 3 2 の免疫コンジュゲートを投与する段階を含む、対象の反応性星状細胞の過度な増殖を抑制する方法。
- 【 0 0 5 7 】 40
 具体例 3 9
 具体例 1 ~ 2 5 の単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例 2 6 の二重特異的分子又は具体例 3 2 の免疫コンジュゲートを対象に投与する段階を含み、ニューロカン及びニューロン - 神経膠抗原 2 (N G 2) を含むコンドロイチン硫酸プロテオグリカンが減少する、対象のニューロカン及びニューロン - 神経膠抗原 2 (N G 2) を含むコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの発現を減少させる方法。
- 【 0 0 5 8 】
 具体例 4 0
 具体例 1 ~ 2 5 の単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例 2 6 の二重特異的分子又は具体例 3 2 の免疫コンジュゲートを対象に投与する段階を含み、ニューロンの生存 50

が促進される、対象のニューロンの生存を促進する方法。

【0059】

具体例41

具体例1～25の単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例26の二重特異的分子又は具体例32の免疫コンジュゲートを対象に投与する段階を含み、軸索突起の再成長が促進される、対象の軸索突起の再成長を促進する方法。

【0060】

具体例42

具体例1～25の単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例26の二重特異的分子又は具体例32の免疫コンジュゲートを対象に投与する段階を含む、対象の中樞神経系損傷を治療する方法。

10

【0061】

具体例43

中樞神経系損傷は、外傷性脳傷害、脳脊髄損傷、脳卒中及び脳腫瘍を含む、具体例42の方法。

【0062】

具体例44

具体例1～25の単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例26の二重特異的分子又は具体例32の免疫コンジュゲートを対象に投与する段階を含む、対象の脳脊髄又は神経障害を治療する方法。

20

【0063】

具体例45

退行性脳障害は、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、多発性硬化症及び筋萎縮性側索硬化症（ALS）を含む、具体例44の方法。

【0064】

具体例46

具体例1～25の単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例26の二重特異的分子又は具体例32の免疫コンジュゲートを対象に投与する段階を含む、対象の神経病理性疼痛を治療する方法。

30

【0065】

具体例47

単クローン性抗体又はその抗原結合部分は静脈内、経口、非経口、脊椎腔内、脳室内、肺、皮下又は心室内の経路で投与される、具体例35～46のいずれか一つの方法。

【0066】

具体例48

対象がヒトである、具体例35～47のいずれか一つの方法。

【0067】

具体例49

中樞神経系損傷、退行性脳障害又は神経病理性疼痛の治療のための医薬の作製のための、具体例1～25のいずれか一つによる単クローン性抗体又はその抗原結合部分、具体例26の二重特異的分子又は具体例32の免疫コンジュゲートの用途。

40

【0068】

具体例50

疾患又は状態の治療療法で使用するための具体例1～49のいずれか一つの単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0069】

具体例51

疾患又は状態は、脳脊髄系損傷、退行性脳脊髄又は神経障害、又は神経病理性疼痛である、具体例50の使用のための、単クローン性抗体又はその抗原結合部分。

【0070】

50

具体例 5 2

対象の生物学的サンプルを具体例 1 ~ 4 9 のいずれか一つの単クローン性抗体と接触させる段階を含む、対象を診断する方法。

【図面の簡単な説明】

【0071】

【図 1 A】F A M 1 9 A 5 タンパク質に対する個別 s c F v クローンの結合分析を示す。吸光度は 4 0 5 n M で測定された。クローンナンバーは X 軸に表示される。第 1 ニワトリから由来した 3 次バイオパンニング (b i o - p a n n i n g) からの 9 6 個のクローンの分析を示す。

【図 1 B】F A M 1 9 A 5 タンパク質に対する個別 s c F v クローンの結合分析を示す。吸光度は 4 0 5 n M で測定された。クローンナンバーは X 軸に表示される。第 2 ニワトリから由来した 4 次バイオパンニングからの 9 6 個のクローンの分析を示す。

【図 1 C】F A M 1 9 A 5 タンパク質に対する個別 s c F v クローンの結合分析を示す。吸光度は 4 0 5 n M で測定された。クローンナンバーは X 軸に表示される。第 3 ニワトリから由来した 5 次バイオパンニングからの 9 6 個のクローンの分析を示す。

【図 2】図 2 は、哺乳類発現バクターへの抗 F A M 1 9 A 5 抗体 (s c F v) のサブクローニングのための図式的ダイアグラムを示す。

【図 3】図 3 は、キメラ抗 F A M 1 9 A 5 - I g G 2 / 4 単クローン性抗体 (1 - 6 5) の S D S - P A G E 結果を示す。左パネルは還元 S D S - P A G E を示し、右側パネルは非還元 S D S - P A G E を示す。

【図 4】図 4 は、キメラ抗 F A M 1 9 A 5 - I g G 2 / 4 単クローン性抗体 (1 - 6 5) がヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合することを示す。

【図 5 A】図 5 A は、キメラ抗 F A M 1 9 A 5 - I g G 2 / 4 単クローン性抗体 (1 - 6 5) が F A M 1 9 A 5 タンパク質には特異的であるが、F A M 1 9 A サブファミリーの他のタンパク質には結合しないことを示す。

【図 5 B】図 5 B は、F A M 1 9 A 5 発現に対する免疫細胞化学染色 (I C C 、左パネル) 及び免疫組織化学染色 (I H C 、右の 3 つパネル) 分析を示す。I C C の結果は、キメラ抗 F A M 1 9 A 5 - I g G 2 / 4 単クローン性抗体 (1 - 6 5) が H i s タグとコンジュゲートされた F A M 1 9 A 5 タンパク質に結合するというを表す。I H C 結果は、F A M 1 9 A 5 タンパク質が正常マウス (左側) の脳室下帯の G F A P タンパク質発現細胞で発現するということを表し、5 日間外傷性脳傷害を持つマウスの損傷された半影 (T B I 5 D 、中央) で、そして 7 日間虚血性脳傷害を持つラットの損傷された半影 (I B I 7 D 、右) で発現する。

【図 6】図 6 は、キメラ抗 F A M 1 9 A 5 - I g G 2 / 4 単クローン性抗体 (1 - 6 5) (下部パネル) が外傷性脳傷害 (T B I) マウスモデルにおいて神経膠症の開始を抑制、減少、遅延、及び / 又は逆転させることを示す。正常ヒト対照群免疫グロブリン (H C I) が対照群として使用された (上部パネル) 。抗 F A M 1 9 A 5 抗体又は対照群抗体は、0 . 1 μ g 、 0 . 3 μ g 、 1 μ g 、 3 μ g 、 5 μ g 又は 1 0 μ g の濃度のいずれか一つでマウスに投与された。

【図 7】図 7 は、外傷性脳傷害マウスモデルにおいてキメラ抗 F A M 1 9 A 5 - I g G 2 / 4 単クローン性抗体 (1 - 6 5) (右パネル) の神経保護効果を示す。正常ヒト対照群免疫グロブリン (H C I) が対照群として使用された (左パネル) 。動物は、抗体 5 μ g を投与した。上部パネルは、損傷された領域の半影 (p e n u m b r a) 内で G F A P (神経膠線維酸性タンパク質) 発現を示す。下部パネルは、T B I マウスにおいて損傷された領域の拡大された区域内で G F A P と N e u N (ニューロン核) の共発現を示す。点線は、外傷性脳傷害に露出後の病巣境界を表示する。

【図 8】図 8 は、ヒト化抗 F A M 1 9 A 5 - I g G 2 / 4 抗体 (1 - 6 5) (円、C グループ) 、ウサギ抗 F A M 1 9 A 5 多クローン性抗体 (四角、B グループ) 、又はビークル対照群 (ダイヤモンド、A グループ) で治療された脊髄傷害を持つ動物の機能回復結果を示す。抗 F A M 1 9 A 5 抗体による動物の治療は、B B B 運動能分析 (左) と傾斜面試験

10

20

30

40

50

(右)の両方において運動活性を改善する。各図の下の表は、TBI誘導後異なる日数(“dpi”)で測定された特定点数を表す。

【図9】図9は、異なる種(すなわち、ヒト、マウス、ラット及びニワトリ)のFAM19A5アミノ酸配列の整列を示す。エピトープマッピング分析に使用された断片F1-F6が表示される。信号ペプチドは下線で表示される。

【図10】図10は、エピトープF1-F6(BSAにコンジュゲート)のアミノ酸配列とヒトFAM19A5ポリペプチド上でアミノ酸の位置を示す。上部のアミノ酸配列は、野生型FAM19A5イソフォーム2(信号ペプチド無し)である。下部のアミノ酸配列は、同一の配列であるが、ペプチド合成の間に非特異的活性を減少させるためにシステイン残基がセリンに突然変異された。個別のエピトープ断片の大きさは括弧中に表示される。

10

【図11】図11は、エピトープ断片F1~F6に対する単クローン性抗体クローン1-65の結合に対するウェスタンブロット結果を示す(それぞれレーン3~8)。FAM19A5-CK(レーン1)、PSA-CK(レーン2)、ペプチドNDV-BSA(レーン9)及びBSA(レーン10)が対照群として使用された。使用された抗原のそれぞれの大きさは、プロットの右側に表示される。ウェル当たりで使用された抗原の量は、300ngである。ウェスタンブロットに使用された1次抗体は、1-65-scFv-ウサギ-Fc-SSS(2µg/ml)であり、使用された2次抗体は、抗ウサギIgG(Fc特異的)-HRP(1:4000)である。

【図12A】エピトープ断片F1~F6に対するいくつかの抗FAM19A5抗体の結合に対するELISA結果を示す。抗FAM19A5抗体1-65、2-13、及び3-2に対する結果を示す。3-2抗体に対して、2個の次のような異なるイソタイプが示される:ヒトIgG1(“h3-2”)及びマウスIgG1(“m3-2”)。

20

【図12B】エピトープ断片F1~F6に対するいくつかの抗FAM19A5抗体の結合に対するELISA結果を示す。抗FAM19A5P2-C12抗体に対する結果を示す。それぞれの抗体に対して、1st、2nd、3rd、4th、5th及び6th棒(左側から始まって)はそれぞれ、エピトープ断片F1、F2、F3、F4、F5及びF6に対する結合を示す。一番右の棒(黒い色)は陽性対照群(すなわち、HisタグFAM19A5タンパク質)を表す。正確なO.D.値は、各棒の上部に表示される。

【図13A】8個の異なるFAM19A5断片5突然変異ペプチド(F5-1~F5-8)に対する抗FAM19A5抗体1-65の結合に対するELISA結果を示す。正確なO.D.値は、各棒の上部に表示される。

30

【図13B】8個の異なるFAM19A5断片5突然変異ペプチド(F5-1~F5-8)に対する抗FAM19A5P2-C12の結合に対するELISA結果を示す。正確なO.D.値は、各棒の上部に表示される。

【図14】図14は、FAM19Aファミリー(すなわち、FAM19A1-5)の個別メンバーのアミノ酸配列整列を示す。メンバーのうち、最大のアミノ酸多様性を持つ領域がボックスで表示され、EP1~EP8と表す。

【図15A】FAM19A5突然変異M1~M8に対する個別の抗FAM19A5抗体の結合に対するELISA結果を示す。抗FAM19A5抗体1-65、1-28、2-13及び3-2に対する結果を示す。抗体に対する8個の棒は、突然変異M1~M8に相応する(左から右へ)。

40

【図15B】FAM19A5突然変異M1~M8に対する個別の抗FAM19A5抗体の結合に対するELISA結果を示す。抗FAM19A5抗体13B4、13F7及び15A9に対する結果を示す。抗体に対する8個の棒は、突然変異M1~M8に相応する(左から右へ)。

【図15C】FAM19A5突然変異M1~M8に対する個別の抗FAM19A5抗体の結合に対するELISA結果を示す。抗FAM19A5抗体P1-A08、P1-F02、P1-G09、P2-A01、P2-A03、P2-C12、P2-F07及びP2-F11に対する結果を示す。抗体に対する8個の棒は、突然変異M1~M8に相応する(

50

左から右へ)。

【図16A】異なる抗FAM19A5抗体間の相互競合を評価するために使用された2部位サンドウィッチELISA分析の図式的ダイアグラムを示す。

【図16B】6個の異なる抗FAM19A5抗体：1-65、P2-A03、P2-F11、13B4、2-13及び3-2に対する相互競合分析の結果を示す。用語“S/N”は、信号対ノイズ比率のことを指し、これは次のように測定される： $[10\text{ ng/mL 抗原の O.D.}] / [0\text{ ng/mL 抗原の O.D.}]$ 。灰色のボックスは、相互競合を表す（すなわち、2未満のS/N比率）。

【図17A】FAM19A5に対する抗体1-65の結合に対するOCTET試験結果を示す。また、それぞれの抗体に対してKd値が表示される。それぞれのラインは、試験に使用された抗FAM19A5抗体の個別の濃度（すなわち、300nM、100nM、33nM、11nM、3.3nM、又は1.1nM）に相応する。

【図17B】FAM19A5に対する抗体13B4の結合に対するOCTET試験結果を示す。また、それぞれの抗体に対してKd値が表示される。それぞれのラインは、試験に使用された抗FAM19A5抗体の個別の濃度（すなわち、300nM、100nM、33nM、11nM、3.3nM、又は1.1nM）に相応する。

【図17C】FAM19A5に対する抗体13F7の結合に対するOCTET試験結果を示す。また、それぞれの抗体に対してKd値が表示される。それぞれのラインは、試験に使用された抗FAM19A5抗体の個別の濃度（すなわち、300nM、100nM、33nM、11nM、3.3nM、又は1.1nM）に相応する。

【図17D】FAM19A5に対する抗体15A9の結合に対するOCTET試験結果を示す。また、それぞれの抗体に対してKd値が表示される。それぞれのラインは、試験に使用された抗FAM19A5抗体の個別の濃度（すなわち、300nM、100nM、33nM、11nM、3.3nM、又は1.1nM）に相応する。

【図18A】FAM19A5に対するいくつかの抗FAM19A5抗体の結合に対するELISA結果を示す。次の抗体に対する結果が示される：1-65、13B4、13F7、1-28、2-13、3-2、P1-A03、P1-A08、P1-D03、P1-F02、P1-G09、P2-A01、P2-A03、P2-C12、P2-F07及びP2-F11（左から右へ）。抗FAM19A5抗体の様々な濃度に対する棒グラフであり、結果を示す。

【図18B】FAM19A5に対するいくつかの抗FAM19A5抗体の結合に対するELISA結果を示す。次の抗体に対する結果が示される：1-65、13B4、13F7、1-28、2-13、3-2、P1-A03、P1-A08、P1-D03、P1-F02、P1-G09、P2-A01、P2-A03、P2-C12、P2-F07及びP2-F11（左から右へ）。個別の抗FAM19A5抗体に対するKd(nM)を表す。

【図19A】異なるFAM19A5抗体（100 μg /マウス）で処理された動物から脳組織の損傷された領域の代表的な免疫組織化学染色イメージを提供する。2つの異なる濃度100 μg （上部列）及び10 μg （下部列）で抗体13B4に対する代表的なイメージを示す。それぞれのイメージにおいて、脳組織部分は、脳傷害後に反応性星状細胞から誘導されるものと知られた、GFAP（神経膠線維酸性タンパク質、緑色）及びネスチン（赤色）で染色された。点線は、外傷性脳傷害に露出後病巣境界を表示する。

【図19B】異なるFAM19A5抗体（100 μg /マウス）で処理された動物から脳組織の損傷された領域の代表的な免疫組織化学染色イメージを提供する。抗体13F7に対する6個の異なる代表的なイメージを示す。それぞれのイメージにおいて、脳組織部分は、脳傷害後に反応性星状細胞から誘導されるものと知られた、GFAP（神経膠線維酸性タンパク質、緑色）及びネスチン（赤色）で染色された。点線は、外傷性脳傷害に露出後病巣境界を表示する。

【図19C】異なるFAM19A5抗体（100 μg /マウス）で処理された動物から脳組織の損傷された領域の代表的な免疫組織化学染色イメージを提供する。抗体15A9に対する3個の異なる代表的なイメージを示す。それぞれのイメージにおいて、脳組織部分

10

20

30

40

50

は、脳傷害後に反応性星状細胞から誘導されるものと知られた、GFAP（神経膠線維酸性タンパク質、緑色）及びネスチン（赤色）で染色された。点線は、外傷性脳傷害に露出後病巣境界を表示する。

【図19D】異なるFAM19A5抗体（100 µg / マウス）で処理された動物から脳組織の損傷された領域の代表的な免疫組織化学染色イメージを提供する。抗体P2-A03（上部列）及びP2-F11（下部列）に対するそれぞれ3個の代表的なイメージを示す。それぞれのイメージにおいて、脳組織部分は、脳傷害後に反応性星状細胞から誘導されるものと知られた、GFAP（神経膠線維酸性タンパク質、緑色）及びネスチン（赤色）で染色された。点線は、外傷性脳傷害に露出後病巣境界を表示する。

【図19E】異なるFAM19A5抗体（100 µg / マウス）で処理された動物から脳組織の損傷された領域の代表的な免疫組織化学染色イメージを提供する。抗体P1-A03に対する3個の代表的なイメージを示す。それぞれのイメージにおいて、脳組織部分は、脳傷害後に反応性星状細胞から誘導されるものと知られた、GFAP（神経膠線維酸性タンパク質、緑色）及びネスチン（赤色）で染色された。点線は、外傷性脳傷害に露出後病巣境界を表示する。

【発明を実施するための形態】

【0072】

関連出願の相互参照

本出願は、2016年11月7日付に出願された米国特許仮出願番号第62/418,674号に優先権を主張し、その全文が本明細書に参考として組み込まれる。

【0073】

電子的に提出された配列目録の参考資料

本出願と共に提出されたASCIIテキストファイル（ファイル名：3763.003PC01__ST25.txt、サイズ：133,676バイト、生成日：2017年11月6日）で電子的に提出された配列目録の内容全体が本明細書に参考として組み込まれる。

【0074】

配列類似性を持つヒトファミリー19、メンバー5（FAM19A5）に特異的に結合し、本明細書に開示された特性の一つ以上を表す、分離された単クローン性抗体又はその抗原結合部分が開示される。

【0075】

一具体例において、単クローン性抗体又はその抗原結合部分は、ヒトFAM19A5エピトープに対する結合において重鎖及び軽鎖を含む基準抗体と相互競合し、(i)前記重鎖CDR1はSEQ ID NO:7; SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:83又はSEQ ID NO:89のアミノ酸配列を含み、(ii)前記重鎖CDR2はSEQ ID NO:8; SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:84又はSEQ ID NO:90のアミノ酸配列を含み、(iii)前記重鎖CDR3はSEQ ID NO:9; SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:85又はSEQ ID NO:91のアミノ酸配列を含む。一部の具体例において、(i)前記軽鎖CDR1はSEQ ID NO:10; SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:62、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO

10

20

30

40

50

: 80、SEQ ID NO: 86又はSEQ ID NO: 92のアミノ酸配列を含み、(ii)前記軽鎖CDR2はSEQ ID NO: 11; SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 87又はSEQ ID NO: 93のアミノ酸配列を含み、(iii)前記軽鎖CDR3はSEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 88又はSEQ ID NO: 94のアミノ酸配列を含む。

10

【0076】

一部の具体例において、基準抗体は、(1)SEQ ID NO: 5を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 6を含む軽鎖可変領域(VL); (2)SEQ ID NO: 103を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 114を含む軽鎖可変領域(VL); (3)SEQ ID NO: 104を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 115を含む軽鎖可変領域(VL); (4)SEQ ID NO: 105を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 116を含む軽鎖可変領域(VL); (5)SEQ ID NO: 106を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 117を含む軽鎖可変領域(VL); (6)SEQ ID NO: 107を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 118を含む軽鎖可変領域(VL); (7)SEQ ID NO: 108を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 119を含む軽鎖可変領域(VL); (8)SEQ ID NO: 109を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 120を含む軽鎖可変領域(VL); (9)SEQ ID NO: 110を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 121を含む軽鎖可変領域(VL); (10)SEQ ID NO: 111を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 122を含む軽鎖可変領域(VL); (11)SEQ ID NO: 112を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 123を含む軽鎖可変領域(VL); または(12)SEQ ID NO: 113を含む重鎖可変領域(VH)及びSEQ ID NO: 124を含む軽鎖可変領域(VL)を含む。

20

30

【0077】

一部の具体例において、単クローン性抗体又はその抗原結合部分は、SEQ ID NO: 2である、少なくとも一つのFAM19A5エピトープに結合する。他の具体例において、単クローン性抗体、又はその抗原結合部分は、SEQ ID NO: 2である、一つのFAM19A5エピトープにだけ結合する。一部の具体例において、単クローン性抗体又はその抗原結合部分は、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17及びそれらの組合せからなる群から選ばれる追加のFAM19A5エピトープにさらに結合する。

40

【0078】

一部の具体例において、単クローン性抗体又はその抗原結合部分は、EP6、EP7、及び/又はEP8として確認された少なくとも一つのFAM19A5エピトープに結合し、EP6はアミノ酸KTKQWCDML(SEQ ID NO: 139)を含んだり、これらから本質的に構成されたり又はこれらから構成され、EP7はアミノ酸GCDLLINR(SEQ ID NO: 140)を含んだり、これらから本質的に構成されたり又はこれらから構成され、EP8はアミノ酸TCTQPGGR(SEQ ID NO: 141)を含む、又はこれらから本質的に構成され、又はこれらから構成される。特定の具体例において、単クローン性抗体又はその抗原結合部分は、EP6、EP7及び/又はEP8にだけ結合する。他の具体例において、単クローン性抗体又はその抗原結合部分は、SEQ ID NO: 134、SEQ ID NO: 135、SEQ ID NO: 136、

50

SEQ ID NO: 137、SEQ ID NO: 138 及びそれらの任意の組合せからなる群から選ばれる追加の FAM19A5 エピトープにさらに結合する。

【0079】

開示された内容の理解を容易にさせるために、多数の用語及び語句が定義される。追加の定義は、詳細な説明全般にわたって提示される。

【0080】

I. 定義

本開示内容の全体において、用語“一つの”又は“ある”実体は、その実体の一つ以上であることを意味する；例えば、“一つの抗体”は、一つ以上の抗体を表すものと理解される。このように、用語“一つの”（又は“ある”）、“一つ以上の”及び“少なくとも一つの”は、互いに言い換えることができる。

10

【0081】

また、“及び/又は”は、他の一方と共に又は他の一方無しで両方の明示された特徴又は成分のそれぞれの具体的な開示として使用されると理解すべきである。したがって、“A 及び/又は B”は、“A 及び B”、“A 又は B”、“A（単独）”、及び“B（単独）”を含むことを意図する。同様に、“A、B 及び/又は C”は、“A、B 及び C”、“A、B 又は C”、“A 又は C”、“A 又は B”、“B 又は C”、“A 及び C”、“A 及び B”、“B 及び C”、“A（単独）”、“B（単独）”、及び“C（単独）”の態様のそれぞれを含むことを意図する。

【0082】

各態様が単語“含む”と共に使われる場合には、“構成される”及び/又は“本質的に構成される”の側面で説明された他の類似の態様も提供されるものとして理解される。

20

【0083】

別に定義されない限り、開示された全ての技術及び科学用語は、関連する当業者によって通常理解されるものと同じ意味を有する。例えば、Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei - Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 及び the Oxford Dictionary Of Biochemistry and

30

【0084】

Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press が、本開示内容で使用された大部分の用語に対する一般辞典的意味を当業者に提供する。

【0085】

単位、接頭辞及び記号は、Système International de Unité (SI) で承認された形態で表示される。数値範囲は、当該範囲を限定する数字の両端の値を含む。別に言及しない限り、アミノ酸配列は左側から右側にアミノからカルボキシ方向に提示される。提供された表題は、本発明の様々な態様の制限ではなく、それらは全体的に本明細書に対する参照として利用され得る。したがって、次に定義される用語は、明細書全般においてより十分に定義される。

40

【0086】

用語“約”は、概略的、およそ、近く又は付近を意味する。用語“約”が数値範囲と共に使用された時、提示された数値範囲の上と下の限界を延長することによって当該範囲を変更する。一般に、用語“約”は、例えば、上や下に（より高いか又はより低い）10%の変量だけ、明示された値の上と下へと数値範囲を変更し得る。

【0087】

用語“配列類似性を持つファミリー19、メンバーA5”又は“FAM19A5”は、5個の高度に相同性であるタンパク質のTAF Aファミリー（FAM19ファミリーともいう。）に属するタンパク質を指し、脳と脊髄で主導的に発現する。FAM19A5はま

50

た、T A F A 5 又はケモカイン様タンパク質 T A F A - 5 とも知られている。

【 0 0 8 8 】

ヒトにおいて、F A M 1 9 A 5 を暗号化する遺伝子は、染色体 2 2 に位置する。次のような多数のヒト F A M 1 9 A 5 (U n i P r o t : Q 7 Z 5 A 7) イソフォームがあり、それらは代案的スプライシングによって生成され得る：1 3 2 個のアミノ酸で構成されたイソフォーム 1 (U n i P r o t : Q 7 Z 5 A 7 - 1)、1 2 5 個のアミノ酸で構成されたイソフォーム 2 (U n i P r o t : Q 7 Z 5 A 7 - 2) 及び 5 3 個のアミノ酸で構成されたイソフォーム 3 (U n i P r o t : Q 7 Z 5 A 7 - 3)。ヒト F A M 1 9 A 5 タンパク質は膜結合された形態と可溶性(分泌された)形態で存在する。イソフォーム 1 は、一つの経膜領域を持つ膜である。イソフォーム 2 は、分泌されたタンパク質(可溶性)として T a n g T . Y . e t a l . , G e n o m i c s 8 3 (4) : 7 2 7 - 3 4 (2 0 0 4) に報告されており、アミノ酸位置 1 - 2 5 に信号ペプチドを含有する。イソフォーム 1 は膜タンパク質と見なされる。次にこの 3 つの公知されたヒト F A M 1 9 A 5 イソフォームのアミノ酸配列が提示される。

10

(I) イソフォーム 1 (U n i P r o t : Q 7 Z 5 A 7 - 1、経膜タンパク質) : このイソフォームが公式配列として選択された。

M A P S P R T G S R Q D A T A L P S M S S T F W A F M I L A S L L I A Y
C S Q L A A G T C E I V T L D R D S S Q P R R T I A R Q T A R C A C R K
G Q I A G T T R A R P A C V D A R I I K T K Q W C D M L P C L E G E G C D
L L I N R S G W T C T Q P G G R I K T T T V S (S E Q I D N O : 1)

20

(II) イソフォーム 2 (U n i P r o t : Q 7 Z 5 A 7 - 2、可溶性タンパク質) :

M Q L L K A L W A L A G A A L C C F L V L V I H A Q F L K E G Q L A A G
T C E I V T L D R D S S Q P R R T I A R Q T A R C A C R K G Q I A G T T
R A R P A C V D A R I I K T K Q W C D M L P C L E G E G C D L L I N R S G
W T C T Q P G G R I K T T T V S (S E Q I D N O : 4)

(III) イソフォーム 3 (U n i P r o t : Q 7 Z 5 A 7 - 3) :

M Y H H R E W P A R I I K T K Q W C D M L P C L E G E G C D L L I N R S
G W T C T Q P G G R I K T T T V S (S E Q I D N O : 2 6)

【 0 0 8 9 】

用語“ F A M 1 9 A 5 ”は、細胞によって自然的に発現する F A M 1 9 A 5 の任意の変異体又はイソフォームを含む。したがって、本明細書に開示された抗体は、同じ種における異なるイソフォーム(例えば、ヒト F A M 1 9 A 5 の異なるイソフォーム)と交差反応、又はヒト以外の別の種からの F A M 1 9 A 5 (例えば、マウス F A M 1 9 A 5)と交差反応し得る。また、抗体は、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的でよく、別の種との交差反応性を示すことはできない。F A M 1 9 A 5 又はその任意の変異体及びイソフォームは、これらを自然的に発現する細胞又は組織から分離され又は組換え生成され得る。ヒト F A M 1 9 A 5 を暗号化するポリヌクレオチドは、G e n B a n k 受託番号 B C 0 3 9 3 9 6 及び次の配列を有する。

30

【 0 0 9 0 】

【表 1 A】

ヒトFAM19A5のポリヌクレオチド配列

	Polynucleotide sequence (SEQ ID NO: 3)				
FAM19A5 (GenBank Accession No. BC039396)	ggcggcggag	gatggcgcgc	gcggggcccg	cacgtggagg	ccggcgcggg
	ggcgcgggca	gggccggctg	ctgagacgcg	ctgctgcccc	ccgcgcgggc
	gccgcggcctt	caatggcgcc	atcgcccagg	accggcagcc	ggcaagatgc
	gaccgcccctg	cccagcatgt	cctcaacttt	ctgggcggtt	atgatcctgg
	ccagcctgct	catcgccctac	tgcagtcagc	tggccgcggg	cacctgtgag
	attgtgacct	tggaccggga	cagcagccag	cctcggagga	cgatcgcccg
	gcagaccgcc	cgctgtgcgt	gtagaaaggg	gcagatcgcc	ggcaccacga
	gagcccggcc	cgctgtgtg	gacgcaagaa	tcatcaagac	caagcagtgg
	tgtgacatgc	ttccgtgtct	ggagggggaa	ggctgcgact	tgttaatcaa
	ccggtcaggc	tggacgtgca	cgcagcccgg	cgggaggata	aagaccacca
	cggtctcctg	acaaacacag	cccctgaggg	ggccccggga	gtggccttgg
	ctccctggag	agcccacgtc	tcagccacag	ttctccactc	gcctcggact
	tcaccctgct	tctgccgccc	gcccactccg	tttccctgtg	gtccgtgaag
	gacggcctca	ggccttggca	tectgagctt	cggtctgtcc	agccgaccgc
	aggaggccgg	actcagacac	ataggcgggg	ggcggcacct	ggcatcagca
	atacgcagtc	tgtgggagcc	cggccgcgcc	cagccccccg	cgaccgtggc
	gttggccctg	ctgtcctcag	aggaggagga	ggaggaggca	gctccggcag
	ccacagaagg	ctgcagccca	gcccgcctga	gacacgagc	ctgccccagg
	ggactgtcag	gcacagaagc	ggcctcctcc	cgtgccccag	actgtccgaa
	ttgcttttat	tttcttatac	tttcagtata	ctccatagac	caaagagcaa
	aatctatctg	aacctggacg	caccctcact	gtcagggctc	ctggggctgc
	ttgtgcgggc	gggagggcaa	tgggtggcaga	gacatgctgg	tggccccggc
	ggagcggaga	gggcggccgt	ggtggaggcc	tccaccccag	gagcaccccc
	cacaccctcg	gaggacgggc	ttcggctgcg	cggaggccgt	ggcacacctg
	cgggaggcag	cgacggcccc	cacgcagacg	ccgggaacgc	aggccgcttt
	attcctctgt	acttagatca	acttgaccgt	actaaaatcc	ctttctgttt
	taaccagtta	aacatgcctc	ttctacagct	ccatttttga	tagttggata
	atccagtatc	tgccaagagc	atggtgggtc	tcccgtgact	gctgcctcat
	cgatacccca	tttagctcca	gaaagcaaag	aaaactcgag	taacacttgt
		ttgaaagaga	tcattaatg	tattttgcaa	agcccaaaaa

10

20

30

【0091】

用語“抗体(antibody)”及び“抗体(antibodies)”は当業界の用語であり、互換して本明細書にて使われており、抗原に特異的に結合する抗原結合部位を持つ分子のことを指す。本明細書に使われるこの用語は、全抗体及び任意の抗原結合断片(すなわち、“抗原結合部分”)又はその単鎖を含む。一具体例において、“抗体”は、二硫化物結合によって相互連結された少なくとも2個の重鎖(H)と2個の軽鎖(L)を含む糖タンパク質又はその抗原結合部分を指す。他の具体例において、“抗体”は、単一可変ドメイン、例えばVHHドメインを含む単鎖抗体を指す。各重鎖は、重鎖可変領域(VHと略記)と重鎖不変領域からなる。自然的に発生した抗体において、重鎖不変領域は3個のドメイン、CH1、CH2及びCH3からなる。自然的に発生した抗体において、各軽鎖は、軽鎖可変領域(VLと略記)と軽鎖不変領域からなる。軽鎖不変領域は一つのドメイン、CLからなる。

40

50

【 0 0 9 2 】

VH及びVL領域は、相補性決定領域(CDR)と命名された、超可変性の領域へとさらに細分でき、これらは、フレームワーク領域(FR)と命名されたさらに保存された領域に散在する。各VH及びVLは、3個のCDRと4個のFRからなり、これらは、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及びFR4の順序でアミノ末端からカルボキシ末端へと配列される。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の不変領域は、免疫系の様々な細胞(例えば、エフェクター細胞)及び古典的補体システムの第1成分(C1q)を含む、免疫グロブリンと宿主組織又は因子の結合を媒介し得る。

【 0 0 9 3 】

用語“Kababatナンバリング”及び類似の用語は当業界で認定され、抗体又はその抗原結合部分の重鎖及び軽鎖可変領域においてアミノ酸残基をナンバリングするシステムをいう。特定の態様において、抗体のCDRは、Kababatナンバリングシステムによって決定され得る(例えば、Kababat EA & Wu TT (1971) Ann NY Acad Sci 190:382-391及びKababat EA et al, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242参照)。Kababatナンバリングシステムを用いて、抗体重鎖分子内のCDRは典型的にアミノ酸位置31~35(これは選択的に35番に続いて1個又は2個の追加のアミノ酸を含むことができる(Kababatナンバリングシステムにおいて35A及び35Bという。))(CDR1)、アミノ酸位置50~65(CDR2)、及びアミノ酸位置95~102(CDR3)に存在する。Kababatナンバリングシステムを用いて、抗体軽鎖分子内のCDRは典型的にアミノ酸位置24~34(CDR1)、アミノ酸位置50~56(CDR2)、及びアミノ酸位置89~97(CDR3)に存在する。特定の具体例において、本明細書に開示された抗体のCDRは、Kababatナンバリング方式によって決定された。語句“Kababatに提示されたアミノ酸位置ナンバリング”、“Kababat位置”及びそれらの変形は、Kababat et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest (5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))において抗体集団の重鎖可変ドメイン又は軽鎖可変ドメインに使用されたナンバリングシステムをいう。このナンバリングシステムを用いて、実際の線形アミノ酸配列は、可変ドメインのFW又はCDRの短縮、又はこれへの挿入に相応するより少ない又は追加のアミノ酸を含有することができる。例えば、重鎖可変ドメインはH2の残基52に続いて単一アミノ酸挿入体(Kababatによって残基52a)を含むことができ、重鎖FW残基82に続いて挿入された残基(例えば、Kababatによって残基82a、82b、及び82cなど)を含むことができる。表1Bを参照されたい。

【 0 0 9 4 】

10

20

30

【表 1 B】

Loop	Kabat	AbM	Chothia
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32..34
		<u>(Kabat Numbering)</u>	
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32
		<u>(Chothia Numbering)</u>	
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

10

20

【0095】

残基のKabatナンバリングは、抗体配列の相同性領域において“標準”Kabatナンバリング配列との整列によって与えられた抗体に対して決定され得る。Chothiaは、構造的ループの位置を提案する(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987))。Kabatナンバリング慣例を用いてナンバリングされた時、Chothia CDR-H1ループの末端は、ループの長さによってH32とH34との間で可変的である(これは、Kabatナンバリング方式が挿入部をH35AとH35Bに位置させるためである。35Aと35B両方とも存在しない場合、ループは32で終わる。35Aだけ存在すると、ループは33で終わる。35Aと35Bの両方が存在する場合は、ループは34で終わる)。AbM超可変領域は、Kabat CDRとChothia構造的ループ間の相殺を表示し、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用される。

30

【0096】

IMGT (ImMunoGeneTics) も、CDRを含む免疫グロブリン可変領域のためのナンバリングシステムを提供する。例えば、Lefranc, M. P. et al, Dev. Comp. Immunol. 27: 55-77 (2003) を参照し、これは参考として本明細書に組み込まれる。IMGTナンバリングシステムは、5,000個を超える配列の整列、構造データ及び超可変ループの特性化に基づいており、全ての種において可変領域とCDR領域の容易な比較を可能にする。IMGTナンバリング方式によれば、VH-CDR1は位置26~35にあり、VH-CDR2は位置51~57にあり、VH-CDR3は位置93~102にあり、VL-CDR1は位置27~32にあり、VL-CDR2は位置50~52にあり、VL-CDR3は位置89~97にある。

40

【0097】

本明細書に開示された全ての重鎖不変領域アミノ酸位置に対するナンバリングは、最初に配列化されたヒトIgG1である骨髄腫タンパク質EUのアミノ酸配列を説明している、Edelman et al, 1969, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63(1): 78-85に最初に開示されたEUインデックスに従う。EdelmanなどのEUインデックスは、Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. (United States Public Health Serv

50

ice, National Institutes of Health, Bethesda)にも提示される。したがって、語句“Kabatatに提示されたEUインデックス”又は“KabatatのEUインデックス”及び“Kabatatに提示されたEUインデックスに従う...位置”及びそれらの変形は、Kabatat1991に提示されたようなEdeImanなどのヒトIgG1EU抗体に基づく残基ナンバリングシステムを指す。

【0098】

可変ドメイン(重鎖及び軽鎖の両方とも)及び軽鎖不変領域アミノ酸配列に使用されたナンバリングシステムは、Kabatat1991に提示されたものである。

【0099】

抗体は、免疫グロブリン分子の任意のタイプ(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA又はIgY)、任意の類型(例えば、Igd、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1又はIgA2)、又は任意のサブクラス(例えば、ヒトにおいてIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4、及びマウスにおいてIgG1、IgG2a、IgG2b及びIgG3)を有することができる。免疫グロブリン、例えばIgG1は、いくつかのアロタイプで存在し、これらは、最大でいくつかのアミノ酸が互いに異なる。本明細書に開示された抗体は、通常知られたイソタイプ、類型、サブクラス又はアロタイプのいずれかから由来し得る。特定の具体例において、本明細書に提示された抗体は、IgG1、IgG2、IgG3又はIgG4サブクラス又はそれらの任意のハイブリッドに属する。特定の具体例において、抗体はIgG2、IgG4又はIgG2/IgG4サブクラスに属する。

10

20

【0100】

抗体は、例えば、自然発生及び非自然発生抗体；単クローン性及び多クローン性抗体；キメラ及びヒト化抗体；ヒト及び非ヒト抗体；完全合成抗体；単鎖抗体；単一特異的抗体；多重特異的抗体(二重特異的抗体を含む。)；2個の重鎖分子と2個の軽鎖分子を含むテトラマー抗体；抗体軽鎖モノマー；抗体重鎖モノマー；抗体軽鎖ダイマー、抗体重鎖ダイマー、抗体軽鎖-抗体重鎖対；イントラポディー；ヘテロコンジュゲート抗体；1価抗体；単鎖抗体；ラクダ化抗体；アフィポディー；抗イデオタイプ(抗Id)抗体(例えば、抗-抗Id抗体を含む。)及び十分に抗原結合ができる単一モノマー可変抗体ドメイン(例えば、VHドメイン又はVLドメイン)で構成された結合分子を含む単一ドメイン抗体(sdAbs)を含む(Harmen M. M. and Haard H. J. Appl Microbiol Biotechnol. 77(1):13-22(2007))。

30

【0101】

本明細書で使う用語、抗体の“抗原結合部分”は、抗原に特異的に結合する能力を保有した抗体(例えば、ヒトFAM19A5)の一つ以上の断片をいう。このような“断片”は、例えば約8~約1500個のアミノ酸長、好適には約8~約745個のアミノ酸長、約8~約300個、約8~約200個のアミノ酸又は約10~約50個又は100個のアミノ酸長である。抗体の抗原結合機能は、全長抗体の断片によって行われることから明らかになった。抗体、例えば、本明細書に開示された抗FAM19A5抗体の“抗原結合部分”という用語に含まれた結合断片の例は、(i)Fab断片、VL、VH、CL及びCH1ドメインで構成された1価断片；(ii)F(ab')2断片、ヒンジ領域で二硫化物ブリッジによって連結された2個のFab断片を含む2価断片；(iii)VH及びCH1ドメインで構成されたFd断片；(iv)抗体の一つの腕のVL及びVHドメイン、及び二硫化物-連結されたFv(sdFv)で構成されたFv断片；(v)VHドメインで構成されたdAb断片(Ward et al, (1989) Nature 341:544-546)及び(vi)分離された相補性決定領域(CDR)又は(vii)合成リンカーによって選択的につながり得る2つ以上の分離されたCDRの組合せを含む。また、Fv断片、VL及びVHのうち2個のドメインは別の遺伝子によってコードされるが、組換え方法を用いて、VLとVH領域が対をなして1価分子(単鎖Fv(scFv))を形成した単一タンパク質鎖をなさせ得る合成リンカーによってつながり得る(Bird et

40

50

al, (1988) Science 242: 423 - 426; 及び Huston et al, (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879 - 5883 参照)。このような単鎖抗体も同様、抗体の“抗原結合部分”に含まれるように意図される。これらの抗体断片は、当業者に公知である従来技術によって得られ、断片は無損傷抗体と同じ方式で有用性に対してスクリーニングされる。抗原結合部分は、組換えDNA技術、又は無損傷免疫グロブリンの酵素又は化学的切断によって生成され得る。

【0102】

本明細書で使われた用語“可変領域”又は“可変ドメイン”は、互換して使用する。可変領域は、典型的に抗体の一部分、一般的に軽鎖又は重鎖の一部分、典型的に成熟した重鎖において約アミノ末端110～120個のアミノ酸及び成熟した軽鎖において約90～115個のアミノ酸をいい、それらは抗体ごとに配列が広範囲に異なり、特定抗体の特定抗原に対する結合及び特異性を特化する。配列の可変性は、相補性決定領域(CDR)と呼ばれる領域に集中し、可変ドメインにおいてより高度に保存された領域は、フレームワーク領域(FR)と呼ばれる。

10

【0103】

軽鎖及び重鎖のCDRは、抗体と抗原の相互作用及び特異性を主に担当する。特定の具体例において、可変領域はヒト可変領域である。特定の具体例において、可変領域は、げっ歯類又はミューリンCDRとヒトフレームワーク領域(FR)を含む。特定の具体例において、可変領域は、霊長類(例えば、非ヒト霊長類)可変領域である。特定の具体例において、可変領域は、げっ歯類又はミューリンCDRと霊長類(例えば、非ヒト霊長類)フレームワーク領域(FR)を含む。

20

【0104】

本明細書に提示された用語“重鎖”とは、抗体と共に使用される場合、任意の異なるタイプ、例えば、不変ドメインのアミノ酸配列に基づいてアルファ()、デルタ()、エプシロン()、ガンマ()及びミュー(μ)のことを指すことができ、これらはそれぞれ、IgGのサブクラス、例えばIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4を含む抗体のIgA、IgD、IgE、IgG及びIgMの類型を発生させる。

【0105】

本明細書に提示された用語“軽鎖”とは、抗体と共に使用される場合、任意の異なるタイプ、例えば、不変ドメインのアミノ酸配列に基づいてカッパ()又はラムダ()のことを指すことができる。軽鎖アミノ酸配列は、当業界によく知られている。特定の具体例において、軽鎖はヒト軽鎖である。

30

【0106】

用語“VL”及び“VLドメイン”は、互換して使用され、抗体の軽鎖可変領域を指す。

【0107】

用語“VH”及び“VHドメイン”は、互換して使用され、抗体の重鎖可変領域を指す。

【0108】

本明細書で使われた用語“不変領域”又は“不変ドメイン”は、互換して使用可能である。不変領域は、抗体部分、例えば、抗体と抗原の結合には直接伴わないが、Fc受容体との相互作用のような様々なエフェクター機能を示し得る軽鎖及び/又は重鎖のカルボキシ末端部分である。免疫グロブリン分子の不変領域は一般に、免疫グロブリン可変ドメインに比べてさらに保存されたアミノ酸配列を有する。

40

【0109】

“Fc領域”(断片結晶化可能な領域)、“Fcドメイン”又は“Fc”は、免疫系の様々な細胞(例えば、エフェクター細胞)上に位置したFc受容体又は古典的補体システムの第1成分(C1q)との結合を含む、免疫グロブリンと宿主組織又は因子の結合を媒

50

介する抗体の重鎖のC末端領域を指す。したがって、Fc領域は、第1不変領域免疫グロブリンドメイン（例えば、CH1又はCL）を除く抗体の不変領域を含む。IgG、IgA及びIgD抗体イソタイプにおいて、Fc領域は、抗体の2つの重鎖の第2（CH2）及び第3（CH3）不変ドメインから由来した、2つの同じタンパク質断片を含む；IgM及びIgE Fc領域は、各ポリペプチド鎖において3個の重鎖不変ドメイン（CHドメイン2～4）を含む。IgGの場合、Fc領域は、免疫グロブリンドメインC₂及びC₃、そしてC₁とC₂間のヒンジを含む。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は可変的であり、ヒトIgG重鎖Fc領域は一般に、位置C₂₂₆又はP₂₃₀にあるアミノ酸残基（又は、これら2つのアミノ酸間のアミノ酸）から重鎖のカルボキシ末端まで伸びるものと定義され、ここでナンバリングは、Kabataに提示されたEUインデックスに従う。ヒトIgG Fc領域のCH₂ドメインは、概略アミノ酸231から概略アミノ酸340まで延長され、CH₃ドメインはFc領域においてC_mドメインのC末端側に位置するが、すなわち、IgGの概略アミノ酸341から概略アミノ酸447まで延長される。本明細書に提示されたFc領域は、任意のアロタイプ変異体を含む自生配列Fc又は変異体Fc（例えば、非自然発生Fc）でよい。また、Fcは、“Fc融合タンパク質”（例えば、抗体又は免疫接合体）ともいう“Fc領域を含む結合タンパク質”のようなFc含有タンパク質ポリペプチドでよい。

10

【0110】

“自生配列Fc領域”又は“自生配列Fc”は、自然から発見されたFc領域のアミノ酸配列と同じアミノ酸配列を含む。自生配列ヒトFc領域は、自生配列ヒトIgG1Fc領域；自生配列ヒトIgG2Fc領域；自生配列ヒトIgG3Fc領域；及び自生配列ヒトIgG4Fc領域だけでなく、それらの自然的に発生した変異体を含む。自生配列Fcは、Fesの様々なアロタイプを含む（例えば、Jefferys et al., (2009) mAbs 1:1; Vidarsson G. et al., Front Immunol. 5:520 (オンライン公開2014-10-20)）。

20

【0111】

“Fc受容体”又は“FcR”は、免疫グロブリンのFc領域に結合する受容体である。IgG抗体に結合するFcRは、これら受容体の対立形質変異体及び他の方式でブライシングされた形態を含むFcRファミリーの受容体を含む。FcRファミリーは、3個の活性化受容体（マウスにおいてFcRI、FcRIII及びFcRIV；ヒトにおいてFcRIA、FcRIIA及びFcRIIIA）及び一つの抑制性（FcRIIB）受容体で構成される。ヒトIgG1は、大部分のヒトFc受容体に結合し、最も強力なFcエフェクター機能を導出する。ヒトIgG4は、結合した活性化Fc受容体の種類と関連してミューリンIgG2aと同等であると見なされる。一方、ヒトIgG4は、最小限のFcエフェクター機能を導出する（Vidarsson G. et al., Front Immunol. 5:520 (オンライン公開2014-10-20)）。

30

【0112】

不変領域は、一つ以上のエフェクター機能を除去するために、例えば組換え技術によって操作され得る。“エフェクター機能”は、抗体Fc領域とFc受容体又はリガンドの相互作用、又はそれからの結果である生化学的事件をいう。例示的な“エフェクター機能”は、C1q結合、補体依存的細胞毒性(CDC)、Fc受容体結合、FcR-媒介エフェクター機能、例えばADCC及び抗体依存的細胞-媒介貪食作用(ADCP)及び細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体；BCR）の下方調節を含む。このようなエフェクター機能は一般に、結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメイン）と組み合わせられ得るFc領域を必要とする。したがって、用語“Fc機能がない不変領域”は、Fc領域によって媒介された一つ以上のエフェクター機能が減少した又は初めからない不変領域を含む。

40

【0113】

抗体のエフェクター機能は、異なる接近法によって減少され又は回避され得る。抗体のエフェクター機能は、Fc領域を欠如した抗体断片（例えば、Fab、F(ab')₂、単鎖Fv(scFv)、又はモノマーVH又はVLドメインで構成されたsdAbのよう

50

な)によって減少され又は回避され得る。また、Fc領域において特定残基に結合された糖を除去して、いわゆる非グリコシル化(aglycosylated)抗体を生成することができ、これによって、Fc領域の他の価値ある属性(例えば、延長された半減期及びヘテロダイマー化)は維持したままで抗体のエフェクター機能を減少させることができる。非グリコシル化抗体は、例えば、糖が付着された残基の欠失又は変更、酵素的糖除去、グリコシル化抑制剤の存在下に培養された細胞において抗体の生成、又はタンパク質をグリコシル化できない細胞(例えば、バクテリア宿主細胞)において抗体の発現によって生成され得る(例えば、米国特許公開第20120100140号参照)。他の接近法は、減少されたエフェクター機能を持つIgGサブクラスからFc領域を利用することであり、例えば、IgG2及びIgG4抗体は、IgG1及びIgG3よりも低いレベルのFcエフェクター機能の有することを特徴とする。Fc部分のCH2ドメインにおいてヒンジ領域に最も近くにある残基が抗体のエフェクター機能を担当し、それは先天的免疫系のエフェクター細胞上のClq(補体)及びIgG-Fc受容体(FcR)に対して相当重なった結合部位を有する(Vidarsson G. et al., Front Immunol. 5: 520 (オンライン公開2014-10-20))。したがって、Fcエフェクター機能が減少された又は減少されない抗体は、例えば、IgG4イソタイプのIgG抗体からのCH2ドメインとIgG1イソタイプのIgG抗体からのCH3ドメインを含むキメラFc領域、又はIgG2からのヒンジ領域とIgG4からのCH2領域を含むキメラFc領域(例えば、Lau C. et al., J. Immunol. 191: 4769-4777 (2013)参照)、又は変更されたFcエフェクター機能、例えば減少された又は減少されないFc機能をもたらす突然変異を持つFc領域を生成することによって作製され得る。突然変異を持つかかるFc領域は、当業界に公知である(例えば、米国特許公開第20120100140号及びこの文献で引用された米国出願及びPCT出願及びAn et al., mAbs 1: 6, 572-579 (2009)参照;これらの開示内容は、その全体が本明細書に参考として含まれる)。

【0114】

“ヒンジ”、“ヒンジドメイン”、“ヒンジ領域”又は“抗体ヒンジ領域”は、CH1ドメインとCH2ドメインを連結する重鎖不変領域のドメインをいい、ヒンジの上部、中央及び下部の部分を含む(Roux et al., J. Immunol. 1998 161: 4083)。ヒンジは、抗体の結合領域とエフェクター領域の間に様々なレベルのフレキシビリティを提供し、また、両重鎖不変領域の間に分子間二硫化物結合のための部位を提供する。本明細書に提示されたヒンジは、全てのIgGイソタイプに対してGlu216から始まってGly237で終わる(Roux et al., 1998 J. Immunol. 161: 4083)。野生型IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4ヒンジの配列は、当業界に公知されている(例えば、Kabat EA et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Vidarsson G. et al., Front Immunol. 5: 520 (オンライン公開2014-10-20)参照)。

【0115】

用語“CH1ドメイン”は、重鎖不変ドメインのヒンジと可変ドメインを連結する重鎖不変領域のことをいう。本明細書に提示されたCH1ドメインは、A118から始まってV215で終わる。用語“CH1ドメイン”は、野生型CH1ドメインだけでなく、自然的に存在するその変異体を含む(例えば、アロタイプ)。IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4のCH1ドメイン配列(野生型及びアロタイプを含む。)は、当業界に公知である(例えば、Kabat EA et al., (1991)同上及びVidarsson G. et al., Front Immunol. 5: 520 (オンライン公開2014-10-20)参照)。例示的なCH1ドメインは、抗体の生物学的活性、例えば、半減期を変形するドメインを持つCH1ドメインを含む(例えば、米国特許公開第20

10

20

30

40

50

120100140号及びこの文献で引用された米国特許及び特許公開及びPCT公開を参照)。

【0116】

用語“CH2ドメイン”は、重鎖不変ドメインのCH3ドメインとヒンジを連結する重鎖不変領域をいう。本明細書に提示されたCH2ドメインは、P238から始まってK340で終わる。用語“CH2ドメイン”は、野生型CH2ドメインだけでなく、自然的に存在するその変異体を含む(例えば、アロタイプ)。IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4のCH2ドメイン配列(野生型及びアロタイプを含む。)は、当業界に公知である(例えば、Kabata EA et al, (1991)同上及びVidarsson G. et al., Front Immunol. 5:520(オンライン公開2014-10-20)参照)。例示的なCH2ドメインは、抗体の生物学的活性、例えば、半減期及び/又は減少されたFcエフェクター機能を変形するドメインを持つCH2ドメインを含む(例えば、米国特許公開第20120100140及びこの文献で引用された米国特許及び特許公開及びPCT公開を参照)。

10

【0117】

用語“CH3ドメイン”は、重鎖不変ドメインのCH2ドメインに向けてC末端である重鎖不変領域をいう。本明細書に提示されたCH3ドメインは、G341から始まってK447で終わる。用語“CH3ドメイン”は、野生型CH3ドメインだけでなく、自然的に存在するその変異体を含む(例えば、アロタイプ)。IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4のCH3ドメイン配列(野生型及びアロタイプを含む。)は、当業界に公知である(例えば、Kabata EA et al, (1991)同上及びVidarsson G. et al., Front Immunol. 5:520(オンライン公開2014-10-20)参照)。例示的なCH3ドメインは、抗体の生物学的活性、例えば、半減期を変形するドメインを持つCH3ドメインを含む(例えば、米国特許公開第20120100140及びこの文献に引用された米国特許及び特許公開及びPCT公開を参照)。

20

【0118】

本明細書に提示された“イソタイプ”は、重鎖不変領域遺伝子によって暗号化される抗体類型(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD及びIgE抗体)をいう。

30

【0119】

“アロタイプ”は、特定のイソタイプグループ内で自然的に発生する、いくつかのアミノ酸に差異がある変異体をいう(例えば、Jefferys et al, (2009) mAbs 1:1)。本明細書に開示された抗体は、任意のアロタイプを有することができる。IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4のアロタイプは、当業界に公知である(例えば、Kabata EA et al, (1991)同上; Vidarsson G. et al., Front Immunol. 5:520(オンライン公開2014-10-20); 及びLefranc MP, mAbs 1:4, 1-7(2009)参照)。

【0120】

語句“抗原を認識する抗体”及び“抗原に対して特異的な抗体”は、用語“抗原に特異的に結合する抗体”と互換して本明細書で使用される。

40

【0121】

本明細書に提示された“分離された抗体”は、異なる抗原特異性を持つ他の抗体が実質的にない抗体をいう(例えば、FAM19A5に特異的に結合する分離された抗体は、FAM19A5以外の抗原に特異的に結合する抗体が実質的にない)。しかし、FAM19A5のエピトープに特異的に結合する分離された抗体は、異なる種からの他のFAM19A5タンパク質に対して交差反応性を有する。

【0122】

“結合親和性”は、一般に、分子(例えば、抗体)の単一結合部位とその結合パートナー(例えば、抗原)間の非共有相互作用の合計強度をいう。別に示さない限り、本明細書

50

に開示された“結合親和性”は、結合対の構成員（例えば、抗体と抗原）間の1：1相互作用を反映する固有の結合親和性をいう。分子XのパートナーYに対する親和性は一般に、解離定数（ K_D ）によって表示され得る。親和性は、制限ではないが、平衡解離定数（ K_D ）及び平衡結合定数（ K_A ）を含む、当業界に公知である多数の方式で測定及び/又は表現することができる。 K_D は、 k_{off} / k_{on} から計算され、モル濃度（ M ）として表現され、 K_A は k_{on} / k_{off} から計算される。 k_{on} は、抗体と抗原の結合速度定数であり、 k_{off} は抗体と抗原の解離である。 k_{on} 及び k_{off} は、免疫分析（例えば、酵素結合免疫吸着分析（ELISA）、BIACORE（登録商標）又は力学的排除分析（KinExA）のような当業界における公知の技術によって決定され得る。

【0123】

本明細書に開示された用語“特異的に結合する”、“特異的に認識する”、“特異的結合”、“選択的結合”及び“選択的に結合する”とは、抗体と関連して類似の用語であり、抗原（例えば、エピトープ又は免疫複合体）に結合する分子（例えば、抗体）をいい、このような結合は、当業者に理解されるとおりである。例えば、抗原に特異的に結合する分子は、例えば、免疫分析、BIACORE（登録商標）、KinExA 3000機器（Sapidyne Instruments, Boise, ID）又は当業界に公知である他の分析によって決定された時、より低い親和性で、他のペプチド又はポリペプチドに結合し得る。特定の具体例において、抗原に特異的に結合する分子は、当該分子が他の抗原に結合する時の K_A よりも少なくとも $2 \log s$ 、 $2.5 \log s$ 、 $3 \log s$ 、 $4 \log s$ 又はそれ以上の K_A で抗原に結合する。

【0124】

抗体は、典型的に $10^{-5} \sim 10^{-11} M$ 以下の解離定数（ K_D ）によって反映された、高い親和性で同族抗原に特異的に結合する。約 $10^{-4} M$ を超える任意の K_D は、一般的に非特異的結合を表すものと見なされる。本明細書に提示された、抗原に“特異的に結合する”抗体は、高い親和性で抗原及び実質的に同じ抗原に結合するが、無縁の抗原には高い親和性で結合しない抗体をいい、高い親和性とは、例えば、定められた抗原を使用して免疫分析（例えば、ELISA）又はBIACORE 2000機器で表面プラズモン共鳴（SPR）技術によって決定された時、 $10^{-7} M$ 以下、好ましくは $10^{-8} M$ 以下、より好ましくは $10^{-9} M$ 以下、及び最も好ましくは $10^{-8} M \sim 10^{-10} M$ 以下の K_D を有することを意味する。

【0125】

本明細書に開示された用語“抗原”は、任意の天然又は合成免疫原性物質、例えばタンパク質、ペプチド又はハプテンをいう。抗原は、FAM19A5又はその断片でよい。

【0126】

本明細書に開示された“エピトープ”とは、当業界の用語であり、抗体が特異的に結合し得る抗原の局所領域をいう。例えば、エピトープは、ポリペプチドの隣接アミノ酸であってもよく（線形又は隣接エピトープ）、又はエピトープは一つのポリペプチド又は複数のポリペプチドの2つ以上の非隣接領域から共に合わせられてもよい（立体構造的、非線形、不連続、又は非隣接エピトープ）。隣接アミノ酸から形成されたエピトープは、常時ではないが、典型的に変性溶媒への露出時に維持されるが、3次フォルディングによって形成されたエピトープは典型的に変性溶媒への処理時に失われる。エピトープは典型的に、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15又は20個のアミノ酸を独特の空間的立体構造で含む。与えられた抗体によってエピトープが結合される方式を決定するための方法（すなわち、エピトープマッピング）は当業界に公知であり、例えば、免疫プロッティング及び免疫沈殿分析を含み、本明細書では、重複又は隣接ペプチド（例えば、FAM19A5から）が、与えられた抗体（例えば、抗FAM19A5抗体）との反応性に対して試験される。エピトープの空間的立体構造を決定する方法は、当業界の技術及び本明細書に提示されたもの、例えばx-線結晶学、2-次元核磁気共鳴及びFIDX-MSを含む（例えば、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, V

10

20

30

40

50

ol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996) 参照)。

【0127】

特定の具体例において、抗体が結合するエピトープは、例えばNMR分光学、x-線回折結晶学研究、ELISA分析、質量分析法と結合された水素/重水素交換(例えば、液体クロマトグラフィー電気噴霧質量分析法)、アレイ基盤オリゴペプチドスキニング分析及び/又は突然変異誘発マッピング(例えば、部位指定突然変異誘発マッピング)によって決定され得る。x-線結晶学の場合、当業界における公知の方法のいずれかを用いて結晶化が達成され得る(例えば、Giege R et al, (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50 (Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23; Chayen E (1997) Structure 5: 1269-1274; McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303 参照)。抗体: 抗原結晶は、よく知られたx-線回折技術を用いて研究でき、X-PLOR (Yale University, 1992, Molecular Simulations, Inc. によって配布; 例えば、Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW et al; U.S. 2004/0014194 参照)、及びBUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49 (Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276 A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P et al, (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56 (Pt 10): 1316-1323) のようなコンピュータソフトウェアを用いて確認することができる。突然変異誘発マッピング研究は、当業界における公知の任意の方法を用いて行うことができる。アラニンスキニング突然変異誘発技術を含む突然変異誘発技術に関する内容は、例えば、Champe M et al, (1995) J Biol Chem 270: 1388-1394 及びCunningham BC & Wells JA (1989) Science 244: 1081-1085 を参照する。

10

20

【0128】

用語“エピトープマッピング”は、抗体-抗原認識のための分子決定基を確認する過程をいう。

30

【0129】

2つ以上の抗体と関連して用語“同一エピトープに結合する”とは、与えられた方法によって決定された時、抗体がアミノ酸残基の同一セグメントに結合するということの意味する。抗体が本明細書に提示された抗体と“FAM19A5上の同一エピトープ”に結合するか否かを決定する技術は、例えば、エピトープマッピング方法、例えば、当該エピトープの原子分解能を提供する抗原: 抗体複合体結晶に対するx-線分析及び水素/重水素交換質量分析法(HDX-MS)を含む。他の方法は、抗原断片や抗原の突然変異された変異型に対する抗体の結合をモニターし、この場合、抗原配列内でアミノ酸残基の変形による結合の喪失がエピトープ成分のしるしとして主に考慮される。また、エピトープマッピングのためのコンピュータ組合せ方式の方法が用いられてもよい。それらの方法は、組合せ方式ファジディスプレイペプチドライブラリーから特定の短いペプチドを親和性分離できる関心抗体の能力に依存する。同一のVH及びVL又は同一のCDR1、2及び3配列を持つ抗体は、同一エピトープに結合すると予想される。

40

【0130】

“標的との結合に対して他の抗体と競合する”抗体は、残りの抗体と標的の結合を抑制する(部分的に又は完全に)抗体をいう。両抗体が標的との結合に対して互いに競合するか否か、すなわち一つの抗体が残りの抗体と標的の結合を抑制するか否か及びその度合いは、公知の競合実験によって決定され得る。特定の具体例において、抗体は他の抗体と標的の結合に対して競合し、他の抗体と標的の結合を少なくとも10%、20%、30%、

50

40%、50%、60%、70%、80%、90%又は100%だけ抑制する。抑制又は競合のレベルは、抗体が“遮断抗体”（すなわち、まず標的と共にインキュベーションされる冷蔵抗体）か否かによって異なり得る。競合分析は、例えば、Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harb Protoc; 2006; doi:10.1101/pdb.prot4277又はEd Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA 1999 “Using Antibodies”の第11章に開示されたとおりに行われ得る。競合抗体は、同一エピトープ、重複エピトープ又は隣接エピトープ（例えば、立体障害によって証明されたとおりに）に結合する。

10

【0131】

他の競合結合分析は、固体相直接又は間接放射性免疫分析（RIA）、固体相直接又は間接酵素免疫分析（EIA）、サンドウィッチ競合分析（Stahli et al, Methods in Enzymology 9:242 (1983) 参照）；固体相直接ビオチン-アビジンEIA（Kirkland et al, J. Immunol. 137:3614 (1986) 参照）；固体相直接標識分析、固体相直接標識サンドウィッチ分析（Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press (1988) 参照）；I-125標識を使用する固体相直接標識RIA（Morel et al., Mol. Immunol. 25(1):7 (1988) 参照）；固体相直接ビオチン-ア

20

【0132】

“二重特異的”又は“二重機能性”抗体は、2つの異なる重鎖/軽鎖対と2つの異なる結合部位を持つ人工ハイブリッド抗体である。二重特異的抗体は、ハイブリドーマの融合又はFab'断片の結合を含む様々な方法によって生成され得る（例えば、Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990)；Kostelny et al, J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992) 参照）。

30

【0133】

本明細書に提示された“単クローン性抗体”は、特定のエピトープに対して単一結合特異性及び親和性を表す抗体又は全ての抗体が特定のエピトープに対して単一結合特異性及び親和性を表す抗体の組合せのことを指す。したがって、用語“ヒト単クローン性抗体”は、単一結合特異性を表し、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列から由来した可変領域及び選択的な不変領域を持つ抗体又は抗体組成物をいう。一具体例において、ヒト単クローン性抗体は、不滅化された細胞に融合したヒト重鎖導入遺伝子及び軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを持つ遺伝子導入非ヒト動物、例えば遺伝子導入マウスから得られたB細胞を含むハイブリドーマによって生成される。

40

【0134】

本明細書に提示された“組換えヒト抗体”は、組換え手段によって作製、発現、生成又は分離された全てのヒト抗体を含み、例えば、(a)ヒト免疫グロブリン遺伝子に対して遺伝子導入又は染色体導入である動物（例えば、マウス）又はそれから作製されたハイブリドーマから分離された抗体、(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分離された抗体、(c)組換え、組合せ方式ヒト抗体ライブラリーから分離された抗体、及び(d)ヒト免疫グロブリン遺伝子配列と他のDNA配列のスクリーニングを伴う任意の他の手段によって作製、発現、生成又は分離された抗体がある。このような組換えヒト抗体は、可変領域及び不変領域を含み、それらは、生殖細胞系（germline）遺伝子によって暗号化された特定のヒト生殖細胞系免疫グ

50

ロブリン配列を利用するが、例えば、抗体成熟化中に起きる、後続再配列及び突然変異を含む。当業界に公知とされたとおり（例えば、Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9): 1117-1125 参照）、可変領域は抗原結合ドメインを有し、外来抗原に特異的な抗体を形成するように再配列した様々な遺伝子によって暗号化される。再配列に加えて、可変領域は、外来抗原に対する抗体の親和性を増加させるために多数の単一アミノ酸変化によってさらに変形されてもよい（体細胞突然変異又は超突然変異）。不変領域は、抗原に対する追加の反応において変化するであろう（すなわち、イソタイプスイッチ）。したがって、抗原に反応して軽鎖及び重鎖免疫グロブリンポリペプチドを暗号化する再配列がなされ、体細胞突然変異された核酸分子は、親核酸分子と配列同一性を有することはできないが、その代わりに、実質的に同一又は類似になるであろう（すなわち、少なくとも80%同一性を有する）。

10

【0135】

“ヒト”抗体（HuMAb）は、フレームワークとCDR領域が両方ともヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列から由来した可変領域を持つ抗体を指す。また、抗体が不変領域を含有する場合、不変領域もまたヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列から由来する。本明細書に開示された抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によって暗号化されないアミノ酸残基を含むことができる（例えば、試験管内無作為又は部位特異的突然変異誘発によって又は生体内体細胞突然変異によって導入された突然変異）。しかし、本明細書に開示された“ヒト抗体”は、マウスのような他の哺乳類種の生殖細胞系から由来したCDR配列がヒトフレームワーク配列上にグラフトされた抗体を含まない。用語“ヒト”抗体及び“完全ヒト”抗体は、同じ意味で使われる。

20

【0136】

“ヒト化”抗体は、非ヒト抗体のCDRドメイン外にあるアミノ酸の一部、大部分又は全部がヒト免疫グロブリンから由来した相応するアミノ酸に置換された抗体をいう。抗体のヒト化形態の一具体例において、CDRドメインの外側にあるアミノ酸の一部、大部分又は全部が、ヒト免疫グロブリンからのアミノ酸に置換され、一つ以上のCDR領域内のアミノ酸の一部、大部分又は全部はそのまま維持される。アミノ酸の小さな追加、欠失、挿入、置換又は変形は、抗体が特定抗原に結合する能力を無くさない限り、許容され得る。“ヒト化”抗体は親抗体と類似の抗原特異性を保有する。

30

【0137】

“キメラ抗体”は、可変領域が一つの種から由来し、不変領域が他の種から由来した抗体、例えば、可変領域がマウス抗体から由来し、不変領域がヒト抗体から由来した抗体をいう。

【0138】

本明細書に開示された用語“交差反応する”とは、本明細書に提示された抗体が異なる種からのFAM19A5に結合する能力をいう。例えば、ヒトFAM19A5に結合する抗体はさらに、FAM19A5の他の種（例えば、マウスFAM19A5）にも結合し得る。交差反応性は、結合分析（例えば、SPR、ELISA）で精製された抗原との特異的反応性を検出することによって、又はFAM19A5を生理的に発現する細胞に対する結合又は他の機能的相互作用を検出することによって測定することができる。交差反応性を決定する方法は、本明細書に提示された標準結合分析、例えば、BIACORE 2000 SPR機器（Biacore AB, Uppsala, Sweden）を用いたBIACORE（登録商標）表面プラズモン共鳴（SPR）分析、又はフローサイトメトリック技術を含む。

40

【0139】

本明細書に開示された用語“自然的に発生した”は、物体に適用される場合、物体が自然から発見され得るということをいう。例えば、自然供給源から分離可能であり、実験室で人によって意図的に変形されていない有機体（ウイルスを含む）に存在するポリペプチド又はポリヌクレオチド配列が、自然的に発生したものである。

【0140】

50

“ポリペプチド”は、少なくとも2個の構成的に連結されたアミノ酸残基を含む鎖をいい、鎖の長さには上限がある。タンパク質において一つ以上のアミノ酸残基は、限定されないが、グリコシル化、リン酸化又は二硫化物結合形成のような変形を含有することができる。“タンパク質”は、一つ以上のポリペプチドを含むことができる。

【0141】

本明細書に開示された用語“核酸分子”は、DNA分子及びRNA分子を含む。核酸分子は、一本鎖又は二本鎖でよく、cDNAであってもよい。

【0142】

本明細書に開示された用語“ベクター”は、それが連結された他の核酸を輸送できる核酸分子のことを指す。ベクターの一つの種類は“プラスミド”であり、追加のDNAセグメントがライゲーションされ得る円形の二本鎖DNAループをいう。ベクターの他の種類は、ウイルスベクターであり、追加のDNAセグメントがウイルスゲノムにライゲーションされ得る。特定ベクターは、それらが導入された宿主細胞において自己複製が可能である(例えば、バクテリア複製起源を持つバクテリアベクター及びエピゾーム哺乳類ベクター)。他のベクター(例えば、非エピゾーム哺乳類ベクター)も、宿主細胞に導入時、宿主細胞のゲノムに統合され得、これによって宿主ゲノムと共に複製される。また、特定ベクターは、それらの作動可能に連結された遺伝子の発現を指示することができる。このようなベクターは“組換え発現ベクター”(又は簡単に、“発現ベクター”)として本明細書に提示される。一般に、組換えDNA技術において有用性を持つ発現ベクターは、主に、プラスミドの形態である。本明細書において、“プラスミド”及び“ベクター”は、互換して使用でき、プラスミドは、ベクターの最も一般的に使用される形態である。しかし、同等の機能を持つウイルスベクターのような他の形態の発現ベクターも含まれる(例えば、複製欠陥レトロウイルス、アデノウイルス及びアデノ関連ウイルス)。

【0143】

本明細書に開示された用語“組換え宿主細胞”(又は簡単に、“宿主細胞”)は、細胞に自然的に存在しない核酸を含む細胞を指し、組換え発現ベクターが導入された細胞でよい。このような用語は、特定対象細胞だけでなく、それら細胞の子孫のことも指すということが理解できよう。突然変異や環境影響によって後続世代では特定の変形が起きることがあるので、このような子孫は実際に親細胞と同一でないことがあるが、本明細書に開示された用語“宿主細胞”の範囲内に依然として含まれる。

【0144】

本明細書に開示された用語“連結された”とは、2つ以上の分子の会合(association)をいう。この連結は、共有又は非共有でよい。連結はまた、遺伝的(すなわち、組換え融合)であってもよい。このような連結は、化学的コンジュゲーション及び組換えタンパク質生成のような広範囲な当業界に認定された技術を用いて達成することができる。

【0145】

本明細書に開示された“投与する”は、当業者に公知である様々な方法及び送達システムのいずれかを用いて、対象に、治療剤又は治療剤を含む組成物を物理的に導入することをいう。本明細書に提示された抗体のための好ましい投与経路は、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下、脊椎、又は他の非経口投与経路、例えば注射や注入による経路を含む。本明細書に開示された“非経口投与”は、腸及び局所投与以外の投与方式、一般的に注射によることを意味し、限定されないが、静脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、脊椎腔内、リンパ内、病巣内、嚢内、眼窩内、心臓内、血内、経気管、皮下、皮膚下、関節内、嚢下、蜘蛛膜下、脊椎内、硬膜外及び胸骨内注射及び注入、並びに生体内電気穿孔を含む。また、本明細書に提示された抗体は、非-非経口経路、例えば局所、上皮又は粘膜投与経路を通じて、例えば、鼻腔内、経口、膣、直腸、舌下又は局所経路によって投与され得る。投与はまた、例えば1回、複数回、及び/又は1回以上の延長された期間にわたって行われ得る。

【0146】

本明細書に開示された用語“治療する”及び“治療”は、疾患に関連した症状、合併症

10

20

30

40

50

、状態又は生化学的指標の進行、発生、深程度又は再発の逆転、軽減、緩和、阻害又は遅延や予防の目的下に対象に対して行われた、又は対象に活性剤を投与する任意の種類への介入や過程をいう。治療は、疾患を持つ対象又は疾患を持たない対象（例えば、予防のために）に対して行われ得る。

【0147】

本明細書に開示された用語“対象”は、任意のヒト又は非ヒト動物を含む。用語“非ヒト動物”は、全ての脊椎動物、例えば哺乳類及び非哺乳類、例えば非ヒト霊長類、羊、犬、牛、鶏、両棲類、爬虫類などを含む。

【0148】

本明細書に開示された用語“神経膠症の開始”又は“反応性神経膠症の開始”は、神経膠症の始まり又は開始を含む。神経膠症は、例えば、外傷、脳脊髄損傷、脳腫瘍、感染、虚血、脳卒中、自己免疫反応及び/又は神経退行性疾患からの傷害や損傷に反応して中枢神経系（CNS、例えば、脳及び/又は脊髄）において神経膠細胞の非特異的反応性変化であり、星状細胞、小神経細胞及び希突起膠細胞を含むいくつかの異なるタイプの神経膠細胞の増殖や肥大を含む。神経膠症の開始は、瘢痕の形成を招くことがあり、外傷や傷害を受けたCNSの部分において軸索突起再生を阻害する。神経膠症の開始の有害な効果は、神経に対する非可逆的又は永久的な損傷及び/又は周囲ニューロンの回復の防止を含む。したがって、用語“神経膠症の開始を遅延する”及び“反応性神経膠症の開始を遅延する”とは、神経膠症の始まりや開始及びCNSに対するその関連した有害な効果を阻害、遅延、抑制又は防止することを含む。

10

20

【0149】

本明細書に開示された用語“反応性星状細胞の過度な増殖”は、例えば、CNS損傷、外傷、傷害、脳脊髄損傷、脳腫瘍、感染、虚血、脳卒中、自己免疫反応及び/又は神経退行性疾患による周囲ニューロンの破壊によって星状細胞の数が異常増加することを含む。反応性星状細胞の過度な増殖は、外傷や傷害を受けたCNSの部分において軸索突起再生を阻害する瘢痕の形成、炎症の悪化、神経毒性レベルの反応性酸素種の生成及び放出、潜在的興奮毒性グルタメートの放出、発作発生に対する潜在的寄与、血液-脳障壁機能の損傷、外傷及び脳卒中の間における細胞毒性浮腫、慢性疼痛に寄与できる星状細胞の慢性的サイトカイン活性化に対する可能性及びCNS傷害後二次的変性を含むCNSでの有害な効果を招くことがある（Sofroniew, Michael V. (2009) Trends in Neurosciences, 32(12): 638-47; McGraw, J. et al. (2001) Journal of Neuroscience Research 63(2): 109-15; and Sofroniew, M. V. (2005) The Neuroscientist 11(5): 400-7参照）。したがって、用語“反応性星状細胞の過度な増殖を抑制する”ことは、反応性星状細胞の過度又は異常増殖及びCNSに対するそれに関連した有害な効果の阻害、遅延、抑制、制限又は予防をすることを含む。

30

【0150】

本明細書に開示された用語“コンドロイチン硫酸プロテオグリカン”は、タンパク質コアとコンドロイチン硫酸からなるプロテオグリカンを含む。CSPGとも知られたコンドロイチン硫酸プロテオグリカンは、発生中のCNSと成体CNSの全てにおいて広範囲に発現した細胞外基質分子である。CSPGは、神経発生及び神経膠瘢痕の形成において重要な役割を果たし、CNSの傷害後軸索突起再生を阻害する。公知のCSPGは、アグリカン（CSPG1）、パーシカン（CSPG2）、ニューロカン（CSPG3）、CSPG4（又はニューロン-神経膠抗原2（NG2））、CSPG5、SMC3（CSPG6、染色体構造維持3）、プレビカン（CSPG7）、CD44（CSPG8、分化クラスター44）及びホスファカンニューロカン（CSPG3）を含む（Rhodes, K. E. and

40

【0151】

Fawcett, J. W. (2004) Journal of Anatom. 204

50

(1) : 33 - 48 参照)。したがって、用語“コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの発現を減少させる”ということは、一つ以上のCSGPのレベルを低下、阻害、減少させる、又は一つ以上のCSGPの活性を減少させたり非活性させることを含む。特定の具体例において、この用語は、ニューロカン、NG2、又はこれら両方のレベルを低下、阻害、減少させることを含み、また、ニューロカン、NG2、又はこれら両方の活性を減少させたり非活性させることを含む。

【0152】

本明細書に開示された用語“ニューロン”は、電気信号及び化学信号を通じて情報を加工し伝送する電氣的興奮性細胞を含む。ニューロンは、CNSの脳及び脊髄、及び末梢神経系(PNS)の神経膠の主要成分であり、互いに連結されて神経網を形成することができる。典型的なニューロンは、神経細胞体(ソーマ)、樹状突起及び軸索突起からなる。ニューロンのソーマ(神経細胞体)は核を含有する。ニューロンの樹状突起は、多くの分岐を持つ細胞延長部であり、大部分のニューロン入力が発生する。軸索突起は、ソーマから延長されたさらに微細なケーブル型保護部であり、ソーマから離れた所の神経信号を運搬し、特定の種類の情報をソーマから再び運搬する。用語“ニューロンの再成長を促進する”ということは、好ましくは、傷害又は損傷後、ニューロンの成長を刺激、促進、増加又は活性化することを含む。

【0153】

本明細書に開示された用語“c-fos”は、前癌遺伝子c-fosを含み、神経伝達物質の刺激によって速く誘導され、マウス及びヒトを含む多くの種に存在する。c-fos 遺伝子及びタンパク質は、公知及び特性化されている(Curran, T, The c-fos proto-oncogene, pp 307-327 (The Oncogene Handbook, Reddy EP et al., (eds.) Elsevier) (1988) 参照)。c-fosの発現は、当業界における公知の方法、例えばノーザンブロット、定量PCR又は免疫組織化学によって決定され得る。用語“c-fosの発現を増加させる”ということは、c-fos mRNA、c-fosタンパク質又はc-fosタンパク質活性のレベルの増加を含む。

【0154】

本明細書に開示された用語“pERK”は、リン酸化された細胞外信号調節キナーゼを含む。細胞外信号調節キナーゼ、又はERK1及びERK2を含むERKは、ミトゲン活性化タンパク質キナーゼ(MAPK)ファミリーの構成員である。ERKは上流キナーゼによるリン酸化によって活性化されることにより、pERKを形成し、次いで、下流標的を活性化する。ERKは、学習、及び記憶及び疼痛過敏症の基礎になる神経及びシナプス可塑性に伴われる(Ji R. R. et al, Nat Neurosci (1999) 2: 1114-1119 参照)。ERK遺伝子、タンパク質、リン酸化及び活性化は、公知及び特性化されており、ERK及びpERKの発現は、当業界における公知の方法(例えば、ノーザンブロット、定量PCR又は免疫組織化学)によって決定され得る(Gao Y. J. and Ji R. R., Open Pain J. (2009) 2: 11-17 参照)。用語“pERKの発現を増加させる”ということは、ERK mRNA、ERKタンパク質又はpERK活性のレベルの増加を含む。

【0155】

“成長関連タンパク質43”と知られた本明細書に開示された用語“GAP43”は、神経突起の形成、再生及び可塑性を促進する神経組織特異的タンパク質である(Benowitz L. I. and Routtenberg A. (1997) Trends in Neurosciences 20(2): 84-91; Aarts L. H. et al, (1998) Advances in Experimental Medicine and Biology 446: 85-106 参照)。ヒトGAP43は、GAP43遺伝子によって暗号化される。ヒトGAP43ポリペプチド配列(UniProt: KB-P17677)とこのポリペプチドを暗号化するcDNA配列は、当業界に公知である(Kosik K. S. et al, (1988) Neuron 1(2):

10

20

30

40

50

127-32; Ng S. C. et al, (1988) Neuron 1(2):133-9参照)。GAP43の発現は、当業界における公知の方法(例えば、ノーザンブロット、定量PCR又は免疫組織化学)によって決定され得る。用語“ニューロンでGAP43を増加させる”ということは、GAP43 mRNA、GAP43タンパク質のレベルの増進又は増加、又はGAP43タンパク質の活性の増加を含む。

【0156】

本明細書に開示された用語“治療的有効量”は、対象の疾患又は障害を“治療”あるいは疾患又は障害(例えば、中枢神経系損傷)の危険、潜在性、可能性又は発生を減少させるのに効果的な、単独、又は他の治療剤と組み合わせられた、薬物の量をいう。“治療的有効量”は、疾患又は障害(例えば、外傷性脳傷害のような中枢神経系損傷又は本明細書に開示された他の疾患)を有するか又は有する危険がある対象に、一部の改善や利益を提供する薬物又は治療剤の量を指す。したがって、“治療的有効”量は、疾患又は障害の危険、潜在性、可能性又は発生を減少させ又は一部の軽減、緩和を提供し及び/又は少なくとも一つの表示子(例えば、反応性神経膠症の開始)を減少させ及び/又は疾患又は障害の少なくとも一つの臨床症状を減少させる量である。

10

【0157】

II. 抗FAM19A5抗体

特定の機能的特徴又は特性を特徴とする抗体、例えば単クローン性抗体が開示される。例えば、抗体は、可溶性FAM19A5及び膜結合されたFAM19A5を含む、ヒトFAM19A5に特異的に結合する。可溶性及び/又は膜結合されたヒトFAM19A5に特異的に結合するだけでなく、本明細書に提示された抗体は、次の機能的特性のいずれか一つ以上を表す：

20

- (a) 酵素結合免疫吸着分析(ELISA)によって測定された時、10nM以下の K_D で可溶性ヒトFAM19A5に結合する；
- (b) ELISAによって測定された時、10nM以下の K_D で膜結合されたヒトFAM19A5に結合する；
- (c) 反応性神経膠症の開始を減少、逆転、遅延及び/又は予防する；
- (d) 反応性星状細胞の過度な増殖を抑制する；
- (e) ニューロカン及びニューロン-神経膠抗原2(NG2)を含むコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの発現を減少させる；
- (f) ニューロンの核でc-fos及びpERKの発現を増加させる；
- (g) ニューロンの生存を促進する；
- (h) ニューロンでGAP43の発現を増加させる；及び
- (i) 軸索突起の再成長を促進する。

30

【0158】

一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、高い親和性で、例えば 10^{-7} M以下、 10^{-8} M以下、 10^{-9} M(1nM)以下、 10^{-10} M(0.1nM)以下、 10^{-11} M以下又は 10^{-12} M以下、例えば、 10^{-12} M~ 10^{-7} M、 10^{-11} M~ 10^{-7} M、 10^{-10} M~ 10^{-7} M又は 10^{-9} M~ 10^{-7} M、例えば、 10^{-12} M、 5×10^{-12} M、 10^{-11} M、 5×10^{-11} M、 10^{-10} M、 5×10^{-10} M、 10^{-9} M、 5×10^{-9} M、 10^{-8} M、 5×10^{-8} M、 10^{-7} M又は 5×10^{-7} Mの K_D で可溶性ヒトFAM19A5又は膜結合されたヒトFAM19A5に特異的に結合する。様々な種のヒトFAM19A5に向ける抗体の結合能力を評価するための標準分析は、当業界に公知であり、例えば、ELISA、ウェスタンブロット、及びRIAを含む。適切な分析は実施例にて詳しく説明される。抗体の結合動力学(例えば、結合親和性)もELISA、BIACORE分析又はKinExAのような当業界における公知の標準分析によって評価され得る。FAM19A5の機能的特性(例えば、リガンド結合)に対する抗体の効果を評価する分析は、下記及び実施例にてさらに詳しく説明される。

40

【0159】

50

一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、例えばELISAによって決定された時、 10^{-7} M以下、 10^{-8} M (10 nM) 以下、 10^{-9} M (1 nM) 以下、 10^{-10} M以下、 10^{-12} M ~ 10^{-7} M、 10^{-11} M ~ 10^{-7} M、 10^{-10} M ~ 10^{-7} M、 10^{-9} M ~ 10^{-7} M又は 10^{-8} M ~ 10^{-7} Mの K_D で可溶性ヒトFAM19A5に結合する。一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、 10 nM以下、例えば、 0.1 ~ 10 nM、 0.1 ~ 5 nM、 0.1 ~ 1 nM、 0.5 ~ 10 nM、 0.5 ~ 5 nM、 0.5 ~ 1 nM、 1 ~ 10 nM、 1 ~ 5 nM又は 5 ~ 10 nMの K_D で可溶性FAM19A5に結合する。一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、ELISAによって決定された時、約 1 pM、 2 pM、 3 pM、 4 pM、 5 pM、 6 pM、 7 pM、 8 pM、 9 pM、 10 pM、 20 pM、 30 pM、 40 pM、 50 pM、 60 pM、 70 pM、 80 pM、 90 pM、 100 pM、 200 pM、 300 pM、 400 pM、 500 pM、 600 pM、 700 pM、 800 pM又は 900 pM、若しくは約 1 nM、 2 nM、 3 nM、 4 nM、 5 nM、 6 nM、 7 nM、 8 nM又は 9 nM、若しくは約 10 nM、 20 nM、 30 nM、 40 nM、 50 nM、 60 nM、 70 nM、 80 nM又は 90 nMの K_D で可溶性ヒトFAM19A5に特異的に結合する。

10

【0160】

一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、例えばELISAによって決定された時、 10^{-7} M以下、 10^{-8} M (10 nM) 以下、 10^{-9} M (1 nM) 以下、 10^{-10} M以下、 10^{-12} M ~ 10^{-7} M、 10^{-11} M ~ 10^{-7} M、 10^{-10} M ~ 10^{-7} M、 10^{-9} M ~ 10^{-7} M又は 10^{-8} M ~ 10^{-7} Mの K_D で膜結合されたヒトFAM19A5に結合する。特定の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、ELISAによって決定された時、 10 nM以下、例えば、 0.1 ~ 10 nM、 0.1 ~ 5 nM、 0.1 ~ 1 nM、 0.5 ~ 10 nM、 0.5 ~ 5 nM、 0.5 ~ 1 nM、 1 ~ 10 nM、 1 ~ 5 nM又は 5 ~ 10 nMの K_D で膜結合されたヒトFAM19A5に特異的に結合する。一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、ELISAによって決定された時、約 1 pM、 2 pM、 3 pM、 4 pM、 5 pM、 6 pM、 7 pM、 8 pM、 9 pM、 10 pM、 20 pM、 30 pM、 40 pM、 50 pM、 60 pM、 70 pM、 80 pM、 90 pM、 100 pM、 200 pM、 300 pM、 400 pM、 500 pM、 600 pM、 700 pM、 800 pM又は 900 pM、若しくは約 1 nM、 2 nM、 3 nM、 4 nM、 5 nM、 6 nM、 7 nM、 8 nM、 or 9 nM、若しくは約 10 nM、 20 nM、 30 nM、 40 nM、 50 nM、 60 nM、 70 nM、 80 nM又は 90 nMの K_D で膜結合されたヒトFAM19A5に結合する。

20

30

【0161】

本発明の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、神経膠症の開始を遅延又は阻害することができ、例えば、外傷、脳脊髄損傷、脳腫瘍、感染、虚血、脳卒中、自己免疫反応及び/又は神経退行性疾患による傷害又は損傷に反応して中枢神経系(CNS、例えば脳及び/又は脊髄)において神経膠細胞の非特異的反応性変化の始まりや開始を阻止、遅延又は抑制することができる。

40

【0162】

本発明の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、反応性星状細胞の過度又は異常増殖及びCNSに対するその関連した有害な効果を阻止、阻害、遅延、抑制、制限又は防止することができる。例えば、本発明の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、例えばCNS損傷、外傷、傷害、脳脊髄損傷、脳腫瘍、感染、虚血、脳卒中、自己免疫反応及び/又は神経退行性疾患によるニューロンの破壊による星状細胞の数の異常増加を阻害又は防止することができ、CNSにおいて瘢痕形成を阻害又は防止することができ、神経毒性レベルの反応性酸素種の放出又は潜在的興奮毒性グルタメートの放出を阻害又は減少させることができ、発作、疼痛及び/又はCNS傷害後2次退行を減少又は阻害することができる。本発明の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、好ましくは、C

50

NS 傷害又は損傷後、ニューロン及びノ又は軸索突起の再成長を促進、刺激、増加又は活性化することができる。

【0163】

本発明の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、タンパク質コア及びコンドロイチン硫酸(CSPGs)、例えば、アグリカン(CSPG1)、パーシカン(CSPG2)、ニューロカン(CSPG3)、CSPG4(又は、ニューロン-神経膠抗原2(NG2))、CSPG5、SMC3(CSPG6、染色体構造維持3)、プレビカン(CSPG7)、CD44(CSPG8、分化クラスター44)及びホスファカンニューロカン(CSPG3)からなるプロテオグリカンを含むコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの発現を阻害することができる。一部の具体例において、本発明の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、ニューロカン及びノ又はNG2のレベル、又はニューロカン及びノ又はNG2の活性を阻害、低下又は減少させる。

10

【0164】

本発明の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分はニューロンの核においてc-fos及びpERKの発現を増加させることができ、例えば、c-fos及びpERKのmRNA、タンパク質及びノ又はタンパク質活性を増加させることができる。また、本発明の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、GAP43mRNA、GAP43タンパク質の発現レベルを増加又は増進、又はGAP43タンパク質活性を増加又は増進させることができる。

【0165】

特定の具体例において、本発明の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、ヒトFAM19A5エピトープとの結合において本明細書に開示されたCDR又は可変領域を含む抗FAM19A5抗体と相互競合する(又は、結合を阻害する)。特定の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、重鎖CDR1、CDR2及びCDR3、及び軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3を含む基準抗体の結合を阻害し、(1)重鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、及びSEQ ID NO:9のアミノ酸配列を含み、軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、及びSEQ ID NO:12のアミノ酸配列を含み；(2)重鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:29, 30, 31を含み、軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:32, 33, 34を含み；(3)重鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:35, 36, 37を含み、軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:38, 39, 40を含み；(4)重鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:41, 42, 43を含み、軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:44, 45, 46を含み；(5)重鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:47, 48, 49を含み、軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:50, 51, 52を含み；(6)重鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:53, 54, 55を含み、軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:56, 57, 58を含み；(7)重鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:59, 60, 61を含み、軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:62, 63, 64を含み；(8)重鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:65, 66, 67を含み、軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:68, 69, 70を含み；(9)重鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:71, 72, 73を含み、軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:74, 75, 76を含み；(10)重鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:77, 78, 79を含み、軽鎖CDR1、CDR2及びCDR3はそれぞれSEQ ID NOs:80, 81, 82を含み；(11)重鎖CDR1、CDR2及びCD

20

30

40

50

R 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 83, 84, 85 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 86, 87, 88 を含み；または (12) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 89, 90, 91 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 92, 93, 94 を含む。

【0166】

一部の具体例において、基準抗体は、(1) SEQ ID NO : 5 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 6 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (2) SEQ ID NO : 103 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 114 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (3) SEQ ID NO : 104 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 115 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (4) SEQ ID NO : 105 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 116 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (5) SEQ ID NO : 106 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 117 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (6) SEQ ID NO : 107 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 118 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (7) SEQ ID NO : 108 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 119 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (8) SEQ ID NO : 109 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 120 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (9) SEQ ID NO : 110 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 121 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (10) SEQ ID NO : 111 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 122 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (11) SEQ ID NO : 112 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 123 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または (12) SEQ ID NO : 113 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 124 を含む軽鎖可変領域 (VL) を含む。

10

20

【0167】

特定の具例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、少なくとも 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 % 又は 100 % だけ、ヒト F A M 1 9 A 5 に対するこのような基準抗体の結合を阻害する。競合する抗体は、同一エピトープ、重複エピトープ又は隣接エピトープ (例えば、立体障害によって証明されたとおり) に結合する。2 個の抗体が標的に対する結合に対して互いに競合するか否かは、R I A 及び E I A のような当業界における公知の競合実験によって決定され得る。

30

【0168】

特定の具体例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3、及び軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 を含む本明細書に開示された基準抗体と同じ F A M 1 9 A 5 エピトープに結合し、(1) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NO : 7、SEQ ID NO : 8、及び SEQ ID NO : 9 のアミノ酸配列を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 11 及び SEQ ID NO : 12 のアミノ酸配列を含み；(2) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 29、30、31 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 32、33、34 を含み；(3) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 35、36、37 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 38、39、40 を含み；(4) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 41、42、43 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 44、45、46 を含み；(5) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 47、48、49 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 50、51、52 を含み；(6) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 53、54、55 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 56、57、58 を含み；(7

40

50

) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 59、60、61 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 62、63、64 を含み ; (8) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 65、66、67 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 68、69、70 を含み ; (9) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 71、72、73 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 74、75、76 を含み ; (10) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 77、78、79 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 80、81、82 を含み ; (11) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 83、84、85 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 86、87、88 を含み ; または (12) 重鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 89、90、91 を含み、軽鎖 CDR 1、CDR 2 及び CDR 3 はそれぞれ SEQ ID NOs : 92、93、94 を含む。

10

20

30

40

50

【 0 1 6 9 】

一部の具体例において、基準抗体は、(1) SEQ ID NO : 5 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 6 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (2) SEQ ID NO : 103 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 114 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (3) SEQ ID NO : 104 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 115 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (4) SEQ ID NO : 105 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 116 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (5) SEQ ID NO : 106 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 117 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (6) SEQ ID NO : 107 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 118 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (7) SEQ ID NO : 108 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 119 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (8) SEQ ID NO : 109 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 120 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (9) SEQ ID NO : 110 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 121 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (10) SEQ ID NO : 111 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 122 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; (11) SEQ ID NO : 112 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 123 を含む軽鎖可変領域 (VL) ; または (12) SEQ ID NO : 113 を含む重鎖可変領域 (VH) 及び SEQ ID NO : 124 を含む軽鎖可変領域 (VL) を含む。

【 0 1 7 0 】

2 個の抗体が同一のエピトープに結合するか否かを決定するための技術は、例えばエピトープマッピング方法、例えばエピトープの原子分解能を提供する抗原 - 抗体複合体の結晶の x - 線分析水素 / 重水素交換質量分光法 (HDX - MS)、抗原断片又は抗原の突然変異された変異型に対する抗体の結合をモニタリングする方法、抗原配列内でアミノ酸残基の変形による結合の喪失がエピトープ成分の標識として主に見なされる場合、エピトープマッピングのためのコンピュータ組合せ方法を含む。

【 0 1 7 1 】

本発明の抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、例えばヒト F A M 1 9 A 5 の断片に抗体の結合によって決定された時、成熟したヒト F A M 1 9 A 5 の少なくとも一つのエピトープに結合し得る。一部の具体例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、CDMLPCLGEGCDLLINRSG (SEQ ID NO : 2、エピトープ F 5、実施例 10、SEQ ID NO : 4 のアミノ酸残基 90 ~ 109) のアミノ酸配列を持つ少なくとも一つのエピトープに結合、又は SEQ ID NO : 2 のアミノ酸配列内に位置した断片、例えば SEQ ID NO : 2 の少なくとも 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 又は 2

0個のアミノ酸を持つエピトープに結合する。一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分はSEQ ID NO: 4のアミノ酸残基99~107(すなわち、EGCDLLINR)に結合する。特定の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分はSEQ ID NO: 4のアミノ酸残基99、100、102、103、105、及び107(すなわち、EG-DL-I-R)に結合する。他の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、SEQ ID NO: 4のアミノ酸残基102、103、105、及び107(すなわち、DL-I-R)に結合する。一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、SEQ ID NO: 4の99、100、及び107(すなわち、EG- - - - - R)に結合する。一部の具体例において、少なくとも一つのエピトープは、SEQ ID NO: 2と少なくとも90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同じアミノ酸配列を有する。一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、SEQ ID NO: 2である、ヒトFAM19A5エピトープにだけ、又はSEQ ID NO: 2のアミノ酸配列内に位置した断片、例えばSEQ ID NO: 2の3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20個のアミノ酸を持つエピトープに結合する。

【0172】

一部の具体例において、本発明の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、その自生立体構造(すなわち、非変性)においてSEQ ID NO: 2又はその断片に結合する。一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分はグリコシル化された及び非グリコシル化されたヒトFAM19A5に全て結合する。

【0173】

一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、一つ以上の追加のFAM19A5エピトープにさらに結合する。したがって、特定の抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、SEQ ID NO: 2のエピトープ及び追加のエピトープに結合する。一部の具体例において、一つ以上の追加のFAM19A5エピトープは、QFLKEGQLAAGTCEIVTLDR(SEQ ID NO: 13、エピトープF1)、
TLDRDSSQPRRTiARQTARC(SEQ ID NO: 14、エピトープF2)、
TARCAACRKGQIAGTTRARPA(SEQ ID NO: 15、エピトープF3)、
ARPACVDARI IKTKQWCDML(SEQ ID NO: 16、エピトープF4)、又は
NRS GW TCTQPGGR IKTTTVS(SEQ ID NO: 17、エピトープF6)、若しくはSEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16又はSEQ ID NO: 17のアミノ酸配列内に位置した断片、又はそれらの任意の組合せから選択される。SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16又はSEQ ID NO: 17のアミノ酸配列内に位置した断片は、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 14、又はSEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 16、及びSEQ ID NO: 17のいずれかの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20個のアミノ酸を持つ断片を含む。一部の具体例において、一つ以上の追加のFAM19A5エピトープは、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15のアミノ酸配列内に位置した断片、例えばSEQ ID NO: 14又はSEQ ID NO: 15の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20個のアミノ酸を持つ断片、又はそれらの任意の組合せから選択される。一部の具体例において、本発明の抗F

10

20

30

40

50

A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、その自生立体構造（すなわち、非変性）において一つ以上の追加のエピトープのいずれかと結合する。一部の具体例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、一つ以上の追加の F A M 1 9 A 5 エピトープのグリコシル化されたもの及び非グリコシル化されたものと結合する。

【 0 1 7 4 】

一部の具体例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、E P 6、E P 7、又はE P 8として確認された少なくとも一つのF A M 1 9 A 5 エピトープに結合し、E P 6はアミノ酸K T K Q W C D M L (S E Q I D N O : 1 3 9) を含み、E P 7はアミノ酸G C D L L I N R (S E Q I D N O : 1 4 0) を含み、E P 8はアミノ酸T C T Q P G G R (S E Q I D N O : 1 4 1) を含む。一部の具体例において、少なくとも一つのエピトープは、E P 6、E P 7又はE P 8と少なくとも90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同じアミノ酸配列を有する。一部の具体例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、E P 6、E P 7又はE P 8にだけ結合する。一部の具体例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、E P 6、E P 7及びE P 8に結合する。一部の具体例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、E P 7及びE P 8に結合する。一部の具体例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分はE P 7に結合する。

10

特定の具体例において、例えば、免疫分析（例えば、E L I S A）、表面プラズモン共鳴又は力学的排除分析によって測定された時、F A M 1 9 A ファミリーの他の分子への結合よりも、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%高い又はさらに高い親和性でF A M 1 9 A 5（例えば、ヒトF A M 1 9 A 5）に結合する抗体又はその抗原結合部分が提供される。特定の具体例において、例えば、免疫分析によって測定された時、F A M 1 9 A ファミリーの他の分子と交差反応性を持たないF A M 1 9 A 5（例えば、ヒトF A M 1 9 A 5）に結合する抗体又はその抗原結合部分が提供される。

20

【 0 1 7 5 】

特定の具体例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体は、自生抗体でないか、又は自然的に発生した抗体ではない。例えば、抗 F A M 1 9 A 5 抗体は、翻訳後に変形がより多いかより少ないか、又は異なるタイプであるような、自然的に発生した抗体とは異なる翻訳後変形を有する。

30

【 0 1 7 6 】

III. 例示的な抗 F A M 1 9 A 5 抗体

本明細書に提示された特定の抗体は、抗体 1 - 6 5、P 2 - C 1 2、1 3 B 4、1 3 F 7、1 5 A 9、P 1 - A 0 3、P 1 - A 0 8、P 1 - F 0 2、P 2 - A 0 1、P 2 - A 0 3、P 2 - F 0 7又はP 2 - F 1のC D R及び/又は可変領域配列を持つ抗体、例えば単クローン性抗体、またそれらの可変領域又はC D R配列に少なくとも80%同一性（例えば、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%又は少なくとも99%同一性）を持つ抗体である。本発明の抗 F A M 1 9 A 5 抗体のV H及びV Lアミノ酸配列は、それぞれ、表 2 及び 3 に提示される。

40

【 0 1 7 7 】

【表 2】

可変重鎖CDRアミノ酸配列

Antibody	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
Anti-FAM19A5 ("I-65")	SYQMG (SEQ ID NO:7)	VINKSGSDTS (SEQ ID NO:8)	GSASYITAATIDA (SEQ ID NO:9)
Anti-FAM19A5 ("P2-C12")	TYAVT (SEQ ID NO:29)	YINWRGGTSYANWAKG (SEQ ID NO: 30)	DASSGAAFGSYGMDP (SEQ ID NO: 31)
Anti-FAM19A5 ("I3B4")	SSNWS (SEQ ID NO: 35)	EIYHGGTTNYPNPSLKG (SEQ ID NO: 36)	WQLVGGLDV (SEQ ID NO: 37)
Anti-FAM19A5 ("I3F7")	GYSWT (SEQ ID NO:41)	EISHFGSANYPNPSLKS (SEQ ID NO: 42)	ALRGTYSRFYYGMDV (SEQ ID NO: 43)
Anti-FAM19A5 ("I5A9")	SYYWS (SEQ ID NO: 47)	YIYPSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48)	VNPFYGYAMDV (SEQ ID NO: 49)
Anti-FAM19A5 ("P1-A03")	SDYMS (SEQ ID NO: 53)	I IYPSSTTTYASWAKG (SEQ ID NO: 54)	GSNWSSGMNL (SEQ ID NO: 55)
Anti-FAM19A5 ("P1-A08")	TYYMS (SEQ ID NO: 59)	IVYPSGTTYANWAKG (SEQ ID NO: 60)	GDSFGYGL (SEQ ID NO: 61)
Anti-FAM19A5 ("P1-F02")	NYYMG (SEQ ID NO: 65)	I IYASGSTYASWAKG (SEQ ID NO: 66)	IDIGVGDYGWAYDRDL (SEQ ID NO: 67)
Anti-FAM19A5 ("P2-A01")	GYYS (SEQ ID NO: 71)	I IYPSGSTDYASWAKG (SEQ ID NO: 72)	VAGYVGYGYETFFDI (SEQ ID NO: 73)
Anti-FAM19A5 ("P2-A03")	NYDMS (SEQ ID NO: 77)	FMDTDGSAYYATWAKG (SEQ ID NO: 78)	RGSSYYGGIDI (SEQ ID NO: 79)
Anti-FAM19A5 ("P2-F07")	SYYMN (SEQ ID NO: 83)	I IYPSGTTYAGWAKG (SEQ ID NO: 84)	TVSGYFDI (SEQ ID NO: 85)
Anti-FAM19A5 ("P2-F11")	SYGVS (SEQ ID NO: 89)	YIANNYPHYASWAKG (SEQ ID NO: 90)	DNYGMDP (SEQ ID NO: 91)

10

20

30

【 0 1 7 8 】

【表 3】

可変軽鎖CDRアミノ酸配列

Antibody	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
Anti-FAM19A5 ("I-65")	SGGGSSGYGYG (SEQ ID NO:10)	WNDKRPS (SEQ ID NO:11)	GNDDYSSDSGYVGV (SEQ ID NO:12)
Anti-FAM19A5 ("P2-C12")	QASQSISSYLS (SEQ ID NO: 32)	EASKLAS (SEQ ID NO: 33)	QQGYSSTNVWNA (SEQ ID NO: 34)
Anti-FAM19A5 ("I3B4")	SGDKLGNVYAS (SEQ ID NO: 38)	QDNKRPS (SEQ ID NO: 39)	QAWDSSTAV (SEQ ID NO:40)
Anti-FAM19A5 ("I3F7")	RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 44)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 45)	MQARQTPLT (SEQ ID NO: 46)
Anti-FAM19A5 ("I5A9")	RASQSISTSLN (SEQ ID NO: 50)	GASTLQS (SEQ ID NO: 51)	QESASIPRT (SEQ ID NO: 52)
Anti-FAM19A5 ("P1-A03")	LASEDIYSGIS (SEQ ID NO: 56)	GASNLES (SEQ ID NO: 57)	LGGYSYSTGLT (SEQ ID NO: 58)
Anti-FAM19A5 ("P1-A08")	TADTLRSYAS (SEQ ID NO: 62)	RDTSRPS (SEQ ID NO: 63)	ATSDGSGSNYQYV (SEQ ID NO: 64)
Anti-FAM19A5 ("P1-F02")	LASEDIYSGIS (SEQ ID NO: 68)	GASNLES (SEQ ID NO: 69)	LGGYSYSIT (SEQ ID NO: 70)
Anti-FAM19A5 ("P2-A01")	LASEDIYSGIS (SEQ ID NO: 74)	GASNLES (SEQ ID NO: 75)	LGGVTYSSTGTHLT (SEQ ID NO: 76)
Anti-FAM19A5 ("P2-A03")	QASQSIGGNLA (SEQ ID NO: 80)	RASTLAS (SEQ ID NO: 81)	QSPAYDPAAYVGNA (SEQ ID NO: 82)
Anti-FAM19A5 ("P2-F07")	LASEDIYSALA (SEQ ID NO: 86)	GTSNLES (SEQ ID NO: 87)	QGYSSYPLT (SEQ ID NO: 88)
Anti-FAM19A5 ("P2-F11")	QASQSVYNNKNLA (SEQ ID NO: 92)	AASTLAS (SEQ ID NO: 93)	QGEFSCSSADCNA (SEQ ID NO: 94)

10

20

30

【 0 1 7 9 】

【表 4】

可変重鎖アミノ酸配列

Antibody	VH Amino Acid Sequence (SEQ ID NO)
Anti-FAM19A5 ("I-65")	AVTLDESGLLQTPGGALSLVCKASGFTFSSYQMGWVRQAPGKGLEWVGVINKSGSDTSY GSAVKGRATISRDNQSTVRLQLNNLRAEDTGTYYFCAKGSASYITAATIDAWGHGTEVIV SS (SEQ ID NO:5)
Anti-FAM19A5 ("P2-C12")	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSTYAVTWVRQAPGKGLEWIGYINWRGGTSYAN WAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSPTTEDTATYFCARDASSGAAFGSYGMDPWGPGTLVTVS S (SEQ ID NO: 103)
Anti-FAM19A5 ("I3B4")	QVQLQESGPGLVKPSGTLNCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIYHGGTTNY NPSLKGRTMSVDKTKNQFSLRLSSVTAVDTAVYYCARWQLVGGGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 104)
Anti-FAM19A5 ("I3F7")	QVQLQEWGAGLLKPSSETLSLTCAINAESFNGYSWTWIRQTPGKGLEWIGEISHFGSANYN PSLKSRTISADKSKNQFSLKLTSVTAVDTAVYYCARALRGTYSRFYGMVDVWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 105)
Anti-FAM19A5 ("I5A9")	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGIYIPSGSTNYN PSLKSRTISVDTSKNQFSLNLKSVTAVDTAVYYCARVNPFGYVYAMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 106)
Anti-FAM19A5 ("P1-A03")	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSDYMSWVRQAPGEGLEWIGIIPSTTTYAS WAKGRFTISKTSSTTVELKMTSLTTEDTATYFCARGSNWSSGMNLWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 107)
Anti-FAM19A5 ("P1-A08")	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSTYYMSWVRQAPGKGLEWIGIVYPSGTTYAN WAKGRFTISTASTTVDLMTSPTTEDTATYFCARGDSFGYGLWGPGLTVTVSS (SEQ ID NO: 108)
Anti-FAM19A5 ("P1-F02")	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSNYYMGWVRQAPGEGLEWIGIYASGSTYYAS WAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARIDIGVGDYGWAYDRDLWGGQTLVTV SS (SEQ ID NO: 109)
Anti-FAM19A5 ("P2-A01")	QEQLVESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFFLSGYMSWVRQAPGKGLEWIGIIPSGSTDYA SWAKGRFTISKTSSTTVDLKITPTTEDTATYFCARVAGYVGYGYETFFDIWGPGLTVTVS L (SEQ ID NO: 110)
Anti-FAM19A5 ("P2-A03")	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNNYDMSWVRQAPGKGLEIYGFMDTDGSAYYAT WAKGRFTISRSTTVDLKMTSPTTEDTATYFCARRGSSYYGGIDIWGPGLTVTVSL (SEQ ID NO: 111)
Anti-FAM19A5 ("P2-F07")	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSSYYMNWVRQAPGKGLEWIGIIPSGTTYAG WAKGRFTISKTSSTTVDLKITSPTSEDATYFCARTVSGYFDIWGPGLTVTVSL (SEQ ID NO: 112)
Anti-FAM19A5 ("P2-F11")	QEQLVESGGRLVTPGTTTLTCTVSGFSLSSYGVSWVRQAPGKGLEWIGYIANNYPHYA SWAKGRFTISKTSSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARDNYGMDPWGPGTLVTVSS (SEQ ID NO: 113)

10

20

30

【 0 1 8 0 】

【表 5】

可変軽鎖アミノ酸配列

Antibody	VL Amino Acid Sequence (SEQ ID NO)
Anti-FAM19A5 ("1-65")	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGSSGYGYGWYQQKSPSSAPLTVIYWNDRKPSDI PSRF SGSKSGSTHTLTITGVQAEDEAVYFCGNDDYSSDSGVVGVFGAGTTLTVL (SEQ ID NO:6)
Anti-FAM19A5 ("P2-C12")	ELDMTQTPSSVSAAVGGTVTIKQASQSISSYLSWYQQKPGQPPKLLIYEASKLASGVPS RFGSGSGYGFTEFTLTISDLECADAAATYYCQQGYSSTNVWNAFGGGTNVEIK (SEQ ID NO: 114)
Anti-FAM19A5 ("13B4")	SYELTQPLSVSVSPGQTASITCSGDKLGNVYASWYQQKPGQSPPLVIYQDNKRPSGIPER FSGSNSGKTATLTISGTQALDEADYYCQAWDSSTAVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 115)
Anti-FAM19A5 ("13F7")	DIVMTQTPPLSLPVAPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYVQKPGQPPQLLIYLGSNRA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCMQARQTPPLTFGGGTKEIK (SEQ ID NO: 116)
Anti-FAM19A5 ("15A9")	DIQMTQSPSSLSASVGRITISCRASQSISSYLSWYQQKPGKAPRLLIYGASTLQSGVPS RFGSGSGTDFSLTITSLQPEDFATYYCQESASIPRTFGQGTGLDIK (SEQ ID NO: 117)
Anti-FAM19A5 ("P1-A03")	ELVMTQTPPSLSASVGETVRIKCLASEDIYSGISWYQQKPKPPTLLIYGASNLESGVPP RFGSGSGTDTYTLTIGGVQAEADAATYYCLGGYSYSSITFGAGTNVEIK (SEQ ID NO: 118)
Anti-FAM19A5 ("P1-A08")	ELVLTQSPSPVQVNLGQTVSLTCTADTLRSYASWYQQKPGQAPVLLIYRDTSRPSGVDR FSGSSGNTATLTISGAQAGDEADYYCATSDGSGSNYQVYVFGGGTQLTVT (SEQ ID NO: 119)
Anti-FAM19A5 ("P1-F02")	ELDMTQTPPSLSASVGETVRIKCLASEDIYSGISWYQQKPKPPTLLIYGASNLESGVPP RFGSGSGTDTYTLTIGGVQAEADAATYYCLGGYSYSSITFGAGTNVEIK (SEQ ID NO: 120)
Anti-FAM19A5 ("P2-A01")	ELVMTQTPPSLSASVGETVRIKCLASEDIYSGISWYQQKPKPPTLLIYGASNLESGVPP RFGSGSGSDYTLTIGGVQAEADAATYYCLGGVYSSITGTHLTFGAGTNVEIK (SEQ ID NO: 121)
Anti-FAM19A5 ("P2-A03")	ELDLTQTPASVSEPVGGTVTIKQASQSIGGNLAWYQQKPGQPPKLLIYRASTLASGVPS RFKSGSGTDFTLTISDLECADAAATYYCQSPAYDPAAYVGNVAFGGGTELEIL (SEQ ID NO: 122)
Anti-FAM19A5 ("P2-F07")	ELDLTQTPPSLSASVGGTVTINCLASEDIYSALAWYQQKPKPPTLLISGTSNLESGVPP RFGSGSGTDTYTLTIGGVQAEADAATYFCQGYSSYPLTFGAGTNVEIK (SEQ ID NO: 123)
Anti-FAM19A5 ("P2-F11")	ELDLTQTPSSVSAAVGGTVTINCQASQSVYNNKNLAWYQQKPGQPPKLLIYAASLASGV SSRFKSGSGTQFTLTISDVQCDDAAATYYCQGFSCSSADCNVAFGGGTELEIL (SEQ ID NO: 124)

10

20

30

40

50

【0181】

したがって、重鎖及び軽鎖可変領域を含む分離された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分が開示され、重鎖可変領域はSEQ ID NOs : 5又は103~113のアミノ酸配列を含む。他の具体例において、分離された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、SEQ ID NOs : 5又は103~113からなる群から選ばれる重鎖可変領域のCDRを含む。

【0182】

また、重鎖及び軽鎖可変領域を含む分離された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分が開示され、軽鎖可変領域はSEQ ID NOs : 6又は114~124のアミノ酸配列を含む。他の具体例において、分離された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、SEQ ID NOs : 6又は114~124からなる群から選ばれる軽鎖可変領域のCDRを含む。

【0183】

特定の具体例において、分離された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、S

EQ ID NOs : 5又は103～113からなる群から選ばれる重鎖可変領域のCDR及びSEQ ID NOs : 6又は114～124からなる群から選ばれる軽鎖可変領域のCDRを含む。

【0184】

また、重鎖及び軽鎖可変領域を含む分離された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分が開示され、

- (i) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 5のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 6のアミノ酸配列を含み；
- (ii) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 103のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 114のアミノ酸配列を含み；
- (iii) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 104のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 115のアミノ酸配列を含み；
- (iv) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 105のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 116のアミノ酸配列を含み；
- (v) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 106のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 117のアミノ酸配列を含み；
- (vi) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 107のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 118のアミノ酸配列を含み；
- (vii) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 108のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 119のアミノ酸配列を含み；
- (viii) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 109のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 120のアミノ酸配列を含み；
- (ix) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 110のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 121のアミノ酸配列を含み；
- (x) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 111のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 122のアミノ酸配列を含み；
- (xi) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 112のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 123のアミノ酸配列を含み；及び
- (xii) 重鎖可変領域はSEQ ID NO : 113のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域はSEQ ID NO : 124のアミノ酸配列を含む。

【0185】

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む分離された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分が開示され、重鎖可変領域は、SEQ ID NOs : 5又は103～113に提示されたアミノ酸配列と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同じアミノ酸配列を含む。

【0186】

また、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む分離された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分が開示され、軽鎖可変領域は、SEQ ID NOs : 6又は114～124に提示されたアミノ酸配列と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同じアミノ酸配列を含む。

【0187】

また、重鎖及び軽鎖可変領域を含む分離された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分が開示され、重鎖可変領域は、SEQ ID NOs : 5又は103～113に提示されたアミノ酸配列と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%又は約100%同じアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域は、SEQ ID NOs : 6又は114～124に提示されたアミノ酸配列と少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、

少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99% 又は約 100% 同ジアミノ酸配列を含む。

【0188】

一部の具体例において、本発明は分離された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分を提供し、これは、

- (a) S E Q I D N O s : 5 及び 6 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；
- (b) S E Q I D N O s : 1 0 3 及び 1 1 4 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；
- (c) S E Q I D N O s : 1 0 4 及び 1 1 5 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；
- (d) S E Q I D N O s : 1 0 5 及び 1 1 6 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；
- (e) S E Q I D N O s : 1 0 6 及び 1 1 7 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；
- (f) S E Q I D N O s : 1 0 7 及び 1 1 8 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；
- (g) S E Q I D N O s : 1 0 8 及び 1 1 9 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；
- (h) S E Q I D N O s : 1 0 9 及び 1 2 0 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；
- (i) S E Q I D N O s : 1 1 0 及び 1 2 1 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；
- (j) S E Q I D N O s : 1 1 1 及び 1 2 2 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；
- (k) S E Q I D N O s : 1 1 2 及び 1 2 3 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列；または
- (l) S E Q I D N O s : 1 1 3 及び 1 2 4 をそれぞれ含む重鎖及び軽鎖可変領域配列を含む。

10

20

30

【0189】

特定の具体例において、本発明の抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、(i) 1 - 6 5 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は 1 - 6 5 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；(ii) P 2 - C 1 2 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は P 2 - C 1 2 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；(iii) 1 3 B 4 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は 1 3 B 4 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；(iv) 1 3 F 7 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は 1 3 F 7 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；(v) 1 5 A 9 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は 1 5 A 9 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；(vi) P 1 - A 0 3 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は P 1 - A 0 3 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；(vii) P 1 - A 0 8 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は P 1 - A 0 8 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；(viii) P 1 - F 0 2 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は P 1 - F 0 2 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；(ix) P 2 - A 0 1 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は P 2 - A 0 1 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；(x) P 2 - A 0 3 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は P 2 -

40

50

A 0 3 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；(x i) P 2 - F 0 7 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は P 2 - F 0 7 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せ；または (x i i) P 2 - F 1 1 の重鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの組合せ、及び / 又は P 2 - F 1 1 の軽鎖 C D R 1、C D R 2 及び C D R 3、又はそれらの任意の組合せを含む。本明細書に開示された異なる抗 F A M 1 9 A 5 抗体に対する V H C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 のアミノ酸配列は、表 2 に提示されている。本明細書に開示された異なる抗 F A M 1 9 A 5 抗体に対する V L C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 のアミノ酸配列は、表 3 に提示されている。

10

【 0 1 9 0 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

(a) S E Q I D N O : 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は

(b) S E Q I D N O : 8 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は

(c) S E Q I D N O : 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3

を含む。

【 0 1 9 1 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

20

【 0 1 9 2 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

(a) S E Q I D N O : 1 0 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は

(b) S E Q I D N O : 1 1 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は

(c) S E Q I D N O : 1 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3

を含む。

【 0 1 9 3 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

30

【 0 1 9 4 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

(a) S E Q I D N O : 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;

(b) S E Q I D N O : 8 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;

(c) S E Q I D N O : 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;

(d) S E Q I D N O : 1 0 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;

(e) S E Q I D N O : 1 1 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は

(f) S E Q I D N O : 1 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3

を含む。

【 0 1 9 5 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

40

(a) S E Q I D N O : 2 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は

(b) S E Q I D N O : 3 0 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は

(c) S E Q I D N O : 3 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3

を含む。

【 0 1 9 6 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 1 9 7 】

50

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 3 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 3 3 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 3 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 1 9 8 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 1 9 9 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 2 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 3 0 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 3 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 3 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 3 3 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 3 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 0 0 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 3 5 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 3 6 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 3 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3
- を含む。

【 0 2 0 1 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 0 2 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 3 8 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 3 9 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 4 0 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 0 3 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 0 4 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 3 5 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 3 6 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 3 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 3 8 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 3 9 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 4 0 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 0 5 】

10

20

30

40

50

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 4 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 4 2 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 4 3 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3
- を含む。

【 0 2 0 6 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 0 7 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 4 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 4 5 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 4 6 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 0 8 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 0 9 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 4 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 4 2 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 4 3 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 4 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 4 5 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 4 6 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 1 0 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 4 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 4 8 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 4 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3
- を含む。

【 0 2 1 1 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 1 2 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 5 0 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 5 1 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 5 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 1 3 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 1 4 】

10

20

30

40

50

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 4 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 4 8 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 4 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 5 0 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 5 1 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 5 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 1 5 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 5 3 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 5 4 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 5 5 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3
- を含む。

【 0 2 1 6 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 1 7 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 5 6 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 5 7 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 5 8 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 1 8 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 1 9 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 5 3 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 5 4 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 5 5 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 5 6 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 5 7 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 5 8 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 2 0 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 5 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 6 0 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 6 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3
- を含む。

【 0 2 2 1 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 2 2 】

10

20

30

40

50

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 6 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 6 3 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 6 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 2 3 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 2 4 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 5 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 6 0 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 6 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 6 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 6 3 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 6 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 2 5 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 6 5 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 6 6 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 6 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3
- を含む。

【 0 2 2 6 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 2 7 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 6 8 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 6 9 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 7 0 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 2 8 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 2 9 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 6 5 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 6 6 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 6 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 6 8 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 6 9 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 7 0 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 3 0 】

10

20

30

40

50

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 7 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 7 2 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 7 3 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3
- を含む。

【 0 2 3 1 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 3 2 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 7 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 7 5 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 7 6 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 3 3 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 3 4 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 7 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 7 2 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 7 3 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 7 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 7 5 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 7 6 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 3 5 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 7 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 7 8 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 7 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3
- を含む。

【 0 2 3 6 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 3 7 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 8 0 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 8 1 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 8 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 3 8 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 3 9 】

10

20

30

40

50

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 7 7 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 7 8 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 7 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 8 0 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 8 1 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 8 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 4 0 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 8 3 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 8 4 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 8 5 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3
- を含む。

【 0 2 4 1 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 4 2 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 8 6 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 8 7 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 8 8 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 4 3 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 4 4 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 8 3 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 8 4 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 8 5 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 8 6 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 8 7 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 8 8 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 4 5 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 8 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 9 0 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 9 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3
- を含む。

【 0 2 4 6 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V H C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 4 7 】

10

20

30

40

50

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 9 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ; 及び / 又は
 - (b) S E Q I D N O : 9 3 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (c) S E Q I D N O : 9 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 4 8 】

特定の具体例において、抗体又はその抗原結合部分は、前記 V L C D R のいずれか 1 個、2 個、又は 3 個全部を含む。

【 0 2 4 9 】

一部の具体例において、ヒト F A M 1 9 A 5 に特異的に結合する抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は：

- (a) S E Q I D N O : 8 9 のアミノ酸配列を含む V H C D R 1 ;
 - (b) S E Q I D N O : 9 0 のアミノ酸配列を含む V H C D R 2 ;
 - (c) S E Q I D N O : 9 1 のアミノ酸配列を含む V H C D R 3 ;
 - (d) S E Q I D N O : 9 2 のアミノ酸配列を含む V L C D R 1 ;
 - (e) S E Q I D N O : 9 3 のアミノ酸配列を含む V L C D R 2 ; 及び / 又は
 - (f) S E Q I D N O : 9 4 のアミノ酸配列を含む V L C D R 3
- を含む。

【 0 2 5 0 】

特定の具体例において、抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、前記 C D R のいずれか 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個又は 6 個を含む。

【 0 2 5 1 】

本明細書に提示された V H ドメイン又はその一つ以上の C D R は、重鎖、例えば全長重鎖を形成するために不変ドメインに連結され得る。同様に、本明細書に提示された V L ドメイン又はその一つ以上の C D R は、軽鎖、例えば全長軽鎖を形成するために不変ドメインに連結され得る。全長重鎖と全長軽鎖は組み合わせられて全長抗体を形成することができる。

【 0 2 5 2 】

したがって、特定の具体例において、抗体軽鎖及び重鎖、例えば分離された軽鎖及び重鎖を含む抗体が本明細書に提示される。軽鎖と関連して、特定の具体例において、本明細書に提示された抗体の軽鎖は、カップ軽鎖である。他の特定の具体例において、本明細書に提示された抗体の軽鎖は、ラムダ軽鎖である。更に他の特定の具体例において、本明細書に提示された抗体の軽鎖は、ヒトカップ軽鎖又はヒトラムダ軽鎖である。特定の具体例において、F A M 1 9 A 5 ポリペプチド（例えば、ヒト F A M 1 9 A 5 ）に特異的に結合する、本明細書に提示された抗体は、本明細書に提示された任意の V L 又は V L C D R アミノ酸配列を含む軽鎖を含み、軽鎖の不変領域はヒトカップ軽鎖不変領域のアミノ酸配列を含む。特定の具体例において、F A M 1 9 A 5 ポリペプチド（例えば、ヒト F A M 1 9 A 5 ）に特異的に結合する、本明細書に提示された抗体は、本明細書に提示された V L 又は V L C D R アミノ酸配列を含む軽鎖を含み、軽鎖の不変領域は、ヒトラムダ軽鎖不変領域のアミノ酸配列を含む。ヒト不変領域配列の非制限的な例は、当業界に公知である（例えば、米国特許第 5, 6 9 3, 7 8 0 号及び K a b a t E A e t a l, (1 9 9 1) (同上) を参照）。

【 0 2 5 3 】

重鎖と関連して、一部の具体例において、本明細書に提示された抗体の重鎖は、アルファ ()、デルタ ()、エプシロン ()、ガンマ () 又はミュー (μ) 重鎖でよい。他の特定の具体例において、本明細書に提示された抗体の重鎖は、アルファ ()、デルタ ()、エプシロン ()、ガンマ () 又はミュー (μ) 重鎖を含むことができる。一具体例において、F A M 1 9 A 5 ポリペプチド（例えば、ヒト F A M 1 9 A 5 ）に特異的に結合する、本明細書に提示された抗体は、本明細書に提示された V H 又は V H C

10

20

30

40

50

D R アミノ酸配列を含む重鎖を含み、重鎖の不変領域は、ヒトガンマ()重鎖不変領域のアミノ酸配列を含む。他の具体例において、F A M 1 9 A 5 ポリペプチド(例えば、ヒト F A M 1 9 A 5)に特異的に結合する、本明細書に提示された抗体は、本明細書に提示された V H 又は V H C D R アミノ酸配列を含む重鎖を含み、重鎖の不変領域は、本明細書に提示された、又は当業界における公知のヒト重鎖のアミノ酸を含む。ヒト不変領域配列の非制限的な例は、当業界に公知である(例えば、米国特許第 5, 6 9 3, 7 8 0 号及び K a b a t E A e t a l, 1 9 9 1 (同上)を参照)。

【 0 2 5 4 】

一部の具体例において、F A M 1 9 A 5 ポリペプチド(例えば、ヒト F A M 1 9 A 5)に特異的に結合する、本明細書に提示された抗体は、本明細書に提示された V H 又は V H C D R 及び V L 及び V L C D R を含む V L ドメイン及び V H ドメインを含み、不変領域は I g G、I g E、I g M、I g D、I g A 又は I g Y 免疫グロブリン分子、若しくはヒト I g G、I g E、I g M、I g D、I g A 又は I g Y 免疫グロブリン分子の不変領域のアミノ酸配列を含む。他の特定の具体例において、F A M 1 9 A 5 ポリペプチド(例えば、ヒト F A M 1 9 A 5)に特異的に結合する、本明細書に提示された抗体は、本明細書に提示された任意のアミノ酸配列を含む V L ドメイン及び V H ドメインを含み、不変領域は I g G、I g E、I g M、I g D、I g A 又は I g Y 免疫グロブリン分子又は免疫グロブリン分子の任意のサブクラス(例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1 及び I g A 2)の不変領域のアミノ酸配列を含む。一部の具体例において、不変領域は、サブクラス(例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3 又は I g G 4)、及びアロタイプ(例えば、G 1 m、G 2 m、G 3 m 及び n G 4 m)及びその変異体を含む、自然的に発生したヒト I g G の不変領域のアミノ酸配列を含む(例えば、V i d a r s s o n G . e t a l . F r o n t I m m u n o l . 5 : 5 2 0 (オンライン公開 2 0 1 4 - 1 0 - 2 0)、及び J e f f e r i s R . 及び L e f r a n c M P, m A b s 1 : 4, 1 - 7 (2 0 0 9) 参照)。一部の具体例において、不変領域は、ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3 又は I g G 4、若しくはその変異体の不変領域のアミノ酸配列を含む。

【 0 2 5 5 】

特定の具体例において、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分は、F c エフェクター機能、例えば補体依存的細胞毒性(C D C)及び/又は抗体依存的細胞貪食作用(A D C P)を持たない。エフェクター機能は F c 領域によって媒介され、F c 領域の C H 2 ドメインにおいてヒンジ領域に最も近接している残基が抗体のエフェクター機能を担当し、先天的免疫系のエフェクター細胞上で C 1 q (補体)と I g G - F c 受容体(F c R)に対して相当重なった結合部位を含有する。また、I g G 2 及び I g G 4 抗体は、I g G 1 及び I g G 3 抗体よりも低いレベルの F c エフェクター機能を有する。抗体のエフェクター機能は、当業界における公知の異なる接近法によって減少されたり回避され、(1) F c 領域を欠如した抗体断片の使用(例えば、F a b、F (a b ') 2、単鎖 F v (s c F v)、又はモノマー V H 又は V L ドメインで構成された s d A B); (2) 糖が付着された残基の欠失又は変更、酵素的に糖の除去、グリコシル化抑制剤の存在下に培養された細胞において抗体の生成、又はタンパク質をグリコシル化できない細胞において抗体の発現によって生成され得る、非グリコシル化抗体の生成(例えば、バクテリア宿主細胞、米国特許公開第 2 0 1 2 0 1 0 0 1 4 0 号参照); (3) 減少されたエフェクター機能を持つ I g G サブクラスから F c 領域の利用(例えば、I g G 2 又は I g G 4 抗体からの F c 領域又は I g G 2 又は I g G 4 抗体からの C H 2 ドメインを含むキメラ F c 領域、米国特許公開第 2 0 1 2 0 1 0 0 1 4 0 号及び L a u C . e t a l, J . I m m u n o l . 1 9 1 : 4 7 6 9 - 4 7 7 7 (2 0 1 3) 参照); 及び(4) 減少された F c 機能をもたらす、又は F c 機能をなくす突然変異を持つ F c 領域の生成(例えば、米国特許公開第 2 0 1 2 0 1 0 0 1 4 0 号及びこの文献に引用された米国出願及び P C T 出願及び A n e t a l, m A b s 1 : 6, 5 7 2 - 5 7 9 (2 0 0 9) 参照); を含む。

【 0 2 5 6 】

10

20

30

40

50

したがって、一部の具体例において、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、単鎖Fv(scFv)、又はモノマーVH又はVLドメインで構成されたsdAbである。このような抗体断片は当業界に十分に公知であり、本明細書に開示されている。

【0257】

一部の具体例において、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、減少されたFcエフェクター機能を有する、又はFcエフェクター機能を有しないFc領域を含む。一部の具体例において、不変領域は、ヒトIgG2又はIgG4のFc領域のアミノ酸配列を含む。一部の具体例において、抗FAM19A5抗体はIgG2/IgG4イソタイプを有する。一部の具体例において、抗FAM19A5抗体は、IgG4イソタイプのIgG抗体からのCH2ドメイン及びIgG1イソタイプのIgG抗体からのCH3ドメインを含むキメラFc領域、又はIgG2からのヒンジ領域及びIgG4からのCH2領域を含むキメラFc領域、又は減少されたFc機能をもたらす、又はFc機能をなくす突然変異を持つFc領域を含む。減少されたFcエフェクター機能を有する、又はFcエフェクター機能を有しないFc領域は、当業界における公知のものを含む（例えば、Lau C. et al, J. Immunol. 191: 4769-4777 (2013); An et al, mAbs 1: 6, 572-579 (2009); 及び米国特許公開第20120100140号及びこの文献に引用された米国特許及び特許公開及びPCT公開を参照）。また、減少されたFcエフェクター機能を有する、又はFcエフェクター機能を有しないFc領域は、当業者によって容易に作製され得る。

10

20

【0258】

IV. 核酸分子

本明細書に開示された他の態様は、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分のうち任意の一つを暗号化する一つ以上の核酸分子に関する。核酸は、全体細胞、細胞溶解物、又は部分的に精製された、又は実質的に純粋な形態で存在し得る。核酸は、他の細胞成分や他の汚染物質、例えば他の細胞核酸（例えば、他の染色体DNA、例えば、分離されたDNAに連結された染色体DNA）又はタンパク質からアルカリ性/SDS処理、CsClバンディング、カラムクロマトグラフィー、制限酵素、アガロースゲル電気泳動及び当業界によく公知である他の技術を含む標準技術によって精製された時、“分離され”又は“実質的に純粋になる”（例えば、F. Ausubel, et al, ed. (1987) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York参照）。本明細書に提示された核酸は、例えば、DNA又はRNAでよく、イントロン配列を含有又は非含有できる。特定の具体例において、核酸はcDNA分子である。

30

【0259】

本明細書に提示された核酸は、標準分子生物学技術を用いて得ることができる。ハイブリドーマ（例えば、より詳細に後述されるとおり、ヒト免疫グロブリン遺伝子を持つ遺伝子導入マウスから作製されたハイブリドーマ）によって発現した抗体の場合、ハイブリドーマによって作製された抗体の軽鎖及び重鎖を暗号化するcDNAは、標準PCR増幅又はcDNAクローニング技術によって得ることができる。免疫グロブリン遺伝子ライブラリー（例えば、ファージディスプレイ技術を用いた）から得られた抗体の場合、抗体を暗号化する核酸は、ライブラリーから回収され得る。

40

【0260】

本明細書に提示された特定の核酸分子は、本発明の抗FAM19A5抗体のVH及びVL配列を暗号化するものである。VH及びVL配列を暗号化する例示的なDNA配列は、それぞれ、表6及び表7に提示される。

【0261】

【表 6】

可変重鎖ポリヌクレオチド配列

Antibody	Variable Heavy Chain Polynucleotide Sequence (SEQ ID NO)
Anti-FAM19A5 (1-65)	GCCGTGACACTGGACGAATCTGGGGGAGGGCTGCAGACTCCAGGCGGAGCTCTGAGCCTG GTGTGCAAGGCATCCGGGTTACCTTTAGCTCCTACCAGATGGGATGGGTGCGGCAGGCA CCAGGGAAGGGCCCTGGAGTGGGTGCGAGTGATCAACAAATCTGGGAGTGACACAAGCTAC GGCAGCGCCGTGAAGGGAAGGGCCACCATCAGCAGGGACAATGGCCAGAGTACCGTGC CTGCAGCTGAACAATCTGCGCGCTGAGGACACTGGCACCTACTTCTGTGCTAAGGGATCA GCAAGCTATATCACAGCCGCTACTATTGATGCATGGGGACACGGGACAGAAGTCATCGTG TCTAGT (SEQ ID NO:18)
Anti-FAM19A5 (P2-C12)	CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTTCGCTGGTTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCACC TGACCCGTCTCTGGATTCTCCCTCAGTACCTATGCAGTGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAAGGGCTGGAATGGATCGGATACATTAATTGGCTGGTGGGACATCCTACGCGAAC TGGGCGAAAGGCCGATTACCATCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGAAAATG ACCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCAGAGATGCTAGTAGTGGT GCTGCTTTTGGGTCTTACGGCATGGACCCTGGGGCCAGGGACCCTCGTCACCGTCTCT TCA (SEQ ID NO: 143)

10

【 0 2 6 2 】

【表 7】

可変軽鎖ポリヌクレオチド配列

Antibody	Variable Light Chain Polynucleotide Sequence (SEQ ID NO)
Anti-FAM19A5 (1-65)	GCCCTGACTCAGCCCTCTCCGTGTGTCAGCAACCCTGGAGAACTGTGAAGATCACCTGC AGCGGAGGAGGGAGCTCCGGATACGGATATGGGTGGTATCAGCAGAAATCCCATCTAGT GCCCCCTGACTGTGATCTATTGGAACGACAAGAGGCCCTAGTGATATTCCATCAAGATTC AGTGGATCAAAAAGCGGTTCCACTCACACCCTGACAATCACTGGCGTGCAGGCAGAGGAC GAAGCCGTCTACTTCTCGGAAATGACGATTACTCAAGCGATTCTGGCTATGTGGGCGTC TTTGGCGCAGGAACCACACTGACAGTGCTG (SEQ ID NO:19)
Anti-FAM19A5 (P2-C12)	GAGCTCGATATGACCCAGACTCCATCCTCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCACC ATCAAGTGCCAGGCCAGTCAGAGCATTAGTAGCTACTTATCCTGGTATCAGCAGAAACCA GGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGAAGCATCCAAACTGGCCTCTGGGGTCCCATCG CGGTTACGCGGCAGTGGATATGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCGACCTGGAGTGT GCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCAACAGGGTTATAGTAGTACTAATGTTTGGAAATGCT TTCGGCGGAGGCACCAATGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 154)

20

30

【 0 2 6 3 】

本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体を作製する方法は、信号ペプチド、例えば、SEQ ID NO: 18 及び 19 をそれぞれ持つ重鎖及び軽鎖を暗号化するヌクレオチド配列を含む細胞株で重鎖及び軽鎖を発現することを含む。それらのヌクレオチド配列を含む宿主細胞は本発明に含まれる。

【 0 2 6 4 】

VH 及び VL セグメントを暗号化する DNA 断片が得られると、それらの DNA 断片は、標準組換え DNA 技術によって、例えば可変領域遺伝子を全長抗体鎖遺伝子に、Fab 断片遺伝子に、又は scFv 遺伝子に転換するようにさらに操作され得る。それらの操作において、VL - 又は VH - 暗号化 DNA 断片は、他のタンパク質、例えば抗体不変領域又はフレキシビリティリンカーを暗号化する他の DNA 断片に作動可能に連結される。用語“作動可能に連結された”は、2つの DNA 断片によって暗号化されたアミノ酸配列がフレーム内に維持されるように2つの DNA 断片がつながることを意味する。

40

【 0 2 6 5 】

VH 領域を暗号化する分離された DNA は、VH - 暗号化 DNA を重鎖不変領域 (ヒンジ、CH1、CH2 及び / 又は CH3) を暗号化する他の DNA 分子と作動可能に連結す

50

ることによって、全長重鎖遺伝子に転換され得る。ヒト重鎖不変領域遺伝子の配列は当業界に公知であり（例えば、Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 参照）、それらの領域を含む DNA 断片は、標準 PCR 増幅によって得ることができる。重鎖不変領域は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM 又は IgD 不変領域、例えば IgG2 及び / 又は IgG4 不変領域でよい。Fab 断片重鎖遺伝子の場合、VH - 暗号化 DNA は、重鎖 CH1 不変領域だけを暗号化する他の DNA 分子に作動可能に連結され得る。

10

【0266】

VL 領域を暗号化する分離された DNA は、VL - 暗号化 DNA を軽鎖不変領域、CL を暗号化する他の DNA 分子に作動可能に連結することによって、全長軽鎖遺伝子（Fab 軽鎖遺伝子だけでなく）に転換され得る。ヒト軽鎖不変領域遺伝子の配列は当業界に公知されており（例えば、Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 参照）、それらの領域を含む DNA 断片は、標準 PCR 増幅によって得ることができる。軽鎖不変領域は、カッパ又はラムダ不変領域でよい。

20

【0267】

scFv 遺伝子を生成するために、VH - 及び VL - 暗号化 DNA 断片がフレキシビリティリンカーを暗号化する、例えばアミノ酸配列（Gly4 - Ser）3 を暗号化する他の断片に作動可能に連結され、これによって、VH 及び VL 配列は、VL 領域と VH 領域がフレキシビリティリンカーによってつながった隣接単鎖タンパク質として発現され得る（例えば、Bird et al. (1988) Science 242: 423 - 426; Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879 - 5883; McCafferty et al. (1990) Nature 348: 552 - 554 参照）。

30

【0268】

一部の具体例において、本発明は、抗体又はその抗原結合部分を暗号化するヌクレオチド配列を含む分離された核酸分子を含むベクターを提供する。他の具体例において、ベクターは、遺伝子治療法に用いることができる。

【0269】

本発明のための適切なベクターは、発現ベクター、ウイルスベクター及びプラスミドベクターを含む。一具体例において、ベクターはウイルスベクターである。

【0270】

本明細書に提示された発現ベクターは、挿入されたコーディング配列の転写及び翻訳に必要な要素を含有する任意の核酸構成物を指すか、又は RNA ウイルスベクターの場合、適切な宿主細胞に導入された時、複製及び翻訳に必要な要素を指す。発現ベクターは、プラスミド、ファージミド、ウイルス及びそれらの誘導体を含むことができる。

40

【0271】

本発明の発現ベクターは、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分を暗号化するポリヌクレオチドを含むことができる。一具体例において、抗体又はその抗原結合部分に対するコーディング配列は、発現制御配列に作動可能に連結される。2つの核酸配列は、それらが、各成分核酸配列がその機能性を維持するように許容する方式で共有連結された時、作動可能に連結される。コーディング配列と遺伝子発現制御配列は、それらが、遺伝子発現制御配列の影響や制御下にコーディング配列の発現又は転写及び / 又は翻訳を行える方式で共有連結された時、作動可能に連結されたという。2つの DNA 配列は、5' 遺伝子発現配列にプロモーターの導入がコーディング配列の転写をもたらし、2つの DN

50

A配列間結合の性質が、(1) フレーム移動突然変異の導入をもたらさない、(2) コーディング配列の転写を指示するプロモーター領域の能力を妨害しない、又は(3) タンパク質に翻訳される相応するRNA転写体の能力を妨害しないと、作動可能に連結されたという。したがって、遺伝子発現配列は、この遺伝子発現配列が当該コーディング核酸配列の転写を行えたとすれば、コーディング核酸配列に作動可能に連結されたものであり、これによって、転写体は、所望の抗体又はその抗原結合部分に翻訳される。

【0272】

ウイルスベクターは、限定されないが、次のウイルスからの核酸配列を含む：レトロウイルス、例えばMoloneyミューリン白血病ウイルス、Harveyミューリン肉腫ウイルス、ミューリン乳房腫瘍ウイルス、及びRous肉腫ウイルス；レンチウイルス；アデノウイルス；アデノ関連ウイルス；SV40-タイプウイルス；ポリオマウイルス；エプスタインパールウイルス；乳頭腫ウイルス；ヘルペスウイルス；牛痘ウイルス；ポリオウイルス；及びRNAウイルス、例えばレトロウイルス。当業者は当業界における公知の他のベクターも容易に利用できる。特定のウイルスベクターは、非必須遺伝子が関心遺伝子に置換された非細胞変性真核生物ウイルスに基づく。非細胞変性ウイルスはレトロウイルスを含み、これのライフサイクルは、ゲノムウイルスRNAのDNAへの逆転写を伴い、後続して宿主細胞DNAにプロウイルス統合がなされる。レトロウイルスはヒト遺伝子治療法試験のために承認された。最も有用なものは、複製欠陥(すなわち、所望のタンパク質の合成を指示できるが、感染性粒子は作製できない。)を持つレトロウイルスである。このような遺伝的に変更されたレトロウイルス発現ベクターは、生体内遺伝子の高効率形質導入において一般的な有用性を有する。複製欠陥レトロウイルスを生成する標準プロトコル(プラスミドに外因性遺伝子物質の統合段階、プラスミドでパッケージング細胞株のトランスフェクション段階、パッケージング細胞株による組換えレトロウイルスの生成段階、組織培養培地からウイルス粒子の収集段階、及びウイルス粒子で標的細胞の感染段階を含む。)は、Kriegler, M., Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, W. H. Freeman Co., New York (1990); Murrey, E. J., Methods in Molecular Biology, Vol. 7, Humana Press, Inc., Clifton, N. J. (1991)に提示される。

10

20

30

【0273】

一具体例において、ウイルスは、アデノ関連ウイルス、二本鎖DNAウイルスである。アデノ関連ウイルスは、複製欠陥になるように遺伝操作されることがあり、広範囲な細胞タイプ及び種を感染させることがある。アデノ関連ウイルスは、熱及び脂質溶媒安定性；造血細胞を含む様々な系統の細胞において高い形質導入頻度；及び超感染抑制を欠如することによる多数の連続形質導入の許容といった利点を有する。実験結果によれば、アデノ関連ウイルスは、部位特異的方式でヒト細胞DNAに統合され得、これによって、レトロウイルス感染の特徴である挿入突然変異誘発の確率及び挿入された遺伝子発現の可変性を最小化する。また、野生型アデノ関連ウイルス感染が選択圧の不在下に100継代を超える間に組織培養物で追跡され、これはアデノ関連ウイルスゲノム統合が比較的安定した事件であることを暗示する。また、アデノ関連ウイルスは、染色体外方式で機能し得る。

40

【0274】

他の具体例において、ベクターは、レンチウイルスから誘導される。特定の具体例において、ベクターは、非分裂細胞を感染させ得る組換えレンチウイルスのベクターである。

【0275】

レンチウイルスゲノム及びプロウイルスDNAは、典型的に、レトロウイルスから発見された3個の遺伝子、すなわちgag、pol及びenvを有し、これらは2個の長い末端反復部(LTR)配列が側面に位置する。gag遺伝子は内部構造(基質、カプシド及びヌクレオカプシド)タンパク質を暗号化し、pol遺伝子はRNA指定DNA重合酵素(逆転写酵素)、プロテアーゼ及びインテグラーゼを暗号化し、env遺伝子はウイルス外皮糖タンパク質を暗号化する。5'及び3'LTRは、ピリオンRNAの転写及びポリ

50

アデニル化を促進する作用をする。LTRは、ウイルス複製に必須である全てのcis-作用配列を含有する。レンチウイルスは、vif、vpr、tat、rev、vpu、nef及びvpxを含む追加の遺伝子を有する。

【0276】

5'LTRに隣接してゲノムの逆転写(tRNAプライマー結合部位)と粒子にウイルスRNAの効果的なカプシド化(Psi部位)に必要な配列がある。カプシド化(又は、感染性ビリオンにレトロウイルスRNAのパッケージング)に必要な配列がウイルスゲノムにない場合、cis欠乏はゲノムDNAのカプシド化を防止する。

【0277】

しかし、突然変異は、全てのビリオンタンパク質の合成を指示できるように維持される。本発明は、非分裂細胞を感染させ得る組換えレンチウイルスを生成する方法を提供し、この方法は、適切な宿主細胞をパッケージング機能を持つ2つ以上のベクター、すなわちgag、pol及びenv、又はrev及びtatでトランスフェクションすることを含む。次の開示のとおり、機能的tat遺伝子を欠如したベクターが特定の用途に好ましい。したがって、例えば、第1ベクターは、ウイルスgag及びウイルスpolを暗号化する核酸を提供でき、他のベクターは、パッケージング細胞を生成できるウイルスenvを暗号化する核酸を提供することができる。伝達ベクターとして確認された、異種性遺伝子を提供するベクターを当該パッケージング細胞に導入することは、関心外来遺伝子を持つ感染性ウイルス粒子を放出するプロデューサー細胞を提供する。

10

【0278】

ベクター及び外来遺伝子の前記提示された構成形態によって、第2ベクターは、ウイルス外皮(env)遺伝子を暗号化する核酸を提供することができる。env遺伝子は、レトロウイルスを含む任意の適切なウイルスから由来し得る。一部の具体例において、envタンパク質は、ヒト及び他の種の細胞の形質導入を許容する両側性外皮タンパク質である。

20

【0279】

レトロウイルス-由来env遺伝子の非制限的な例は、Moloneyミューリン白血病ウイルス(MoMuLV又はMMLV)、Harveyミューリン肉腫ウイルス(HaMuSV又はHSV)、ミューリン乳房腫瘍ウイルス(MuMTV又はMMTV)、テナガザル白血病ウイルス(GaLV又はGALV)、ヒト免疫欠乏ウイルス(HIV)及びRous肉腫ウイルス(RSV)を含む。水泡性口内炎ウイルス(VSV)タンパク質G(VSV G)、肝炎ウイルス及びインフルエンザのような他のenv遺伝子も使用され得る。

30

【0280】

ウイルスenv核酸配列を提供するベクターは、本明細書に提示された調節配列と作動可能に会合される。

【0281】

特定の具体例において、ベクターは、非分裂細胞を形質導入するベクターの能力を損傷させず、HIV病毒性遺伝子env、vif、vpr、vpu及びnefが欠失されたレンチウイルスベクターを含む。

40

【0282】

一部の具体例において、ベクターは、3'LTRのU3領域の欠失を含むレンチウイルスベクターを含む。U3領域の欠失は、完全な欠失又は部分的欠失でよい。

【0283】

一部の具体例において、本明細書に提示されたFVIIINucleotide配列を含む本発明のレンチウイルスベクターは、(a)gag、pol、又はgag及びpol遺伝子を含む第1ヌクレオチド配列、及び(b)異種性env遺伝子を含む第2ヌクレオチド配列で細胞にトランスフェクションされ得る；ここで、レンチウイルスベクターは機能的tat遺伝子を欠如する。他の具体例において、細胞は、rev遺伝子を含む第4ヌクレオチド配列でさらにトランスフェクションされる。特定の具体例において、レンチウイルスベ

50

クターは *vif*、*vpr*、*vpu*、*vpx* 及び *nef*、又はそれらの組合せから選択された機能的遺伝子を欠如する。

【0284】

特定の具体例において、レンチウイルスは、*gag* タンパク質、*Rev* - 反応要素、中心ポリプリントラック (*cPPT*)、又はそれらの任意の組合せを暗号化する一つ以上のヌクレオチド配列を含む。

【0285】

レンチウイルスベクターの例は、W09931251、W09712622、W09817815、W09817816、及びW09818934に開示され、これらはその全体が参考として本明細書に組み込まれる。

10

【0286】

他のベクターは、プラスミドベクターを含む。プラスミドベクターは、当業界に広範囲で公知である(例えば、*Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989* 参照)。ここ数年間、プラスミドベクターは、宿主ゲノム内で複製されて統合され得る能力を有しないことから、生体内で細胞に遺伝子を送達するのに特に有益なものと判明された。しかし、宿主細胞と両立可能なプロモーターを持つプラスミドは、プラスミド内で作動可能に暗号化された遺伝子からペプチドを発現することができる。商業的供給者から入手可能な一部の共通使用されるプラスミドは、*pBR322*、*pUC18*、*pUC19*、様々な *pcDNA* プラスミド、*pRC/CMV*、様々な *pCMV* プラスミド、*pSV40* 及び *pBlueScript* を含む。具体的なプラスミドの追加の例は、*pcDNA3.1*、カタログナンバー *V79020*；*pcDNA3.1/hygro*、カタログナンバー *V87020*；*pcDNA4/myc-His*、カタログナンバー *V86320*；及び *pBudCE4.1*、カタログナンバー *V53220* を含み、いずれも *Invitrogen (Carlsbad, CA.)* から購入可能である。他のプラスミドも当業者にとって公知である。さらに、プラスミドは、DNAの特定の断片を除去し及び/又は追加するために標準分子生物学技術を用いて注文デザインされ得る。

20

【0287】

V. 抗体生成

30

FAM19A5 (例えば、ヒト *FAM19A5*) に免疫特異的に結合する抗体又はその断片は、抗体の合成のための当業界における公知の任意の方法によって、例えば化学合成や組換え発現技術によって生成され得る。本明細書に開示された方法は、別に示さない限り、分子生物学、微生物学、遺伝子分析、組換えDNA、有機化学、生化学、PCR、オリゴヌクレオチド合成及び変形、核酸混成化及び当業界の関連分野における従来技術を利用する。これらの技術は、本明細書に引用された参考文献等に記載されており、これらの文献には詳細に説明されている(例えば、*Maniatis T et al., (1982) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J et al., (1989), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J et al., (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987 及び年次更新); Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons (1987 及び年次更新) Gait (ed.) (1984) Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL*

40

50

Press; Eckstein (ed.) (1991) *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren B et al, (eds.) (1999) *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press 参照)。

【0288】

特定の具体例において、本明細書に提示された抗体は、例えば、DNA配列の合成、遺伝子遺伝操作による生成を伴う任意の手段によって作製、発現、生成又は分離された抗体（例えば、組換え抗体）である。特定の具体例において、このような抗体は、生体内で動物又は哺乳類（例えば、ヒト）の抗体生殖細胞系レパートリー内に自然的に存在しない配列（例えば、DNA配列又はアミノ酸配列）を含む。

10

【0289】

特定の態様において、本明細書に提示された細胞又は宿主細胞を培養することを含む、FAM19A5（例えば、ヒトFAM19A5）に免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を作製する方法が開示される。特定の態様において、本明細書に提示された細胞又は宿主細胞（例えば、本明細書に提示された抗体を暗号化するポリヌクレオチドを含む細胞又は宿主細胞）を使用して抗体又はその抗原結合断片を発現する（例えば、組換え発現することを含む、FAM19A5（例えば、ヒトFAM19A5）に免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片の作製方法が開示される。特定の具体例において、細胞は、分離された細胞である。特定の具体例において、外因性ポリヌクレオチドが細胞に導入された。特定の具体例において、この方法は、細胞又は宿主細胞から得られた抗体又は抗原結合断片を精製する段階をさらに含む。

20

【0290】

多クローン性抗体を生成するための方法は当業界に公知である（例えば、Chapter 11, *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5th Ed., Ausubel FM et al, eds., John Wiley and Sons, New York 参照)。

【0291】

単クローン性抗体は、ハイブリドーマ、組換え及びファージディスプレイ技術、又はこれらの組合せを含む、当業界における公知の広範囲な技術を用いて作製することができる。単クローン性抗体は当業界に公知であり、例えば、Harlow E & Lane D, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling GJ et al., *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563681 (Elsevier, N.Y., 1981) に教示されたハイブリドーマ技術を用いて生成することができる。本明細書に提示された“単クローン性抗体”は、ハイブリドーマ技術によって生成された抗体に制限されない。例えば、単クローン性抗体は、本明細書に提示された抗体又はその断片、例えばこのような抗体の軽鎖及び/又は重鎖を外因性発現する宿主細胞から組換え生成されてもよい。

30

40

【0292】

特定の具体例において、本明細書に提示された“単クローン性抗体”は、単一細胞（例えば、組換え抗体を生成するハイブリドーマ又は宿主細胞）によって生成された抗体であり、例えば、ELISA又は当業界に公知であるか本明細書に開示された実施例に提示された他の抗原結合又は競合結合分析によって決定された時、FAM19A5（例えば、ヒトFAM19A5）に免疫特異的に結合する。特定の具体例において、単クローン性抗体はキメラ抗体又はヒト化抗体でよい。特定の具体例において、単クローン性抗体は、1価抗体又は多価（例えば、2価）抗体である。特定の具体例において、単クローン性抗体は、単一特異的又は多重特異的抗体（例えば、二重特異的抗体）である。本明細書に提示された単クローン性抗体は、例えば Kohler G & Milstein C (197

50

5) Nature 256:495に記載されたとおり、ハイブリドーマ方法によって作製されてもよく、又は本明細書に提示されたような技術を用いてファージライブラリーから分離されてもよい。クローン細胞株の作製及びこのように発現された単クローン性抗体の作製のための他の方法も、当業界に十分に公知である(例えば、Chapter 11, Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel FM et al、同上)。

【0293】

ハイブリドーマ技術を用いて特定の抗体を生成しスクリーニングする方法は、当業界に十分に公知である。例えば、ハイブリドーマ方法において、マウス又は他の適切な宿主動物、例えば、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、ラット、ハムスター又はマカクザルが免疫化に使用されたタンパク質(例えば、ヒトFAM19A5)に特異的に結合する抗体を生成する、又は生成し得るリンパ球を導出するように免疫化される。また、リンパ球が試験管内免疫化され得る。次に、リンパ球は、適切な融合剤、例えばポリエチレングリコールを使用して骨髓腫細胞と融合し、これによりハイブリドーマ細胞が形成される(Goding JW(Ed)、Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)参照)。さらに、RIMMS(反復免疫化多重部位)技術が動物を免疫化するの利用され得る(Kilpatrick KE et al, (1997) Hybridoma 16:381-9、その全体が参考として本明細書に組み込まれる)。

10

【0294】

一部の具体例において、マウス(又は、他の動物、例えば、ニワトリ、ラット、サル、ロバ、ブタ、ヒツジ、ハムスター又はイヌ)が抗原(例えば、FAM19A5、例えばヒトFAM19A5)で免疫化され得、免疫反応が検出されると、抗原に特異的な抗体がマウス血清で検出され、マウス脾臓が回収され、脾臓細胞が分離される。次に、公知の技術によって脾臓細胞が任意の適切な骨髓腫細胞、例えば、American Type Culture Collection(ATCC(登録商標))(Manassas, VA)から購入可能な細胞株SP20からの細胞に融合し、これによりハイブリドーマが形成される。ハイブリドーマは、制限された希釈によって選択されクローニングされる。特定の具体例において、免疫化されたマウスのリンパ節が回収され、NSO骨髓腫細胞と融合する。

20

30

【0295】

このように作製されたハイブリドーマ細胞は、好ましくは、未融合、親骨髓腫細胞の成長や生存を抑制する一つ以上の物質を含有する適切な培養培地に播種され成長される。例えば、親骨髓腫細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HGPRT又はHPRRT)を欠如すると、ハイブリドーマの培養培地は典型的に、ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン(HAT培地)を含むはずであり、これらの物質はHGPRT欠陥細胞の成長を防止する。

【0296】

特定の具体例は、選択された抗体生成細胞を効果的に融合し、それによる安定した高いレベルの抗体生成を支援し、HAT培地のような培地に敏感な骨髓腫細胞を利用する。これらの骨髓腫細胞株の中にはミューリン骨髓腫細胞株、例えばNSO細胞株又はSalk Institute Cell Distribution Center(San Diego, CA, USA)から入手可能なMOPC-21及びMPC-11マウス腫瘍から由来したもの、及びAmerican Type Culture Collection(Rockville, MD, USA)から入手可能なSP-2又はX63-Ag8.653細胞がある。ヒト骨髓腫及びマウス-ヒト異種骨髓腫細胞株がまた、ヒト単クローン性抗体を生成するために提示された(Kozbor D(1984) J Immunol 133:3001-5; Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New

40

50

York, 1987) 参照)。

【0297】

ハイブリドーマ細胞が成長した培養培地は、FAM19A5 (例えば、ヒトFAM19A5) に対して指定された単クローン性抗体の生成に対して評価される。ハイブリドーマ細胞によって生成された単クローン性抗体の結合特異性は、当業界における公知の方法によって、例えば免疫沈殿又は試験管内結合分析、例えば放射性免疫分析 (RIA) 又は酵素結合免疫吸着分析 (ELISA) によって決定される。

【0298】

所望の特異性、親和性及び/又は活性の抗体を生成するハイブリドーマ細胞が確認された後、クローンは希釈過程を制限することによってサブクローニングされ、標準方法によって成長され得る (Goding JW (Ed), Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 同上)。この目的のための適切な培養培地は、例えばD-MEM又はRPMI 1640培地を含む。また、ハイブリドーマ細胞は、動物で腹水 (ascites) 腫瘍として生体内成長され得る。

【0299】

サブクローンから分泌される単クローン性抗体は、例えば、タンパク質Aセファロース、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析又は親和性クロマトグラフィーのような従来の免疫グロブリン精製過程によって培養培地、腹水流体又は血清から好適に分離され得る。

【0300】

本明細書に提示された抗体は、特定のFAM19A5 (例えば、ヒトFAM19A5) を認識する抗体断片を含み、当業者に公知である任意の技術によって生成され得る。例えば、本明細書に提示されたFab及びF(ab')₂断片は、パパイン (Fab断片の生成) 又はペプシン (F(ab')₂断片の生成) のような酵素を用いて、免疫グロブリン分子のタンパク質加水分解切断によって生成され得る。Fab断片は、抗体分子の2つの同一腕の一つに相応し、重鎖のVH及びCH1ドメインと対をなす完全な軽鎖を含有する。F(ab')₂断片は、ヒンジ領域で二硫化物結合によって連結された抗体分子の2個の抗原結合腕を含有する。

【0301】

また、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合断片は、当業界に公知である様々なファージディスプレイ方法を用いて生成され得る。ファージディスプレイ方法において、機能的抗体ドメインがそれを暗号化するポリヌクレオチド配列を持つファージ粒子の表面にディスプレイされる。特に、VH及びVLドメインを暗号化するDNA配列が動物cDNAライブラリー (例えば、疾患組織のヒト又は非ヒト、例えばミューリン又はニワトリcDNAライブラリー) から増幅される。VH及びVLドメインを暗号化するDNAは、PCRによってscFvリンカーと共に組換えられ、ファージミドベクターにクローニングされる。ベクターはイーコリに電気穿孔され、イーコリはヘルパーファージで感染される。これらの方法に使用されたファージは、典型的に、fd及びM13を含む糸状ファージであり、VH及びVLドメインは一般に、ファージ遺伝子III又は遺伝子VIIIIに組換え融合する。特定遺伝子に結合する抗原結合ドメインを発現するファージを選択でき、抗原、例えば標識された抗原又は固体表面やビーズに連結された、又は捉えた抗原を用いて確認することができる。本明細書に提示された抗体を作製するのに利用できるファージディスプレイ方法の例は、Brinkman U et al, (1995) J Immunol Methods 182: 41-50; Ames RS et al, (1995) J Immunol Methods 184: 177-186; Kettleborough CA et al, (1994) Eur J Immunol 24: 952-958; Persic L et al, (1997) Gene 187: 9-18; Burton DR & Barbas CF (1994) Advan Immunol 157: 191-280; PCT出願番号PCT/GB91/001134; 国際公開番号WO90/02809、WO91/10737、WO92/01047、WO92/1

10

20

30

40

50

8619、WO93/11236、WO95/15982、WO95/20401、及びWO97/13844；及び米国特許公報第5,698,426号、第5,223,409号、第5,403,484号、第5,580,717号、第5,427,908号、第5,750,753号、第5,821,047号、第5,571,698号、第5,427,908号、第5,516,637号、第5,780,225号、第5,658,727号、第5,733,743号及び第5,969,108号に開示されたものを含む。

【0302】

前記参考文献に記載されたとおり、ファージ選択後、ファージから抗体コーディング領域が分離され、ヒト抗体を含む全抗体、又は任意の他の所望の抗原結合断片を生成するために使用され得、下記のとおり、哺乳類細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母及びバクテリアを含む任意の所望の宿主で発現し得る。また、Fab、Fab'及びF(ab')₂断片のような抗体断片を組換え生成する技術が、PCT公開番号WO92/22324；Mullinax RL et al, (1992) BioTechniques 12(6)：864-9；Sawai H et al, (1995) Am J Reprod Immunol 34：26-34；及びBetter M et al, (1988) Science 240：1041-1043に開示されたもののよう、当業界に公知である。

【0303】

一態様において、全抗体を生成するために、VH又はVLヌクレオチド配列、制限部位、及び制限部位を保護するためのフランキング(flancking)配列を含むPCRプライマーが、鑄型、例えばscFvクローンからVH又はVL配列を増幅するために使用され得る。当業者に公知であるクローニング技術を用いて、PCR増幅されたVHドメインがVH不変領域を発現するベクターにクローニングされ、PCR増幅されたVLドメインはVL不変領域、例えばヒトカップ又はラムダ不変領域を発現するベクターにクローニングされ得る。また、VH及びVLドメインは必須不変領域を発現する一つのベクターにクローニングされ得る。次に、当業者に公知の技術を用いて重鎖転換ベクターと軽鎖転換ベクターが細胞株に共トランスフェクションされることにより、全長抗体、例えばIgGを発現する安定的な又は一時的な細胞株を生成することができる。

【0304】

キメラ抗体は、抗体の異なる部分が異なる免疫グロブリン分子から由来した分子である。例えば、キメラ抗体は、ヒト抗体の不変領域に融合した非ヒト動物(例えば、マウス、ラット又はニワトリ)単クローン性抗体の可変領域を含有し得る。キメラ抗体を生成するための方法は、当業界に公知である(例えば、Morrisson SL(1985) Science 229：1202-7；Oj VT & Morrisson SL(1986) Bio-Techniques 4：214-221；Gillies SD et al, (1989) J Immunol Methods 125：191-202；及び米国特許出願番号5,807,715号、4,816,567号、第4,816,397号、及び第6,331,415号参照)。

【0305】

ヒト化抗体は、定められた抗原に結合でき、実質的にヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を持つフレームワーク領域及び実質的に非ヒト免疫グロブリン(例えば、ムーリン又はニワトリ免疫グロブリン)のアミノ酸配列を持つCDRを含む。特定の具体例において、ヒト化抗体はまた免疫グロブリン不変領域(Fc)の少なくとも一部分、典型的にヒト免疫グロブリンのものを含む。抗体はまた、重鎖のCH1、ヒンジ、CH2、CH3及びCH4領域を含むことができる。ヒト化抗体は、IgM、IgG、IgD、IgA及びIgE、並びにIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4を含む任意のイソタイプを含む免疫グロブリンの任意の類型から選択され得る。ヒト化抗体は、当業界における公知の様々な技術を用いて生成することができ、公知技術の非制限的な例は、CDR-グラフティング(ヨーロッパ特許番号EP239400；国際公開番号WO91/09967；及び米国特許第5,225,539号、第5,530,101号、及び第5,585,089

10

20

30

40

50

号)、ベニアリング又はリサーフェーシング(ヨーロッパ特許番号EP592106及びEP519596; Padlan EA(1991) Mol Immunol 28(4/5): 489-498; Studnicka GM et al, (1994) Prot Engineering 7(6): 805-814; 及び Roguska MA et al, (1994) PNAS 91: 969-973)、鎖シャッフリング(米国特許No. 5, 565, 332)、そして米国特許第6, 407, 213号、米国特許第5, 766, 886号、国際公開番号WO93/17105; Tan P et al, (2002) J Immunol 169: 1119-25; Caldas C et al, (2000) Protein Eng. 13(5): 353-60; Moreau V et al, (2000) Methods 20(3): 267-79; Baca M et al, (1997) J Biol Chem 272(16): 10678-84; Roguska MA et al, (1996) Protein Eng 9(10): 895904; Couto JR et al, (1995) Cancer Res. 55(23 Supp): 5973s-5977s; Couto JR et al, (1995) Cancer Res 55(8): 1717-22; Sandhu JS(1994) Gene 150(2): 409-10及びPedersen JT et al, (1994) J Mol Biol 235(3): 959-73に記載された技術を含む。また、米国出願公開番号US2005/0042664A1(2005-2-24)を参照し、これはその全体が参考として本明細書に組み込まれる。

10

20

【0306】

多重特異的(例えば、二重特異的)抗体を作製する方法が公開されている(例えば、米国特許第7, 951, 917号; 第7, 183, 076号; 第8, 227, 577号; 第5, 837, 242号; 第5, 989, 830号; 第5, 869, 620号; 第6, 132, 992号及び第8, 586, 713号参照)。

【0307】

単ドメイン抗体、例えば、軽鎖を欠如した抗体が当業界における公知の方法によって生成され得る(Riechmann L & Muyl dermans S(1999) J Immunol 231: 25-38; Nuttall SD et al, (2000) Curr Pharm Biotechnol 1(3): 253-263; Muyl - dermans S, (2001) J Biotechnol 74(4): 277-302; 米国特許第6, 005, 079号; 及び国際公開番号WO94/04678、WO94/25591及びWO01/44301参照)。

30

【0308】

また、FAM19A5抗原に免疫特異的に結合する抗体は、当業者にとって公知の技術を用いて、抗原を“模倣する”抗イデオタイプ抗体を生成するのに利用され得る(例えば、Greenspan NS & Bona CA(1989) 77(5): 437-444; 及びNissinoff A(1991) 7 Immunol 147(8): 2429-2438参照)。

【0309】

特定の具体例において、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体としてFAM19A5(例えば、ヒトFAM19A5)の同一エピトープに結合する、本明細書に提示された抗体は、ヒト抗体又はその抗原結合断片である。特定の具体例において、FAM19A5(例えば、ヒトFAM19A5)に対する結合から本明細書に提示された抗体(例えば、1-65)を競合的に遮断する(例えば、容量依存的方式で)、本明細書に提示された抗体は、ヒト抗体又はその抗原結合断片である。

40

【0310】

ヒト抗体は当業界における公知の任意の方法を用いて生成され得る。例えば、機能的内因性免疫グロブリンを発現することはできないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現できる遺伝子導入マウスを使用することができる。特に、ヒト重鎖と軽鎖免疫グロブリン遺伝子複合体が無作為に又は相同性組換えによってマウス胚幹細胞に導入され得る。また、ヒ

50

ト可変領域、不変領域及び多様性領域がヒト重鎖及び軽鎖遺伝子に加えて、マウス胚幹細胞に導入され得る。マウス重鎖及び軽鎖免疫グロブリン遺伝子は、相同性組換えによるヒト免疫グロブリン遺伝子座の導入と同時に又は別途に非機能的になり得る。特に、JH領域の同型接合性の欠失は、内因性抗体の生成を防止する。変形された胚幹細胞が拡張され、胚盤胞にマイクロインジェクションされることによってキメラマウスが生成される。次に、キメラマウスは、ヒト抗体を発現する同型接合性子孫を生成するように飼育される。遺伝子導入マウスは、選択された抗原で、例えば、抗原(例えば、FAM19A5)の全部又は一部で正常方式によって免疫化される。抗原に対して指定された単クローン性抗体は、従来のハイブリドーマ技術を用いて免疫化された、遺伝子導入マウスから得られる。遺伝子導入マウスによって隠されたヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、B細胞分化中に再配列され、次いで類型転換及び体細胞突然変異を経る。したがって、このような技術を用いて、治療的に有用なIgG、IgA、IgM及びIgE抗体を生成することが可能である。ヒト抗体を生成するためのこの技術の概略的な内容については、Lonberg N & Huszar D (1995) *Int Rev Immunol* 13: 65-93を参照する。ヒト抗体及びヒト単クローン性抗体を生成するためのこの技術及びこのような抗体を生成するプロトコルに関する詳細な内容は、例えば、国際公開番号WO98/24893、WO96/34096及びWO96/33735;及び米国特許第5,413,923号、第5,625,126号、第5,633,425号、第5,569,825号、第5,661,016号、第5,545,806号、第5,814,318及び第5,939,598号を参照する。ヒト抗体を生成できるマウスの例は、XENOMOUSE™ (Abgenix, Inc.; 米国特許番号第6,075,181号及び第6,150,184号)、HUAB-MOUSE™ (Mederex, Inc./Gen Pharm; 米国特許第5,545,806号及び第5,569,825号)、TRANSCHROMO-MOUSE™ (Kirin)及びKM-MOUSE™ (Medarex/Kirin)を含む。

【0311】

FAM19A5(例えば、ヒトFAM19A5)に特異的に結合するヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列から由来した抗体ライブラリーを使用する前記記載されたファージディスプレイ方法を含む当業界における公知の様々な方法によって作製され得る。また、米国特許第4,444,887号、第4,716,111号及び第5,885,793号;及び国際公開番号WO98/46645、WO98/50433、WO98/24893、WO98/16654、WO96/34096、WO96/33735、及びWO91/10741を参照する。

【0312】

一部の具体例において、ヒト抗体は、マウス-ヒトハイブリドーマを使用して生成され得る。例えば、エプスタインパールウイルス(EBV)で形質転換されたヒト末梢血リンパ球は、ヒト単クローン性抗体を分泌するマウス-ヒトハイブリドーマを生成するためにマウス骨髄腫細胞と融合でき、これらのマウス-ヒトハイブリドーマは標的抗原(例えば、ヒトFAM19A5のようなFAM19A5)に免疫特異的に結合するヒト単クローン性抗体を分泌することを決定するためにスクリーニングされ得る。このような方法は当業界に公知である(例えば、Shinmoto H et al, (2004) *Cytotechnology* 46: 19-23; Naganawa Y et al, (2005) *Human Antibodies* 14: 27-31参照)。

【0313】

VI. 抗体遺伝操作方法

前述のとおり、本明細書に提示されたVH及びVL配列を持つ抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、VH及び/又はVL配列、又はそこに付着された不変領域を変形することによって、新しい抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分を生成することによって使用され得る。したがって、他の態様において、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体の構造的特徴は、ヒトFAM19A5に対する結合のような、本明細書に提示された

抗体の少なくとも一つの機能的特性を保有する構造的に関連した抗FAM19A5抗体を生成することに使用される。例えば、遺伝操作方法のための出発材料は、本明細書に提示されたVH及び/又はVL配列、又はその一つ以上のCDR領域である。遺伝操作された抗体を生成するために、本明細書に提示されたVH及び/又はVL配列のいずれか一つ以上、又はその一つ以上のCDR領域を持つ抗体を実際に作製すること(すなわち、タンパク質として発現すること)は不要である。むしろ配列に含まれた情報が親配列から由来した“2世代”配列を生成するための出発材料として使用され、次に“2世代”配列がタンパク質として作製され発現する。

【0314】

したがって、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分を作製する方法が本明細書に提示され、この方法は、

(a)(i)表2に提示されたCDR1、CDR2及び/又はCDR3配列又は表4に提示された重鎖可変領域のCDR1、CDR2及び/又はCDR3を含む重鎖可変領域配列;及び(ii)表3に提示されたCDR1、CDR2及び/又はCDR3配列又は表5に提示された重鎖可変領域のCDR1、CDR2及び/又はCDR3を含む軽鎖可変領域配列を提供する段階;

(b)重鎖可変領域配列及び/又は軽鎖可変領域配列内の少なくとも一つのアミノ酸残基を変更して、少なくとも一つの変更された抗体又は抗原結合部分配列を生成する段階;及び

(c)変更された抗体又は抗原結合部分配列をタンパク質として発現する段階を含む。

【0315】

標準分子生物学技術が、変更された抗体又は抗原結合部分配列を作製及び発現するのに利用され得る。

【0316】

一部の具体例において、変更された抗体又は抗原結合部分配列によって暗号化された抗体又はその抗原結合部分は、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体の機能的特性の一つ、一部又は全部を保有するものであり、機能的特性は、次を含む:

(1)例えばBiacoreによって測定された時、10nM以下(例えば、0.01nM~10nM)の K_D で可溶性ヒトFAM19A5に結合;

(2)例えばELISAによって測定された時、1nM以下(例えば、0.01nM~1nM)の K_D で膜結合ヒトFAM19A5に結合;

(3)例えばELISAによって測定された時、1nM以下(例えば、0.01nM~1nM)のEC50で膜結合ヒトFAM19A5に結合;

(4)反応性神経膠症の開始を減少、逆転、遅延及び/又は予防;

(5)反応性星状細胞の過度な増殖を抑制;

(6)ニューロカン及びニューロン-神経膠抗原2(NG2)を含むコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの発現の減少;

(7)ニューロンの核でc-fos及びpERK発現の増加;

(8)ニューロンの生存促進;

(9)ニューロンでGAP43の発現増加;

(10)軸索突起の再成長促進;及び

(11)ヒトFAM19A5に対する結合において本明細書に提示された抗FAM19A5抗体と一方向に又は両方向に競合。

【0317】

変更された抗体又はその抗原結合部分は、前記(1)~(11)に提示された機能的特性のうち、1つ以上、2つ以上、3つ以上、4つ以上、5つ以上、6つ以上、7つ以上、8つ以上、9つ以上、10つ以上、11つ又は全部を表すことができる。変更された抗体又はその抗原結合部分の機能的特性は、実施例に提示されたもののよう(例えば、ELISA、FACS)に当業界で利用可能であり、及び/又は本明細書に提示された標準分析

によって評価され得る。

【0318】

本明細書に提示された抗体を遺伝操作する方法の特定の具体例において、突然変異が抗FAM19A5抗体コーディング配列の全部又は一部に沿って無作為に又は選択的に導入され得、その結果、変形された抗FAM19A5抗体は結合活性及び/又は本明細書に提示された他の機能的特性に対してスクリーニングされ得る。突然変異方法は当業界に公知である(例えば、ShortによるPCT公開WO02/092780は、飽和突然変異誘発、合成ライゲーション組立体、又はそれらの組合せを用いて抗体突然変異を生成しスクリーニングする方法を開示する。)。または、LazarなどによるPCT公開WO03/074679は、抗体の物理化学的特性を最適化するためのコンピュータスクリーニング方法を使用する方法を開示する。

10

【0319】

VII. 細胞及びベクター

特定の態様において、FAM19A5(例えば、ヒトFAM19A5)に特異的に結合する本明細書に提示された抗体(又は、その抗原結合部分)を発現する(例えば、組換え方式で)細胞(例えば、宿主細胞)及び関連したポリヌクレオチド及び発現ベクターが開示される。宿主細胞、例えば哺乳類細胞における組換え発現のために、抗FAM19A5抗体又は断片を暗号化するヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含むベクター(例えば、発現ベクター)が開示される。また、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体(例えば、ヒト又はヒト化抗体)を組換え発現するためのこのようなベクターを含む宿主細胞が開示される。特定の態様において、宿主細胞からこのような抗体を発現させることを含む、本明細書に提示された抗体を生成する方法が開示される。

20

【0320】

FAM19A5(例えば、ヒトFAM19A5)に特異的に結合する本明細書に提示された抗体(例えば、本明細書に提示された全長抗体、抗体の重鎖及び/又は軽鎖、又は単鎖抗体)の組換え発現は、抗体を暗号化するポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構成を伴う。本明細書に提示された抗体分子、抗体の重鎖及び/又は軽鎖、又はその断片(例えば、重鎖及び/又は軽鎖可変ドメイン)を暗号化するポリヌクレオチドが得られると、抗体分子の生成のためのベクターが、当業界における公知の技術を用いる組換えDNA技術によって生成され得る。したがって、ヌクレオチド配列を暗号化する抗体又は抗体断片(例えば、軽鎖又は重鎖)を含有するポリヌクレオチドを発現することによってタンパク質を作製する方法が、本明細書に開示される。当業界における公知の方法が、抗体又は抗体断片(例えば、軽鎖又は重鎖)コーディング配列と適切な転写及び翻訳制御信号を含有する発現ベクターを構成するために利用され得る。これらの方法は、例えば、試験管内組換えDNA技術、合成技術及び生体内遺伝子組換えを含む。また、プロモーターに作動可能に連結された、本明細書に提示された抗体分子、抗体の重鎖又は軽鎖、抗体の重鎖又は軽鎖可変ドメイン又はその断片、あるいは重鎖又は軽鎖CDRを暗号化するヌクレオチド配列を含む複製可能なベクターが開示される。このようなベクターは、例えば、抗体分子の不変領域を暗号化するヌクレオチド配列を含むことができ(例えば、国際公開番号WO86/05807及びWO89/01036;及び米国特許第5,122,464号参照)、全体重鎖、全体軽鎖、又は全体重鎖と軽鎖の両方の発現のために、このようなベクターに抗体の可変ドメインがクローニングされ得る。

30

40

【0321】

発現ベクターは従来技術によって細胞(例えば、宿主細胞)に伝達され、次に、得られた細胞が従来技術によって培養されて、本明細書に提示された抗体(例えば、本発明の抗FAM19A5抗体のVH及び/又はVL、又はVH及び/又はVLCDRのいずれか一つ以上を含む抗体)又はその断片を生成することができる。したがって、宿主細胞においてこのような配列の発現のためにプロモーターに作動可能に連結された、本明細書に提示された抗体又はその断片、又はその重鎖又は軽鎖、又はその断片、又は本明細書に提示された単鎖抗体を暗号化するポリヌクレオチドを含有する宿主細胞が、本明細書に開示

50

される。特定の具体例において、二本鎖抗体の発現のために、重鎖と軽鎖の両方を個別的に暗号化するベクターが、以下に詳細に記載されるとおり、全体免疫グロブリン分子の発現のために宿主細胞で共発現し得る。特定の具体例において、宿主細胞は、本明細書に提示された抗体、又はその断片の重鎖及び軽鎖の両方を暗号化するポリヌクレオチドを含むベクターを含有する。特定の具体例において、宿主細胞は2つの異なるベクターを含有し、第1ベクターは、本明細書に提示された抗体、又はその断片の重鎖又は重鎖可変領域を暗号化するポリヌクレオチドを含み、第2ベクターは、本明細書に提示された抗体、又はその断片の軽鎖又は軽鎖可変領域を暗号化するポリヌクレオチドを含む。他の具体例において、第1宿主細胞は、本明細書に提示された抗体、又はその断片の重鎖又は重鎖可変領域を暗号化するポリヌクレオチドを含む第1ベクターを含み、第2宿主細胞は、本明細書に提示された抗体の軽鎖又は軽鎖可変領域を暗号化するポリヌクレオチドを含む第2ベクターを含む。特定の具体例において、第1細胞によって発現した重鎖/重鎖可変領域は、第2細胞の軽鎖/軽鎖可変領域と会合し、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合断片を形成する。特定の具体例において、このような第1宿主細胞とこのような第2宿主細胞を含む宿主細胞集団が開示される。

10

【0322】

特定の具体例において、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体の軽鎖/軽鎖可変領域を暗号化するポリヌクレオチドを含む第1ベクター、及び本明細書に提示された抗FAM19A5抗体の重鎖/重鎖可変領域を暗号化するポリヌクレオチドを含む第2ベクターを含むベクター集団が開示される。

20

【0323】

様々な宿主発現ベクターシステムが、本明細書に提示された抗体分子を発現させるために利用され得る。このような宿主発現システムは、関心コーディング配列が生成され、次いで精製され得るピークルを含むだけでなく、適切なヌクレオチドコーディング配列で形質転換され、又はトランスフェクションされた時、本明細書に提示された抗体分子をインシチュ発現し得る細胞を含む。このような宿主発現システムは、抗体コーディング配列を含有する組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNA又はコスミドDNAで形質転換されたバクテリア（例えば、イーコリ及びパチルスサブティリス）のような微生物；抗体コーディング配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）で感染された昆虫細胞システム；抗体コーディング配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）で感染された又は組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Tiプラスミド）で形質転換された植物細胞システム（例えば、クラミドモナスラインハーティ（*Chlamydomonas reinhardtii*）のような緑色藻類）；または哺乳類細胞のゲノム（例えば、メタロチオネインプロモーター）から又は哺乳類ウイルス（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；牛痘ウイルス7.5Kプロモーター）から由来したプロモーターを含有する組換え発現構成物を隠している哺乳類細胞システム（例えば、COS（例えば、COS1又はCOS）、CHO、BHK、MDCK、HEK293、NSO、PER.C6、VERO、CRL7030、HsS78Bst、HeLa、及びNIH3T3、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20及びBMT10細胞）を含む。特定の具体例において、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合断片を発現させるための細胞は、CHO細胞、例えばCHO GS SYSTEM（商標）（Lonza）からのCHO細胞である。特定の具体例において、本明細書に提示された抗体を発現させるための細胞は、ヒト細胞、例えばヒト細胞株である。特定の具体例において、哺乳類発現ベクターは、POPTIVEC（商標）又はpcDNA3.3である。特定の具体例において、特に、全体組換え抗体分子の発現のために、イーコリ又は真核生物細胞（例えば、哺乳類細胞）のようなバクテリア細胞が組換え抗体分子の発現のために使用される。例えば、中国ハムスター卵巣（CHO）細胞のような哺乳類細胞は、ヒトサイトメガロウイルスからの主要中間体初期遺伝子プロモーター要素のようなベクターと共に、抗体に対する効果的な発現システムに

30

40

50

なる (Foecking MK & Hofstetter H (1986) Gene 45:101-5; 及び Cockett MI et al, (1990) Biotechnology 8(7):662-7 参照)。特定の具体例において、本明細書に提示された抗体は、CHO細胞又はNSO細胞によって生成される。特定の具体例において、FAM19A5 (例えば、ヒトFAM19A5)に免疫特異的に結合する本明細書に提示された抗体を暗号化するヌクレオチド配列の発現は、構成的プロモーター、誘導性プロモーター又は組織特異的プロモーターによって調節される。

【0324】

バクテリアシステムにおいて、多数の発現ベクターが、発現する抗体分子によって有益に選択され得る。例えば、抗体分子の薬学組成物の生成のために多量の抗体が生成されるべき場合、容易に精製される高いレベルの融合タンパク質生成物の発現を指示するベクターが好ましいであろう。このようなベクターの非制限的な例は、抗体コーディング配列がlacZコーディング領域を持つフレーム内でベクターに個別的にライゲーションされることにより、融合タンパク質が生成され得るイーコリ発現ベクターUR278 (Ruetter U & Mueller-Hill B (1983) EMBO J 2:1791-1794); pINベクター (Inouye S & Inouye M (1985) Nuc Acids Res 13:3101-3109; Van Heeke G & Schuster SM (1989) J Biol Chem 24:5503-5509) などを含む。また、pGEXベクターがグルタチオン5-トランスフェラーゼ (GST) との融合タンパク質として外来ポリペプチドを発現するために使用され得る。一般に、このような融合タンパク質は可溶性であり、基質グルタチオンアガロースビーズへの吸着及び結合後、自由グルタチオンの存在下に溶出によって細胞溶解された細胞から容易に精製され得る。pGEXベクターは、トロンピン又は因子Xaプロテアーゼ切断部位を含むようにデザインされ、これで、クローニングされた標的遺伝子生成物がGST部分から放出され得る。

10

20

【0325】

昆虫システムにおいて、例えば、オートグラフィカルフォルニカ核多面体形成ウイルス (AcNPV) が外来遺伝子を発現させるためのベクターとして使用され得る。このウイルスは、スポドプテラフルギペルダ (Spodoptera frugiperda) 細胞で成長する。抗体コーディング配列がウイルスの非必須領域 (例えば、ポリヘドリン遺伝子) に個別的にクローニングされ、AcNPVプロモーター (例えば、ポリヘドリンプロモーター) の制御下に置かれ得る。

30

【0326】

哺乳類宿主細胞において、多数のウイルス基盤発現システムが利用され得る。アデノウイルスが発現ベクターとして使用される場合、関心抗体コーディング配列がアデノウイルス転写/翻訳制御複合体、例えば、後期プロモーター及び3部リーダー配列にライゲーションされ得る。次に、このキメラ遺伝子は、試験管内又は生体内組換えによってアデノウイルスゲノムに挿入され得る。ウイルスゲノムの非必須領域 (例えば、領域E1又はE3) での挿入は、生育性であり且つ感染された宿主で抗体分子を発現できる組換えウイルスをもたらすはずである (例えば、Logan J & Shenk T (1984) PNAS 81(12):3655-9 参照)。特定の開始信号がまた、挿入された抗体コーディング配列の効果的な翻訳のために必要である。これらの信号はATG開始コドン及び隣接配列を含む。また、開始コドンは、全体挿入体の翻訳を保障するために所望のコーディング配列のリーディングフレームと同じ位相にある必要がある。これらの外因性翻訳制御信号及び開始コドンは、天然及び合成の様々な起源を有することができる。発現効能は適切な転写エンハンサー要素、転写ターミネーターなどを含むことによって増進され得る (例えば、Bitter G et al, (1987) Methods Enzymol. 153:516-544 参照)。

40

【0327】

また、挿入された配列の発現を調整する、又は、所望の特定の方式で遺伝子生成物を変

50

形し処理する宿主細胞菌株が選択され得る。タンパク質生成物のこのような変形（例えば、グリコシル化）及び処理（例えば、切断）は、タンパク質の機能に重要であろう。異なる宿主細胞は、タンパク質及び遺伝子生成物の翻訳後処理及び変形に対する特異的なメカニズムを有する。発現した外来タンパク質の正確な変形及び処理を保障し得る適切な細胞株又は宿主システムが選択され得る。そのために、遺伝子生成物の1次転写体、グリコシル化及びリン酸化の適切な処理のための細胞機構を持つ真核生物宿主細胞が使用され得る。このような哺乳類宿主細胞の限定されない例は、CHO、VERO、BHK、HeLa、MDCK、HEK293、NIH3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20及びT47D、NSO（任意の免疫グロブリン鎖を内因性生成しないミューリン骨髄腫細胞株）、CRL7030、COS（例えば、COS1又はCOS）、PER.C6、VERO、HsS78Bst、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20、BMT10及びHsS78Bst細胞を含む。特定の具体例において、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体は、哺乳類細胞、例えばCHO細胞で生成される。

【0328】

特定の具体例において、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分は、減少されたフコース含有量を有する、又はフコース含有量を有しない。このような抗体は、当業者に公知の技術を用いて生成され得る。例えば、抗体はフコシル化能力に欠陥がある、又はフコシル化能力を欠如した細胞で発現し得る。特定例において、1,6-フコシルトランスフェラーゼの2つの対立形質がロックアウトされた細胞株が、減少されたフコース含有量を持つ抗体又はその抗原結合部分を生成するために使用され得る。減少されたフコース含有量を持つ抗体又はその抗原結合部分を生成するために使用し得るこのようなシステムの一例は、POTELLI GENT（登録商標）システム（Lonza）である。

【0329】

組換えタンパク質の長期的高収率を得るために、安定した発現細胞が生成され得る。例えば、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分を安定的に発現する細胞株が遺伝操作され得る。特定の具体例において、本明細書に提示された細胞は、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分を形成するために会合する軽鎖/軽鎖可変ドメインと重鎖/重鎖可変ドメインを安定的に発現する。

【0330】

特定の態様において、ウイルス複製起源を含む発現ベクターを使用するのではなく、宿主細胞は適切な発現制御要素（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位など）及び選択性マーカーによって制御されるDNAで形質転換され得る。外来DNA/ポリヌクレオチドの導入後、遺伝操作された細胞は、濃縮した培地で1~2日間成長でき、次に選択性培地に転換される。組換えプラスミドの選択性マーカーは、選択に対する耐性を付与し、細胞が染色体にプラスミドを安定的に統合及び成長して焦点（foci）を形成するようにし、これは順次に細胞株にクローニングされ拡張され得る。この方法は、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体又はその抗体結合部分を発現する細胞株を遺伝操作するのに有益に使用され得る。このような遺伝操作された細胞株は、抗体分子と直接又は間接的に相互作用する組成物のスクリーニング及び評価に特に有用であり得る。

【0331】

多数の選択システムを使用することができ、限定されない例として、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Wigler Met al, (1977) Cell 11(1): 223-32）、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Szybalska EH & Szybalski W (1962) PNAS 48(12): 2026-2034）及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Lowy I et al, (1980) Cell 22(3): 817-23）遺伝子がそれぞれ tk-、hgprt-又はaprt-細胞において利用され得る。また、抗代謝物質耐性を次の遺伝子に対する選択の基礎として使用することができる：dhfr（メトトレキサ

10

20

30

40

50

ートに対する耐性を付与する) (Wigler M et al, (1980) PNAS 77(6): 3567-70; O'Hare K et al, (1981) PNAS 78: 1527-31); gpt (ミコフェノール酸に対する耐性を付与する) (Mulligan RC & Berg P (1981) PNAS 78(4): 2072-6); neo (アミノグリコシド G-418 に対する耐性を付与する) (Wu GY & Wu CH (1991) Biotherapy 3: 87-95; Tolstoshev P (1993) Ann Rev Pharmacol Toxicol 32: 573-596; Mulligan RC (1993) Science 260: 926-932; 及び Morgan RA & Anderson WF (1993) Ann Rev Biochem 62: 191-217; Nabel GJ & Feigner P L (1993) Trends Biotechnol 11(5): 211-5); 及び hygromycin (ハイグロマイシンに対する耐性を付与する) (Santerre RF et al, (1984) Gene 30(1-3): 147-56)。組換え DNA 技術の分野における公知の方法を、所望の組換えクローンを選択するために慣例的に適用することができ、このような方法は、例えば、Ausubel FM et al, (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler M, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); Chapters 12, 13, Dracopoli NC et al, (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994); Colbere-Garapin F et al, (1981) J Mol Biol 150: 1-14 に記載され、これらはその全体が参考として本明細書に組み込まれる。

【0332】

抗体分子の発現レベルはベクター増幅によって増加し得る (Bebbington C R & Hentschel CCG, DNA クローニングで哺乳類細胞においてクローニングされた遺伝子の発現のための遺伝子増幅に基づくベクターの使用、Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987) 参照)。抗体を発現するベクターシステムのマーカーが増幅可能な場合、宿主細胞の培養物に存在する抑制剤レベルの増加は、マーカー遺伝子のコピー数を増加させるはずであろう。増幅された領域が抗体遺伝子と関連することから、抗体の生成も増加するはずであろう (Crouse GF et al., (1983) Mol Cell Biol 3: 257-66 参照)。

【0333】

宿主細胞は、本明細書に提示された 2 つ以上の発現ベクター、すなわち重鎖由来ポリペプチドを暗号化する第 1 ベクター及び軽鎖由来ポリペプチドを暗号化する第 2 ベクターで共トランスフェクションされ得る。両ベクターは、重鎖及び軽鎖ポリペプチドの同等な発現を可能にする同一の選択性マーカーを含み得る。宿主細胞は 2 つ以上の発現ベクターの異なる量で共トランスフェクションされ得る。例えば、宿主細胞は、第 1 発現ベクター及び第 2 発現ベクターの比率 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:12、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:45、又は 1:50 のいずれか一つでトランスフェクションされ得る。

【0334】

または、重鎖及び軽鎖ポリペプチドを全て暗号化し発現し得る単一ベクターが使用され得る。軽鎖は、毒性のない重鎖の過量を避けるために重鎖の前に位置しなければならない (Proudfoot NJ (1986) Nature 322: 562-565; 及び Kohler G (1980) PNAS 77: 2197-2199)。重鎖及び軽鎖のコーディング配列は、cDNA 又はゲノム DNA を含むことができる。発現ベクターは、モノシストロン性又はマルチシストロン性でよい。マルチシストロン性の核酸構成物は、

2、3、4、5、6、7、8、9、10又はそれ以上、又は2～5、5～10又は10～20範囲の遺伝子/ヌクレオチド配列を暗号化できる。例えば、バイシストロン性核酸構成物は、プロモーター、第1遺伝子(例えば、本明細書に提示された抗体の重鎖)及び第2遺伝子(例えば、本明細書に提示された抗体の軽鎖)の順に含み得る。このような発現ベクターにおいて、両遺伝子の転写はプロモーターによって誘導され、第1遺伝子からmRNAの翻訳はキャップ依存性スキャニングメカニズムによってなされ、第2遺伝子からmRNAの翻訳はキャップ独立メカニズム、例えばIRESによってなされ得る。

【0335】

本明細書に提示された抗体分子が組換え発現によって生成されると、免疫グロブリン分子の精製のために当業界における公知の任意の方法によって、例えばクロマトグラフィー(例えば、イオン交換、親和性、特にタンパク質A後特定抗原に対する親和性、及びサイズ分類カラムクロマトグラフィー)、遠心分離、示差溶解度、又はタンパク質の精製のための任意の他の標準技術によって精製され得る。また、本明細書に提示された抗体は、本明細書に開示された異種性ポリペプチド配列に融合され得るか、又は精製を促進するための当業界における公知の他の方式が適用され得る。

10

【0336】

特定の具体例において、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分は、分離又は精製される。一般に、分離された抗体は、分離された抗体以外の他の抗原特異性を持つ他の抗体が実質的にないものである。例えば、特定の具体例において、本明細書に提示された抗体の作製物は、細胞物質及び/又は化学前駆体を実質的にない。語句“細胞物質が実質的にない”ものは、抗体が分離又は組換え生成された細胞の細胞成分から抗体が分離された抗体の作製物を含む。したがって、細胞物質が実質的にない抗体は、異種性タンパク質(又は、汚染タンパク質)及び/又は抗体の変異体、例えば抗体の異なる翻訳後変形された形態又は抗体(又は、抗体結合部分)の他の異なるバージョンを約30%、20%、10%、5%、2%、1%、0.5%、又は0.1%(乾燥重量基準)未満で持つ抗体の作製物を含む。抗体が組換え生成された時、一般的に培養培地を実質的に持たず、すなわち、培養培地がタンパク質作製物の体積の約20%未満、10%未満、2%、1%、0.5%、又は0.1%未満である。抗体が化学合成によって生成された時、一般的に化学前駆体や他の化学物質を実質的に持たず、すなわち、タンパク質の合成に伴う化学前駆体や他の化学物質から分離される。したがって、抗体のこのような作製物は、関心抗体以外の他の化学前駆体又は化合物を約30%、20%、10%、又は5%(乾燥重量基準)未満で持つ。特定の具体例において、本明細書に提示された抗体は分離又は精製される。

20

30

【0337】

VIII. 分析

本明細書に提示された抗体は、例えば、標準ELISAによってFAM19A5に対する結合に対して試験され得る。マイクロタイタープレートが、PBS中に1～2µg/mlで精製されたFAM19A5でコーティングされ、続いて、PBS中の5%ウシ血清アルブミンで遮断される。抗体希釈物(例えば、FAM19A5-免疫化されたマウスからの血漿の希釈物)が各ウェルに添加され、37℃で1～2時間インキュベーションされる。PBS/Tweenでプレートが洗浄され、続いて、37℃で1時間セイウワサビエルオキシダーゼ(HRP)にコンジュゲートされた2次試薬(例えば、ヒト抗体に対して、ヤギ-抗ヒトIgG Fc-特異的多クローン性試薬)と共にインキュベーションされる。洗浄後、プレートがABTS基質(Moss Inc, product: ABTS-1000)で展開され、OD₄₁₅～₄₉₅で分光光度計によって分析される。次に、免疫化されたマウスからの血清が、ヒトFAM19A5を発現する細胞株に対する結合に対してフローサイトメトリー法によってさらにスクリーニングされ、このとき、FAM19A5を発現しない対照群細胞株は結合されない。FAM19A5発現CHO細胞と抗FAM19A5抗体を1:20希釈で共にインキュベーションすることによって抗FAM19A5抗体の結合が評価される。細胞は洗浄され、結合がPE-標識された抗ヒトIgG Abで検出される。フローサイトメトリー分析がFACSscanフローサイトメトリー

40

50

機によって行われる (B e c t o n D i c k i n s o n , S a n J o s e , C A) 。
好ましくは、最高の力価を発生させたマウスが融合に使用されるであろう。

【 0 3 3 8 】

前述した E L I S A 分析は、 F A M 1 9 A 5 免疫原との陽性反応性を表す抗体及び抗体を生成するハイブリドーマをスクリーニングするために使用され得る。次に、 F A M 1 9 A 5 に対して、好ましく高い親和性で結合する抗体を生成するハイブリドーマがサブクローニングされ、より特性化される。次に、親細胞の反応性を保有した各ハイブリドーマからの一つのクローンが細胞銀行を作り且つ抗体を精製するために選択され得る (E L I S A によって) 。

【 0 3 3 9 】

抗 F A M 1 9 A 5 抗体を精製するために、選択されたハイブリドーマが単クローン性抗体精製のための 2 L スピナーフラスコで成長され得る。上清液はタンパク質 A - セファロース親和性クロマトグラフィー (P h a r m a c i a , P i s c a t a w a y , N J) に先立って過及び濃縮され得る。純度を保障するために溶出された I g G は、ゲル電気泳動及び高性能液体クロマトグラフィーによって検査され得る。バッファ溶液が P B S に交換されてもよく、濃度は、 1 . 4 3 吸光係数を用いて O D 2 8 0 によって決定され得る。単クローン性抗体はアリコートされ、 - 8 0 に保管され得る。

【 0 3 4 0 】

選択された抗 F A M 1 9 A 5 単クローン性抗体が独特のエピトープに結合するか否かを決定するために、各抗体は、商業的に利用可能な試薬 (P i e r c e , R o c k f o r d , I L) を用いてビオチン化し得る。ビオチン化された M A b 結合は、ストレプトアビジン標識されたプローブで検出され得る。未標識単クローン性抗体とビオチン化された単クローン性抗体を用いた競合研究は、前述のとおり、 F A M 1 9 A 5 - コーティングされた E L I S A プレートを用いて行うことができる。

【 0 3 4 1 】

精製された抗体のイソタイプを決定するために、特定イソタイプの抗体に特異的な試薬を用いてイソタイプ E L I S A を行うことができる。例えば、ヒト単クローン性抗体のイソタイプを決定するために、マイクロタイタープレートのウェル 4 で一晚抗ヒト免疫グロブリン 1 μ g / m L でコーティングされ得る。 1 % B S A で遮断後、 1 ~ 2 時間周辺温度でプレートが試験単クローン性抗体又は精製されたイソタイプ対照群 1 μ g / m L 以下と反応する。次に、ウェルはヒト I g G 1 又はヒト I g M - 特異的アルカリ性フォスファターゼ - コンジュゲートされたプローブと反応し得る。プレートは、前述のとおり、展開され分析される。

【 0 3 4 2 】

F A M 1 9 A 5 を発現する生きている細胞に対する単クローン性抗体の結合を試験するために、実施例に記載されたとおり、フローサイトメトリー法を用いることができる。膜結合された F A M 1 9 A 5 を発現する細胞株 (標準成長条件下に成長) が 0 . 1 % B S A を含有する P B S 中の様々な濃度の単クローン性抗体と 1 時間 4 で混合される。洗浄後、細胞は、 1 次抗体染色と同じ条件下に、フルオレセイン標識抗 I g G 抗体と反応する。サンプルは、単一細胞上で扉を開閉する (g a t e) ライトアンドサイドスキャット特性を用いる F A C S c a n 機器によって分析でき、標識された抗体の結合が測定される。フローサイトメトリー分析に加えて又は代えて蛍光顕微鏡を使用する他の分析も可能である。細胞は、前述のとおり、正確に染色され、蛍光顕微鏡によって検査され得る。この方法は、個別細胞の視角化を許容するが、抗原の密度によっては低下した感度を有し得る。

【 0 3 4 3 】

抗 F A M 1 9 A 5 抗体を、ウェスタンブロッティングによって F A M 1 9 A 5 抗原との反応性に対してさらに試験することができる。 F A M 1 9 A 5 を発現する細胞からの細胞抽出物を作製でき、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動を行うことができる。電気泳動後、分離された抗原は、ニトロセルロース膜に伝達され、 2 0 % マウス血清で遮断され、試験される単クローン性抗体で探針されるであろう。 I g G 結合は、

10

20

30

40

50

抗IgGアルカリ性フォスファターゼを用いて検出し、BCIP/NBT基質錠剤(Sigma Chem. Co., St. Louis, MO)で展開することができる。

【0344】

様々な抗FAM19A5抗体の結合親和性、交差反応性及び結合動力学を分析するための方法は、当業界に公知である標準分析、例えば、BIACORE(商標)2000SPR機器(Biacore AB, Uppsala, Sweden)を用いたBIACORE(商標)表面プラズモン共鳴(SPR)分析を含む。

【0345】

一具体例において、抗体は、ヒトFAM19A5の可溶性形態に特異的に結合する。一具体例において、抗体は、ヒトFAM19A5の膜結合された形態に特異的に結合する。抗体はFAM19A5の特定エピトープ(例えば、SEQ ID NO:2又はSEQ ID NO:2内の断片)に特異的に結合し得る。特定の具体例において、抗体は、好ましくは、高い親和性でヒトFAM19A5に特異的に結合し、タンパク質のFAM19サブファミリーの他のメンバーとは交差反応しない。

10

【0346】

IX. 二重特異的分子

本明細書に提示された抗体を、二重特異的分子を形成するために使用することができる。抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分は、他の機能的分子、例えば他のペプチド又はタンパク質(例えば、他の抗体又は受容体のリガンド)に誘導体化又は結合され、これによって、少なくとも2つの異なる結合部位又は標的分子に結合する二重特異的分子が生成される。IL-6、CNTF、LIF、EGF及びTGF α のようなサイトカインは、タンパク質信号トランスデューサ又は転写3の活性因子(STAT3)を活性化することによって、神経膠症及び/又は反応性神経膠症の開始のトリガーとしてかわり(Balasingam et al, J. Neurosci. 14(2):846-56(1994); Winter et al, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 20;92(13):5865-9(1995)参照)、次いで、CNS傷害後、多くの態様の反応性星状細胞症を調節する(Herrmann J. E. et al, J. Neurosci. 28(28):7231-7243(2008)参照)。例えば、STAT3の不在や減少は、神経膠線維酸性タンパク質(GFAP)の弱化した上方調節、星状細胞肥大の失敗、及び炎症の増加した伝搬、増加した病巣容積及びCNS傷害後に部分的に弱化した運動回復を招く(Herrmann J. E. et al, J. Neurosci. 28(28):7231-7243(2008)参照)。したがって、抗FAM19A5抗体は、組合せ治療のために神経膠症の開始及び/又は反応性星状細胞症の過度な増殖を抑制するのに伴う任意のタンパク質に特異的に結合する抗体又はscFvに、例えばIL-6、CNTF、LIF、EGF又はTGF α に対する抗体に結合され得る。

20

30

【0347】

また、抗FAM19A5抗体は、対象の中樞神経系損傷(例えば、外傷性脳傷害、脳脊髄損傷、脳卒中又は脳腫瘍)、脳脊髄系損傷、退行性脳障害(例えば、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、多発性硬化症、ALS)、退行性脳脊髄及び神経障害、又は神経病症性疼痛を含む疾患又は障害(下記の第XII章に記載された疾患又は障害を参照)を治療する抗体又はscFvに結合され得る。例えば、抗FAM19A5抗体は、多発性硬化症を治療する抗体又はscFv、例えばナタリズマブ(TYSABRI(登録商標))、アレムツズマブ(LEMTRADA(登録商標))に結合され得る。

40

【0348】

本明細書に提示された抗体は、実際に3つ以上の異なる結合部位及び/又は標的分子に結合する多重特異的分子を生成するために、2個以上の他の機能的分子に誘導体化又は結合され得る。このような多重特異的分子も“二重特異的分子”に含まれる。本明細書に提示された二重特異的分子を生成するために、本明細書に提示された抗体は、一つ以上の他の結合分子、例えば、他の抗体、その抗体結合部分、ペプチド又は結合模倣体に機能的に

50

連結され（例えば、化学カップリング、遺伝子融合、非共有会合又は他の方式によって）、これによって二重特異的分子が得られる。一具体例において、二重特異的分子はFAM19A5及びVEGFに結合する。他の具体例において、二重特異的分子はFAM19A5及びEGFに結合する。

【0349】

したがって、FAM19A5に対する少なくとも一つの第1結合特異性及び第2標的エピトープに対する第2結合特異性を含む二重特異的分子が、本明細書に開示される。二重特異的分子が多重特異性である一具体例において、分子は第3結合特異性をさらに含むことができる。

【0350】

一具体例において、本明細書に提示された二重特異的分子は結合特異性として、例えばFab、Fab'、F(ab')₂、Fv、又は単鎖Fv(scFv)を含む少なくとも一つの抗体又はその抗体結合部分を含む。抗体はまた、軽鎖又は重鎖ダイマー、又はその任意の最小断片、例えばLadner et al、米国特許第4,946,778号に記載されたFv又は単鎖構成物でよく、その内容は参考として本明細書に組み込まれる。

【0351】

ヒト単クローン性抗体が好ましいが、本明細書に提示された二重特異的分子に利用可能な他の抗体は、ミュリン、キメラ及びヒト化単クローン性抗体である。

【0352】

本明細書に提示された二重特異的分子は、当業界における公知の方法を用いて構成結合特異性をコンジュゲートすることによって作製され得る。例えば、二重特異的分子の各結合特異性は個別的に生成された後、互いにコンジュゲートされ得る。結合特異性がタンパク質又はペプチドである時、様々なカップリング剤又は架橋剤が共有コンジュゲーションに使用され得る。架橋剤の例は、タンパク質A、カルボジイミド、N-サクシニミジル-S-アセチル-チオ酢酸(SATA)、5,5'-ジチオビス(2-ニトロベンゾ酸)(DTNB)、o-フェニレンジマレイミド(oPDM)、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPDP)及びスルホスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(スルホ-SMCC)を含む(例えば、Karpovskiy et al, (1984) J. Exp. Med. 160:1686; Liu, MA et al, (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648参照)。他の方法は、Paulus (1985) Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132; Brennan et al, (1985) Science 229:81-83)、及びGlennie et al., (1987) J. Immunol. 139:2367-2375)に記載されたものを含む。好ましいコンジュゲーション製剤はSATA及びスルホ-SMCCであり、これらはいずれもPierce Chemical Co. (Rockford, IL)から購入可能である。

【0353】

結合特異性が抗体である時、これらは2個の重鎖のC末端ヒンジ領域のスルフヒドリル結合を通じてコンジュゲートされ得る。特に、好ましい具体例において、ヒンジ領域は、奇数個のスルフヒドリル残基、好ましくは1個の残基を含有するようにコンジュゲーション前に変形される。

【0354】

また、両結合特異性が同一であるベクターで暗号化され、同一の宿主細胞で発現及び組立てされ得る。この方法は、二重特異的分子がamAb x mAb、mAb x Fab、mAb x (scFv)₂、Fab x F(ab')₂又はリガンド x Fab融合タンパク質である場合に特に有用である。二重特異的抗体は、各重鎖のC末端にscFvを含む抗体を含むことができる。本明細書に提示された二重特異的分子は、単鎖抗体と結合決定基を含む単鎖分子、又は2個の結合決定基を含む単鎖二重特異的分子でよい。二重特異的分子は少なくとも2個の単鎖分子を含むことができる。二重特異的分子を作製

10

20

30

40

50

する方法は、例えば、米国特許第 5, 260, 203 号；米国特許第 5, 455, 030 号；米国特許第 4, 881, 175 号；米国特許第 5, 132, 405 号；米国特許第 5, 091, 513 号；米国特許第 5, 476, 786 号；米国特許第 5, 013, 653 号；米国特許第 5, 258, 498 号；及び米国特許第 5, 482, 858 号に記載されている。

【0355】

二重特異的分子の特異的標的に対する結合は、当業界における公知の方法、例えば酵素結合免疫吸着分析 (ELISA)、放射性免疫分析 (RIA)、FACS 分析、バイオアッセイ (例えば、成長抑制)、又はウェスタンブロット分析を用いて確認され得る。これらの分析はそれぞれ一般に、関心複合体に特異的な標識された試薬 (例えば、抗体) を利用することによって特定の関心タンパク質 - 抗体複合体を検出する。

10

【0356】

X. 診断

一具体例において、抗 FAM19A5 抗体に付着される部分は、結合部分、標識化部分及び生物学的活性部分で構成された群から選ばれる。

【0357】

本明細書に提示された抗体は、サンプル試験及び生体内映像化を含む診断目的のために使用でき、この目的のために抗体 (又は、その結合部分) は適切な検出可能な製剤にコンジュゲートされることによって免疫コンジュゲートを形成することができる。診断目的のために、適切な製剤は、放射性同位元素を含む検出可能な標識であり、全身映像化のための適切な製剤は、放射性同位元素、酵素、蛍光標識及びサンプル試験のための他の適切な抗体タグである。

20

【0358】

検出可能な標識は、試験管内診断分野において現在使用される様々な種類のいずれかのものによく、コロイド状金のような金属ゾルを含む微粒子標識、例えば、N2S2、N3S 又は N4 タイプのペプチドキレート化剤と共に提示される I^{125} 又は Tc^{99} のような同位元素、蛍光マーカー、発光マーカー、リン光マーカーなどを含む発色団、又は与えられた基質を検出可能なマーカーに転換する酵素標識、及び重合酵素連鎖反応のような増幅後に表れるポリヌクレオチドタグを含む。適切な酵素標識は、セイヨウワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性フォスファターゼなどを含む。例えば、標識は、1, 2 - ジオキセタン基質の転換後の化学発光の存在又は形成を測定することによって検出される、酵素アルカリ性フォスファターゼ、例えば、アダマンチルメトキシホスホリルオキシフェニルジオキセタン (AMPDP)、ジナトリウム 3 - (4 - (メトキシスピロ {1, 2 - ジオキセタン - 3, 2' - (5' - クロロ) トリシクロ {3.3.1.1.3, 7} デカン} - 4 - イル) フェニルホスフェート (CSPD) だけでなく、CDP 及び CDP - star 又は当業者における公知の他の発光基質、例えば、テルビウム (III) 及びユーロピウム (III) のような適切なランタン族元素のキレートでよい。検出手段は、選択された標識によって決定される。標識又はその反応生成物の出現は、標識が微粒子であり、適切なレベルで蓄積される場合には、肉眼を用いて、又は分光光度計、発光測定計、蛍光測定計などのような機器を用いて確認することができ、いずれも標準実施過程に従う。

30

40

【0359】

また、本明細書に提示された抗体は、抗体 - 薬物コンジュゲート (ADC) のような免疫コンジュゲートを形成するために治療剤にコンジュゲートされ得る。適切な治療剤は、神経膠症及び / 又は反応性星状細胞症の開始を調整し及び / 又は退行性脳障害、中枢神経系損傷、又は神経病理性疼痛を治療する製剤を含む。退行性脳障害を治療するための治療剤は、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、多発性硬化症及び筋萎縮性側索硬化症 (ALS) を治療する薬物を含む。治療剤は、このような退行性脳障害を治療するために通常使われる薬物、例えば第 XII 章に開示された薬物を含む。

【0360】

免疫コンジュゲートは、当業界における公知の方法によって作製され得る。好ましくは

50

、コンジュゲーション方法は実質的に（又は、ほとんど）非免疫原性である結合、例えばペプチド - （すなわち、アミド - ）、スルフィド - 、ジスルフィド - 、ヒドラゾン - 及びエーテル結合をもたらす。これらの結合はほとんど非免疫原性であり、血清内で適切な安定性を表す（例えば、Senter, P. D., Curr. Opin. Chem. Biol. 13 (2009) 235 - 244; WO2009/059278; WO95/17886 参照）。

【0361】

モイエティ及び抗体の生化学的性質によって、異なるコンジュゲーション戦略が利用され得る。モイエティが自然的に発生、又は50～500個のアミノ酸の組換え体である場合、タンパク質コンジュゲート合成の標準過程は文献に記載されており、当業者にはそれが容易に再現できる（例えば、Hackenberger, C. P. R., and Schwarzer, D., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 47 (2008) 10030 - 10074 参照）。一具体例において、抗体又はモイエティ内のシステイン残基とマレインイミドモイエティの反応が使用される。これは、抗体のFab又はFab' - 断片が使用される場合に特に好適なカップリング化学である。また、一具体例において、抗体又はモイエティのC末端とのカップリングが行われる。タンパク質、例えばFab - 断片のC末端変形は、例えば文献（Sunbul, M. and Yin, J., Org. Biomol. Chem. 7 (2009) 3361 - 3371）に記載されたとおりに行われ得る。

10

【0362】

一般に、部位特異的反応及び共有カップリングは、他の官能基の反応性に直交する反応性を持つアミノ酸に天然アミノ酸を変形することに基づく。例えば、まれな配列内容中の特定のシステインはアルデヒドに酵素的に転換され得る（Frese, M. A., 及びDierks, T., ChemBioChem. 10 (2009) 425 - 427 参照）。また、与えられた配列内容において天然アミノ酸と特定酵素の特異的酵素反応性を利用することによって、所望のアミノ酸変形を得ることが可能である（例えば、Taki, M. et al., Prot. Eng. Des. Sel. 17 (2004) 119 - 126; Gautier, A. et al., Chem. Biol. 15 (2008) 128 - 136; 及びProtease-catalyzed formation of C-N bonds is used by Bordusa, F., Highlights in Bioorganic Chemistry (2004) 389 - 403 参照）。

20

30

【0363】

部位特異的反応及び共有カップリングはまた、適切な変形試薬と末端アミノ酸の選択的反応によって達成され得る。N末端システインとベンゾニトリルの反応性が、部位特異的共有カップリングを達成するために使用され得る（Ren, H. et al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 48 (2009) 9658 - 9662 参照）。自生的化学ライゲーションもC末端システイン残基に依存し得る（Taylor, E. Vogel; Imperiali, B., Nucleic Acids and Molecular Biology (2009), 22 (Protein Engineering), 65 - 96 参照）。

40

【0364】

EP1074563は、正に帯電したアミノ酸のストレッチに位置したシステインと負に帯電したアミノ酸のストレッチ内のシステインの速い反応に基づくコンジュゲーション方法を開示する。

【0365】

モイエティはまた、合成ペプチド又はペプチド模倣体でよい。ポリペプチドが化学的に合成される場合、直交する化学反応性を持つアミノ酸がこのような合成中に統合され得る（例えば、de Graaf, A. J. et al., Bioconj. Chem. 20 (2009) 1281 - 1295 参照）。非常に様々な直交官能基が関連しており、合成ペプチドに導入され得るので、リンカーにこのようなペプチドのコンジュゲーションは

50

標準化学である。

【0366】

単一標識されたポリペプチドを得るために、1:1化学量論のコンジュゲートが他のコンジュゲーション副産物からクロマトグラフィーによって分離され得る。この過程は、染料標識された結合対構成員と帯電したリンカーを使用することによって促進され得る。電荷及び分子量の差異が分離に使用され得るので、標識され且つ高度に負に帯電した結合対構成員を使用することによって、単一コンジュゲートされたポリペプチドが非標識されたポリペプチド及び2つ以上のリンカーを持つポリペプチドから容易に分離される。蛍光染料は、標識された1価バインダーのような未結合成分から複合体を精製するのに有用であり得る。

10

【0367】

XI. 薬学組成物

生理的に許容される担体、賦形剤又は安定剤 (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA) 中に所望の程度の純度を持つ本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分を含む組成物が本明細書に開示される。許容される担体、賦形剤又は安定剤は、利用された投薬量及び濃度がレシピエントに非毒性であり、フォスフェート、シトレート及び他の有機酸のようなバッファ; アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤; 保存剤 (例えば、オクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム; 塩化ヘキサメトニウム; 塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム; フェノール、ブチル又はベンジルアルコール; アルキルパラベン、例えばメチル又はプロピルパラベン; カテコール; レゾルシノール; シクロヘキサノール; 3-ペンタノール; 及びm-クレゾール); 低分子量 (約10個残基未満) ポリペプチド; タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチン、又は免疫グロブリン; 親水性重合体、例えばポリビニルピロリドン; アミノ酸、例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、又はリシン; 単糖類、二糖類、及びグルコース、マンノース又はデキストリンを含む炭水化物; EDTAのようなキレート化剤; スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトールのような糖; ナトリウムのような塩-形成カウンターイオン; 金属複合体 (例えば、Zn-タンパク質複合体); 及び/又は非-イオン性界面活性剤、例えば、TWEEN (登録商標)、PLURONICS (登録商標) 又はポリエチレングリコール (PEG) を含む。

20

30

【0368】

特定の具体例において、薬学組成物は、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、及び選択的に一つ以上の追加の予防剤又は治療剤を製薬学的に許容される担体中に含む。特定の具体例において、薬学組成物は、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分の有効量、及び選択的に一つ以上の追加の予防剤又は治療剤を製薬学的に許容される担体中に含む。一部の具体例において、抗体は、薬学組成物に含まれた唯一の活性成分である。本明細書に提示された薬学組成物は、FAM19A5活性を増進、誘導又は活性化し、中枢神経系損傷、退行性脳障害又は神経病症状性疼痛のような状態を治療するのに有用であり得る。

40

【0369】

非経口製剤に使用された製薬学的に許容される担体は、水性ビークル、非水性ビークル、抗菌剤、等張剤、バッファ、抗酸化剤、局所麻酔剤、懸濁及び分散剤、乳化剤、封鎖又はキレート化剤及び他の製薬学的に許容される物質を含む。水性非経口ビークルの例は、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、等張性デキストロース注射液、滅菌水注射液、デキストロース及び乳酸リンゲル注射液を含む。非水性非経口ビークルは、植物起源の固定油、綿実油、とうもろこし油、ごま油及びピーナッツ油を含む。静菌又は静真菌濃度で抗菌剤が多重容量容器に包装された非経口製剤に添加され、これらは、フェノール又はクレゾール、水銀含有物質、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチル及びプロピルp-ヒドロキシベンゾ酸エステル、チメロサル、塩化ベンザルコニウム及び塩化ベンゼトニウムを含む。等張剤は、塩化ナトリウム及びデキストロースを含む。バッファはフォ

50

スフェート及びシトレートを含む。抗酸化剤は硫酸水素ナトリウムを含む。局所麻酔剤は、プロカイン塩酸塩を含む。懸濁及び分散剤は、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース及びポリビニルピロリドンを含む。乳化剤は、ポリソルベート80（TWEEN（登録商標）80）を含む。金属イオンの封鎖又はキレート化剤は、EDTAを含む。製薬学的担体はまた、水混和性ビークルのためにエチルアルコール、ポリエチレングリコール及びプロピレングリコールを含み、pH調整のために水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸又は乳酸を含む。

【0370】

薬学組成物は、対象に投与する任意の経路に合わせて製剤化できる。投与経路の具体的な例は、鼻内、経口、非経口、脊椎腔内、脳室内、肺、皮下又は心室内経路を含む。また、皮下、筋肉内又は静脈内注射を特徴とする非経口投与が考慮される。注射剤は、液体溶液や懸濁液、注射前に溶液又は懸濁液になるのに適した固体形態として、又はエマルジョンとして従来の形態で作製され得る。注射剤、溶液及びエマルジョンはまた、一つ以上の賦形剤を含有する。適切な賦形剤は、例えば、水、食塩水、デキストロース、グリセロール又はエタノールである。また、投与される薬学組成物は、湿潤剤、乳化剤、pH緩衝剤、安定剤、溶解性増進剤、及び他の製剤、例えば酢酸ナトリウム、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミンオレアート及びシクロデキストリンのような非毒性補助物質を少量含有し得る。

10

【0371】

抗体の非経口投与用製剤は、使用直前に直ぐに注射可能な滅菌溶液、滅菌乾燥可溶性製品、例えば使用直前に直ぐに溶媒と組み合わせられ得る凍結乾燥粉末、例えば皮下注射用錠剤、使用直前に直ぐに注射可能な滅菌懸濁液、使用直前に直ぐにビークルと組み合わせられ得る滅菌乾燥不溶性製品及び滅菌エマルジョンを含む。溶液は、水性又は非水性でよい。

20

【0372】

静脈内投与される場合、適切な担体は、生理食塩水又はフォスフェート緩衝食塩水（PBS）、及び増粘剤及び可用化剤を含有する溶液、例えばグルコース、ポリエチレングリコール及びポリプロピレングリコール及びそれらの混合物を含む。

【0373】

抗体を含む局所混合物は、局所及び全身投与用として記述されたとおりに作製される。得られた混合物は、溶液、懸濁液、エマルジョンなどでよく、クリーム、ジェル、軟膏、エマルジョン、溶液、エリキシル、ローション、懸濁液、チンキ、ペースト、フォーム、エアロゾル、灌漑剤（Irrigations）、スプレー、坐薬、包帯、皮膚パッチ又は局所投与に適切な任意の他の製剤とされ得る。

30

【0374】

本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分は、例えば、吸入による局所適用のためのエアロゾルとして製剤化され得る（例えば、炎症性疾患、特に喘息の治療に有用なステロイドの送達のためのエアロゾルを説明する米国特許第4,044,126号、第4,414,209号及び第4,364,923号参照）。気道に投与するためのそれらの製剤は、エアロゾル又はネブライザー用溶液の形態、又は吸入剤用超微粒粉末でよく、単独で又はラクトースのような非活性担体と組み合わせて使用され得る。このような場合、製剤の粒子は、一具体例において50ミクロン未満、一具体例において10ミクロン未満の直径を有する。

40

【0375】

本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分は、局部又は局所適用のために、例えば皮膚及び粘膜に、例えば目への局所適用のために、ジェル、クリーム及びローションの形態で、及び目に適用又は髄槽内又は脊髄内適用のために製剤化され得る。局所投与は、経皮送達及び目又は粘膜投与用に、又は吸入治療療法用に考慮される。抗体単独又は他の製薬学的に許容される賦形剤と組み合わせられた点鼻液が再び投与され得る。

【0376】

イオン泳動及び電気泳動装置を含む経皮パッチが当業界に公知であり、これは抗体を投

50

与するのに使用され得る。例えば、このようなパッチは、米国特許第 6, 267, 983 号、第 6, 261, 595 号、第 6, 256, 533 号、第 6, 167, 301 号、第 6, 024, 975 号、第 6, 010, 715 号、第 5, 985, 317 号、第 5, 983, 134 号、第 5, 948, 433 号、及び第 5, 860, 957 号に開示されている。
【0377】

特定の具体例において、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分を含む薬学組成物は、凍結乾燥された粉末であり、溶液、エマルジョン及び他の混合物として投与するために復元され得る。また、薬学組成物は、固体又はジェルとして復元されて製剤化され得る。凍結乾燥された粉末は、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分、又はその製薬学的に許容される誘導体を適切な溶媒に溶解することによって作製される。一部の具体例において、凍結乾燥された粉末は滅菌粉末である。溶媒は、粉末又は粉末から作製された復元された溶液の安定性又は他の薬学的成分を改善する賦形剤を含有し得る。使用可能な賦形剤の限定されない例は、デキストロース、ソルビトール、フラクトース、とうもろこしシロップ、キシリトール、グリセリン、グルコース、スクロース又は他の適切な製剤を含む。また、溶媒は、中性 pH バッファ、例えばシトレート、ソジウム又はポタシウムフォスフェート又は当業界に公知の他のバッファを含有し得る。溶媒を後続滅菌ろ過した後、当業界に公知である標準条件下に凍結乾燥し、所望の製剤を得ることができる。一具体例において、得られた溶液は、凍結乾燥用バイアルに分配されるはずである。各バイアルは、化合物の単一投薬量又は多数投薬量を有するはずである。凍結乾燥された粉末は適切な条件下に、例えば約 4 ~ 室温で保管され得る。

10

20

【0378】

注射用水で凍結乾燥された粉末を復元させ、非経口投与用製剤を得ることができる。復元のために、凍結乾燥された粉末は滅菌水又は他の適切な担体に添加される。正確な量は、選択された化合物に従う。このような量は経験的に決定され得る。

【0379】

本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子、又は免疫コンジュゲート及び本明細書に提示された他の組成物はまた、治療される特定組織、受容体又は対象の身体他の領域に標的化されるように製剤化され得る。多くの標的化方法が当業界に公知である。このような標的化方法は、本発明の組成物に使用するために考慮される。標的化方法の限定されない例は、米国特許第 6, 316, 652 号、第 6, 274, 552 号、第 6, 271, 359 号、第 6, 253, 872 号、第 6, 139, 865 号、第 6, 131, 570 号、第 6, 120, 751 号、第 6, 071, 495 号、第 6, 060, 082 号、第 6, 048, 736 号、第 6, 039, 975 号、第 6, 004, 534 号、第 5, 985, 307 号、第 5, 972, 366 号、第 5, 900, 252 号、第 5, 840, 674 号、第 5, 759, 542、及び第 5, 709, 874 号を参照すればよい。特定の具体例において、本明細書に提示された抗体又はその抗原結合部分は、中枢神経系損傷、退行性脳障害、又は神経病症性疼痛を治療するように標的化される。

30

【0380】

生体内投与するために使用可能な組成物は滅菌され得る。滅菌は、例えば、滅菌ろ過膜を通したる過によって容易に達成される。

40

【0381】

XII. キット

本明細書に提示された一つ以上の抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子、又はその免疫コンジュゲートを含むキットが開示される。特定の具体例において、本明細書に提示された一つ以上の抗体又はその抗原結合部分のような、本明細書に提示された薬学組成物の成分のいずれかが一つ以上で満たされた一つ以上の容器、及び選択的な使用説明書を含む製薬学的パック又はキットが開示される。一部の具体例において、キットは、本明細書に提示された薬学組成物及び本明細書に提示された任意の予防剤又は治療剤を含有する。

【0382】

XIII. 治療的使用及び方法

50

一態様において、対象の CNS の傷害又は損傷を緩和するための方法が開示され、この方法は、対象に、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。

【 0 3 8 3 】

一具体例において、対象の神経膠症の始まり又は開始及び CNS に対するその関連する有害な効果を阻害、遅延、抑制、制限又は予防する方法が開示され、この方法は、対象に、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。一具体例において、対象の反応性星状細胞の過度又は異常増殖及び CNS に対するその関連する有害な効果を阻害、遅延、抑制、制限又は予防する方法が開示され、この方法は、対象に、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。

10

【 0 3 8 4 】

一具体例において、対象のニューロカン、NG2 又はこれら両者のレベルを低下、阻害、減少させ、又はニューロカン、NG2 又はこれら両者の活性を減少させたり非活性にさせる方法が開示され、この方法は、対象に、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。一具体例において、対象において傷害又は損傷後にニューロンの成長を刺激、促進、増加又は活性化する方法が開示され、この方法は、対象に、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。一具体例において、対象において、好ましくはニューロンの核において c - f o s mRNA、c - f o s タンパク質、又は c - f o s タンパク質活性のレベルを増加させ、ERK mRNA、ERK タンパク質又は p E R K 活性を増加させる方法が開示され、この方法は、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。一具体例において、必要な対象において、好ましくは、ニューロンにおいて G A P 4 3 mRNA、G A P 4 3 タンパク質のレベルを増進又は増加させる、又は G A P 4 3 タンパク質の活性を増加させる方法が開示され、この方法は、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。一具体例において、対象のニューロンの生存を増進又は促進し及び / 又は軸索突起の再成長を促進する方法が開示され、この方法は、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。一具体例において、対象は、ヒト、例えば CNS 損傷、外傷、傷害、脳脊髄損傷、脳腫瘍、感染、虚血、脳卒中、自己免疫反応及び / 又は神経退行性疾患からニューロンの傷害又は損傷を持つヒトである。

20

30

【 0 3 8 5 】

一部の具体例において、対象の中樞神経系損傷、脳脊髄系損傷、退行性脳障害、退行性脳脊髄又は神経障害、又は神経病症性疼痛を含む疾患又は障害を治療する方法が開示され、この方法は、対象に、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。一具体例において、中樞神経系損傷は、外傷性脳傷害、脳脊髄損傷、脳卒中、脳腫瘍又はそれらの組合せである。一具体例において、退行性脳障害は、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症 (A L S) 又はそれらの組合せである。一具体例において、対象の外傷性脳傷害、脳脊髄損傷、脳卒中、脳腫瘍又はそれらの組合せを治療する方法が開示され、この方法は、対象に、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。一具体例において、対象のハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、多発性硬化症、A L S を治療する方法が開示され、この方法は、対象に、本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体又はその抗原結合部分、二

40

50

重特異的分子又は免疫コンジュゲート、又はその組成物を投与することを含む。好ましい具体例において、対象はヒトである。

【0386】

一部の具体例において、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲートの治療的有効量が投与される。対象（例えば、ヒト）を治療する時、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲートの治療的有効量は、年齢、性別、疾患の深刻度のような要因に従い、当業者（例えば、医師）によって決定され得る。典型的に、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲートは、一日0.01 μ g~1000mgの容量で投与される。本明細書に提示された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲートは、疾患又は障害の症状及び深刻度によって一日1回、2回、又はそれ以上の回数で投与され得る。

10

【0387】

一部の具体例において、本明細書に提示された抗FAM19A5抗体又はその抗原結合部分、二重特異的分子又は免疫コンジュゲート又はその組成物は、静脈内、経口、非経口、脊椎腔内、脳室内、肺、皮下又は心室内経路で投与される。

【0388】

一部の具体例において、抗FAM19A5抗体又はその抗原結合分子、又はその組成物は、中枢神経系損傷（例えば、外傷性脳傷害、脳脊髄損傷、脳卒中又は脳腫瘍）、脳脊髄系損傷、退行性脳障害（例えば、ハンチントン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、多発性硬化症、ALS）、退行性脳脊髄又は神経障害、又は神経病症性疼痛を治療するための一つ以上の追加の製剤と共に投与され得る。例えば、ハンチントン病を治療するための限定されない例示的な製剤は、テトラベナジン（XENAZINE（登録商標））、抗精神病薬、例えばハロペリドール（HALDOL（登録商標））、クロルプロマジン、リスペリドン（RISPERDAL（登録商標））及びクエチアピン（SEROQUEL（登録商標））を含む。

20

【0389】

パーキンソン病を治療するための限定されない例示的な製剤は、レボドパ（カルビドパと共に又はカルビドパ無しで）（LODOSYN（登録商標））、ドパミン作用剤、例えばプラミペキソール（MIRAPEX（登録商標））、ロピニロール（REQUIP（登録商標））、及びロチゴチン（NEUPRO（登録商標））、及びアポモルヒネ（APOKYN（登録商標））、セレギリン（ELDEPRYL（登録商標））、ZELAPAR（登録商標）、ラサギリン（AZILECT（登録商標））、エンタカボン（COMTAN（登録商標））、ベンズトロピン（COGENTIN（登録商標））、トリヘキシフェニジル、及びアマンタジンを含む。

30

【0390】

アルツハイマー病を治療するための限定されない例示的な製剤は、ドネペジル（ARICEPT（登録商標））、ガラントミン（RAZADYNE（登録商標））、及びリバスチグミン（EXELON（登録商標））を含む。

40

【0391】

多発性硬化症を治療するための限定されない例示的な製剤は、グラチラマーアセテート（COPAXONE（登録商標））、フマル酸ジメチル（TECFIDERA（登録商標））、フィンゴリモド（GILENYA（登録商標））、テリフルノミド（AUBAGIO（登録商標））、ナタリズマブ（TYSABRI（登録商標））、アレムツズマブ（LEMTRADA（登録商標））、及びミトキサントロン（NOVANTRONE（登録商標））を含む。

【0392】

ALSを治療するための限定されない例示的な製剤は、リルゾール（RILUTEK（登録商標））を含む。

50

【0393】

一つ以上の追加の治療薬物の容量及び投与は、当業界に公知されており、それは、例えばそれぞれの薬物の製品ラベルに記載される。

【0394】

実施例

以下の実施例は例示であり、これらに限定されない。

【0395】

実施例1：ヒトFAM19A5タンパク質の発現及び精製

組換えヒトFAM19A5タンパク質を下記の通りに作製及び精製し、精製されたタンパク質を結合親和性分析基礎抗体スクリーニング分析に使用した。まず、FAM19A5 遺伝子を発現するLPS-hTプラスミドをバクテリアに形質転換し、タンパク質過発現を誘導した。生成されたFAM19A5タンパク質は、Ni-NTA親和性クロマトグラフィー(Qiagen, Valencia, CA, USA)を使用して精製した。イミダゾールの濃度を順次に上げながらNi-コラムからHis-タグがついたFAM19A5タンパク質を除去した。溶液中のタンパク質発現は、Coomassie Brilliant Blue R-250染料を使用して測定した。FAM19A5イミダゾール含有溶液だけを取り、PBSを用いてFAM19A5タンパク質を濃縮した。濃縮が完了した時、FAM19A5タンパク質の純度及び濃度をウェスタンブロット分析を用いて測定した。次に、濃縮したタンパク質を用いてFAM19A5-特異的抗体をスクリーニングした。

10

20

【0396】

実施例2：抗体ライブラリーFAM19A5の生成

1. 免疫化

油中水エマルジョンアジュバント(RIBI+MPL+TDM+CWSアジュバント、Sigma, St. Louis, Mo, USA)を含有するTDW及びCWSの細胞壁成分を乳化した後、ニワトリ3匹又はウサギ4匹に皮下注射した。ニワトリ及びウサギをそれぞれ計3回及び4回、概略2~3週間隔で免疫化した。免疫化された動物から得られた抗体の力価を、FAM19A5タンパク質を過発現したHEK293T細胞の細胞溶解物を使用して免疫プロッティングによって測定した。

30

【0397】

2. 免疫化されたニワトリ及びウサギから単鎖可変断片(scFv)ライブラリーの生成

TRI試薬(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)を用いて、前記開示された免疫化されたニワトリの脾臓、骨髄及び滑液嚢(synovial sac)からRNAを抽出した。Oligo-dTプライマー及びSUPERSCRIPT(商標)III第一鎖合成システム(Invitrogen)を用いて第一鎖cDNAを合成した。動物の免疫系から得られたcDNAに対して、拡張型高忠実度(Expand High Fidelity)PCRシステム(Roche Molecular Systems, IN, USA)を用いて単鎖可変領域ライブラリーを生成した。各反応において、1µL cDNA、各プライマー60pmol、10µL 10x反応バッファ溶液、8µL 2.5mM dNTP(Promega, Madison, WI, USA)及び0.5µL Taq DNA重合酵素を水と混合した。最終体積は100µLだった。PCR反応は、次の条件で行われた：(i)94 で15秒、(ii)56 で30秒及び(iii)72 で90秒、その後、72 で10分間最終エクステンションの30サイクル。約350bpの長さを持つ断片を含むPCR生成物を1.5%アガロースゲルにローディングし電気泳動した後、QIAGEN Gel II抽出キット(QIAGEN, Valencia, CA, USA)を用いてヌクレオチド断片を精製した。精製されたPCR生成物をOD260nmで判読することによって定量した(1単位OD=50µg/ml)。

40

【0398】

50

2次PCRからの2個のVH及びVLの1次生成物をオーバーラップエクステンションPCR(Overlap extension PCR)によって無作為に連結した。各PCR反応は、100ngの精製されたVL及びVH生成物、各プライマー60pmol、10μL 10x反応バッファ、8μL 2.5mM dNTP、0.5μL Taq DNA重合酵素及び最終体積100μLになるように水と混合し、次の条件下にPCRを行った：(i)94 で15秒、(ii)56 で30秒及び(iii)72 で2分、その後72 で10分間最終エクステンションの25サイクル。約700bpの長さを持つ単鎖可変領域断片を含むPCR生成物を1.5%アガロースゲルにローディングし電気泳動した後、QIAGEN Gel EI抽出キット(QIAGEN)を用いてヌクレオチド断片を精製した。精製されたPCR生成物をOD260nmで判読することによって定量した(1単位OD=50μg/ml)。

10

【0399】

3. ライブラリー、ライゲーション及び形質転換

PCR生成物のscFv断片とベクターpComb3X-SS(The Scripps Research Institute CA, USA)をSfi I制限酵素で分解した。精製された重複PCT生成物10μgを360単位のSfi I(16単位当たりμgDNA、Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA, USA)、20μL 10x反応バッファ及び最終体積200μLになるように水と混合した。pComb3X-SSベクター20μgを120単位のSfi I(6単位当たりμgDNA)、20μL 10x反応バッファ溶液及び最終体積200μLになるように水と混合した。混合物を8時間50 で分解させた。その後、scFv断片(約700bp)とベクター(約3400bp)を含む分解された生成物を1%アガロースゲルにローディングし、Gel Extraction Kit EI QIAGEN(QIAGEN, Valencia, CA, USA)を用いて精製した。

20

【0400】

Sfi I-制限されたpComb3Xベクター1400ng及び分解されたscFv断片700ngを5xリガーゼバッファ、10μL T4 DNAリガーゼ(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)及び最終体積200μLになるように水と混合した。混合物を16時間16 でインキュベーションしてライゲーションを行った。

30

【0401】

エタノールで沈殿後、DNAペレットを水15μLに溶解させた。ライブラリーを生成するために、バイブレーター遺伝子(遺伝子パルサー:Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)を用いて電気穿孔によってライゲーションサンプルをイコリ菌株ER2738(New England Biolabs Inc, Hitchin, Hertfordshire, SG40TY, England, UK)に形質転換した。細胞を5ml SuperBroth(SB)培地で混合し、37 で1時間250rpmで撹拌しながらインキュベーションした。次に、100mg/mlカナマイシン3μLをSB培地100mLに添加した。ライブラリーサイズを決定するために、培養サンプル0.1μL、1μL及び10μLを、50μg/mlカナマイシンを含有するLuria Broth(LB)寒天プレート上に塗り付けた。1時間撹拌後、100mg/mlカナマイシン4.5μLをLB培養物に添加し、1時間さらに撹拌した。次に、VCM13ヘルパーフェージ水溶液2mL(>10¹¹cfu/ml)を、100mg/mlカナマイシン92.5μLを含有する予熱されたLB(183mL)と共にLB培地に添加した。この混合物を37 で250rpmで2時間さらに撹拌した。次に、カナマイシン280μL(50mg/ml)を培養物に添加し、37 で一晩撹拌した。翌日、バクテリアペレットを高速遠心分離機を用いて3,000g、4 で遠心分離した。その後、バクテリアペレットを用いてファージミドDNAを抽出し、上清液を滅菌遠心分離瓶に移した。次に、上清液にポリエチレングリコール-8000(PEG-8000, Sigma)8gと塩化ナトリウム(NaCl, Merck)6gを添加し、氷

40

50

で30分間維持させた。その後、上清液を15,000g、4で15分遠心分離した。次に、上清液を捨て、ファージペレット(1%BSAを含有するTris-再現)を緩衝食塩水(TBS)に懸濁させた。

【0402】

実施例3：固定された抗原に対するライブラリーバンニング(バイオバンニング)

磁気ビーズ(Dynabeads M-270エポキシ、Invitrogen)を用いてバイオバンニングを行った。室温で20時間ビーズとタンパク質を共に回転させながら攪拌し、概略 1×10^7 ビーズを組換えFAM19A5タンパク質5 μ gでコーティングした。コーティングが完了すると、ビーズをフォスフェート緩衝食塩水(PBS)で4回洗浄し、室温で3%BSAを含有するPBSで1時間遮断させた。次に、コーティングされたビーズを前述のファージディスプレイされたscFvと共に室温で2時間培養した。抗原コーティングされたビーズに結合されていないファージを除去するために、ビーズを0.05%Tween20/PBSで洗浄した。次に、結合されたファージは0.1Mグリシン/塩酸(0.1Mグリシン-HCl、pH2.2)50 μ Lで溶出し、塩化水素を持つ2MTris(tris-HCl、pH9.1)3 μ Lで中和させた。このファージ-含有上清液を用いて大腸菌ER2738細胞を感染させ、VCsM13ヘルパーファージを用いて一晚増幅させて救出した。また、50 μ g/mLカナマイシンを含有するLB寒天プレート上に、ファージ-感染された培養物をプロットングすることによって、ファージ-感染された培養物からファージ力価による投入(インプット)及び生成(アウトプット)を決定した。翌日、PEG-8000及びNaClを用いてファージを沈殿させ、次いでバイオバンニングに使用した。バイオバンニングは、上記過程を反復することによって最大計5回行われた。各増幅ごとにファージをスクリーニングし、FAM19A5タンパク質に対する高い親和性に対して選択した。

10

20

【0403】

実施例4：ファージELISAによるクローンの選択

バイオバンニングから選択されたクローンを分析するために、ファージディスプレイされたscFvから個別クローンを無作為に選択し、ELISAを用いてクローンがFAM19A5組換えタンパク質に結合するか否か確認した。FAM19A5組換えタンパク質を0.1MNaHCO₃バッファに希釈し、100ng/ウェルタンパク質を用いて、16時間4で96-ウェルマイクロタイタープレートをコーティングした。翌日、プレートを1時間37で3%BSA/PBSで遮断した。次に、ファージ上清液を6%BSA/PBSと混合し、37で2時間培養した。次に、上清液を含有するプレートを0.05%Tween-20/PBSで洗浄した。HRP-コンジュゲートされたM13抗体(a-M13-HRP, Pierce Chemical Co, Rockford, IL, USA)を1/5000で希釈した。希釈された抗体50 μ Lをプレートに添加し、37で1時間インキュベーションした。インキュベーション及び洗浄後、色展開のためにプレートに0.05Mクエン酸バッファ溶液、1 μ g/mL2,2'-アジノービス(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)(ABTS, Amresco, Solon, OH, USA)及び0.1%H₂O₂を添加した。各ウェルの吸光度を405nmで測定した。

30

40

【0404】

図1A~図1Cに示すように、FAM19A5組換えタンパク質に結合し、高い吸光度を示す免疫化されたニワトリから生成された24個のクローンを分析した。これら24個のクローンから独特の配列を持つ13個のscFvクローンを得た。免疫化されたウサギから生成されたクローンの場合(データ不図示)、174個のクローンが初めて確認され、これらの中で164個のクローンが配列化された。これらのクローンから最終的に22個の独特のscFv配列を得た。

【0405】

実施例5：抗FAM19A5-IGG2/4抗体の生成

1. 哺乳類発現ベクターに抗FAM19A5scFvのサブクローニング

50

FAM19A5 scFv 遺伝子配列においてヒト C_H2 遺伝子を軽鎖可変ドメインに連結し、C_H2、C_H2 及び C_H3 遺伝子のヒト免疫グロブリンイソタイプ IgG2/4 を重鎖可変領域に連結した。制限部位 (Genscript, USA) を添加することによって各軽鎖と各重鎖を持つ抗体を合成した。合成された遺伝子を、クローニングを促進するように変形された制限部位を持つ哺乳類細胞発現ベクターに挿入した。まず、軽鎖遺伝子を、Hind III 及び Xba I (New England Biolabs, UK) 制限酵素を用いてベクターに挿入した後、NheI 及び BamHI (New England Biolabs, UK) 制限酵素を用いて重鎖遺伝子をベクターに添加した (図 2)。

【0406】

2. 抗 FAM19A5 抗体の精製

抗 FAM19A5 - IgG2/4 抗体を発現し精製するために、哺乳類細胞トランスフェクション及び過発現注入システムを使用した。哺乳類発現ベクター 2 µg/mL とポリエチレンイミン (PEI, Polysciences, Warrington, PA, USA) 4 µg を、細胞培養物体積の 1/10 に該当する 150 mM 塩化ナトリウム (NaCl, Merck) において混合した。混合物を室温で 15 分放置した。混合物を HEK293F 細胞 (2 × 10⁶ 細胞/mL, Invitrogen) に添加し、次いで 7% CO₂ 及び 37 °C で 100 U/mL ペニシリン及びストレプトマイシン (Invitrogen) を含有する FREE STYLE (商標) 293 発現培養培地で 6 日間 135 rpm の攪拌条件下にてインキュベーションした。細胞培養上清液から発現した抗 FAM19A5 IgG2/4 抗体を精製するために、タンパク質 A ビーズ (Repligen, Waltham, MA, USA) 親和性ゲルクロマトグラフィーを使用した。タンパク質 A クロマトグラフィー精製された抗体に、4 ~ 12% Bis-Tris 勾配ゲル電気泳動を行った。タンパク質のサイズ及び収率を Coomassie Brilliant Blue 染色によって確認した (図 3)。

【0407】

実施例 6 : 抗 FAM19A5 - IGG2/4 抗体特異性の検証

タンパク質の FAM19A ファミリーを暗号化する遺伝子で安定的にトランスフェクションされた HEK293T 細胞を、50 mM Tris-HCl (pH 6.8)、2% SDS、10% グリセロール、100 mM メルカプトエタノール及びプロモフェノールブリンを含むバッファで細胞溶解させた。全細胞抽出物を SDS-ポリアクリルアミド (PAGE) ゲルで分解させ、Bio-Rad Trans-Blot 電気泳動装置 (Hercules, CA, USA) のニトロセルロースプロットング膜に伝達した。プロットを 0.3% Tween 20 及び 5% 脱脂乳を含む Tris-緩衝食塩水で遮断し、室温で 3 時間抗 FAM19A5 抗体と共にインキュベーションした。次に、これらを TBS/0.3% Tween 20 で 3 回洗浄した。次に、セイヨウワサビペルオキシダーゼ (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, USA) に結合された 2 次抗体と共にインキュベーションし、抗体結合を検出した。プロットを 3 回洗浄し、GE Healthcare ECL 試薬 (Buckinghamshire, UK) の適用後、0.5 分又は 10 分間 x-線フィルムに露出させ、免疫反応性バンドを視覚化した。その結果、抗 FAM19A5 抗体 1-65 が Flag-タグとコンジュゲートされた FAM19A5 タンパク質には特異的に結合するが、他の FAM19A サブファミリータンパク質には結合しないことを確認した (図 5A)。免疫細胞化学分析の場合、FAM19A-ファミリータンパク質を発現する HEK293 細胞を 4% PFA で固定した。次に、細胞を室温で 30 分間 PBS で 3% BSA 及び 0.1% Triton X-100 で遮断した。1 次抗体 (抗 FAM19A5 抗体 1-65) を 4 °C で一晩適用した。PBS で数回洗浄後、適切な 2 次抗体を 30 分間適用した。次に、細胞を洗浄し、蛍光顕微鏡や共焦点顕微鏡に装着して観察した (LSM700; Zeiss, Goettingen, Germany)。核を Hoechst 33342 で染色した。HEK293T で発現した His タグ FAM19A5 の免疫細胞化学分析

10

20

30

40

50

は、抗FAM19A5抗体1-65がHisタグとコンジュゲートされたFAM19A5タンパク質に特異的に結合することを示した(図5B、左パネル)。

【0408】

実施例7：FAM19A5エピトープ断片F1-F6を用いたエピトープマッピング分析

ヒトFAM19A5タンパク質の重複ペプチド断片(F1-F6、図9参照)を合成し、BSAにコンジュゲートした。ウェスタンブロット分析又はELISA分析によって、BSA-コンジュゲートされたペプチド断片F1-F6に対する異なる抗FAM19A5抗体の結合を確認した。ウェスタンブロット分析の場合、標準過程によってBSA-コンジュゲートされたFAM19A5断片F1-F6をSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離し、ニトロセルロース膜に伝達した。抗FAM19A5抗体(例えば、1-65、2 μ g/ml、1-65-scFv-ウサギFc-SSS)と共に膜をインキュベーションし、セイヨウワサビペルオキシダーゼとコンジュゲートされた適切な2次抗体(抗ウサギIgG(Fc特異的)-HRP、1:4000希釈)で抗原-抗体複合体を検出した。ELISA分析は次のプロトコルを使用した。FAM19A5断片F1-F6(50mMカーボネートバッファ(Biosesang)において1 μ g/mLに希釈又は高濃度分析のために20 μ g/mLに希釈)を用いて4 \times で一晩96-ウェル免疫プレート(Thermo Scientific)(100 μ L/ウェル)のウェルをコーティングした後、1 \times PBSで2回洗浄した。次に、プレートを室温で1時間遮断バッファ(100 μ L/ウェル)で遮断した。1時間インキュベーションする間、関連した抗FAM19A5抗体を希釈バッファに1 μ g/mL(又は高濃度分析のためには20 μ g/mL)に希釈した。プレートを洗浄した後(1 \times PBSを使用して2 \times)、希釈された抗FAM19A5抗体を適切なウェルに添加し、プレートを1時間室温でインキュベーションした。次に、プレートを洗浄バッファを使用して計5回洗浄した。次に、ODP基質(9mL滅菌脱イオン水と1mL 10 \times 安定したPeroxide Stableバッファ(Thermo)に1個のODP錠剤(O-フェニレンジアミン二塩酸塩、Thermo)を溶解して作製)を各ウェルに添加し、10分間色変化反応がおきるように置いた。ウェルに2N H₂SO₄(Daejung)100 μ Lを添加して反応を中断させた。96-ウェルマイクロプレートリーダー(Molecular Device)を用いて492nmで各ウェルの吸光度を検出した。

【0409】

図11及び図12Aに示すように、ウェスタンブロットとELISA分析によって測定されたところ、抗FAM19A5抗体1-65は断片F5に強く結合した。抗FAM19A5抗体P2-C12もまた、エピトープ断片F5には強く結合したが、他の断片(F1~F4及びF6)には有意に結合しなかった(図12B参照)。一方、抗FAM19A5抗体3-2は断片F5に結合しなかった。その代わりに、3-2抗体はエピトープ断片F2に強く結合し、他の断片には最小限で結合した(図12A参照)。この結果は、抗FAM19A5 1-28抗体に対しても同一だった(データ不図示)。しかし、他の抗体とは違い、抗FAM19A5抗体2-13はいずれのエピトープ断片にも結合しないことが確認された(図12A参照)。

【0410】

次に、1-65及びP2-C12抗体が結合するエピトープ断片F5内の特定のアミノ酸残基を確認するために、F5断片の異なるアミノ酸残基を、次の表9に表す通り、アラニンに置換した。突然変異された残基はボールド体及び下線で表示した。抗FAM19A5抗体の結合親和性は、前述のとおり、ELISA分析を用いて測定した。

【0411】

10

20

30

40

【表 9】

Mutant peptide (#)	Sequences
F5	SDMLPSLE <u>EGEGS</u> <u>DLLIN</u> RSG (SEQ ID NO: 125)
F5-1 (#1)	SDMLPSLEGE <u>A</u> SDLLINRSG (SEQ ID NO: 126)
F5-2 (#2)	SDMLPSLEGE <u>G</u> S <u>ALL</u> INRSG (SEQ ID NO: 127)
F5-3 (#3)	SDMLPSLEGE <u>G</u> S <u>DAL</u> INRSG (SEQ ID NO: 128)
F5-4 (#4)	SDMLPSLEGE <u>G</u> S <u>DLLA</u> NRSG (SEQ ID NO: 129)
F5-5 (#5)	SDMLPSL <u>A</u> GE <u>G</u> S <u>DLL</u> INRSG (SEQ ID NO: 130)
F5-6 (#6)	SDMLPSLE <u>G</u> <u>A</u> GS <u>DLL</u> INRSG (SEQ ID NO: 131)
F5-7 (#7)	SDMLPSLEGE <u>G</u> S <u>LLIA</u> RS (SEQ ID NO: 132)
F5-8 (#8)	SDMLPSLEGE <u>G</u> S <u>LLIN</u> <u>A</u> SG (SEQ ID NO: 133)

10

【0412】

二重下線：システインがペプチド合成過程において反応性であるので、反応性を減少させるためにセリンに置換された。セリンの構造がシステインに最も近いことからセリンに置換された。このような置換は二重下線で表示した。

20

【0413】

図13Aに示すように、1-65抗体は、類似の親和性で突然変異ペプチド#1、5、6、7に結合し得た。しかし、断片F5のアミノ酸残基D13、L14、I16及びR18がアラニンに突然変異された時(上記表9でSEQ ID NO:125に基づいてナンバリング)、1-65抗体はこのペプチド断片にそれ以上結合できず、これは、それらのアミノ酸残基が1-65抗体の重要な結合部位であったことを示唆する。一方、P2-C12抗体は、突然変異ペプチド#2、3、4、5、7には高い結合性を示したが、突然変異ペプチド#1、6、8には結合しなかった(図13B参照)。表9(上記)に示したとおり、突然変異ペプチド#1、6、8は、アミノ酸残基G11、E10及びR18にアラニン置換を含み(SEQ ID NO:125に基づいてナンバリング)、これは、それらのアミノ酸残基がP2-C12抗体において重要な結合部位であることを示唆する。

30

【0414】

実施例8：FAM19A5突然変異M1-M8を用いたエピトープマッピング分析

本明細書に開示された抗FAM19A5抗体の結合エピトープをさらに特性化するために、異なるFAM19ファミリーメンバー(すなわち、FAM19A1-5)に対するアミノ酸配列を、図14に示すとおりに整列した。この整列に基づいて、FAM19A5タンパク質のアミノ酸配列がFAM19A5ファミリーの他のメンバー(すなわち、FAM19A1-4)と最も有意に差異を有する8個の領域が確認された(M1~M8)。これらの領域のアミノ酸配列を、FAM19A1-4タンパク質に対する相応する領域のコンセンサス配列に置換した(表10参照-突然変異されたアミノ酸残基はボールド体及び下線で表示する。)

40

【0415】

突然変異FAM19A5発現ファージを次のように作製した。ファージ培養培地を作製するために、2Mグルコース(D-(+)-グルコース、Sigma)55.6mL、1M MgCl₂(Magnesium chloride, Junsei)5mL、34mg/mLクロラムフェニコール(Sigma)1mLを2xYT培地に添加した。モノファージELISAによって得られたコロニーを選択し、作製された培地(2xYT-GMC)5mLに入れ、シェイキングインキュベーター(VS-8480, Visio

50

n) で 37 °C で 16 時間培養した。各培養物 100 μL を個別的に 10 mL 2 × YT - GMC に移し、インキュベーターにおいて 37 °C で O.D. 600 nm における検出値が 0.5 に至るまで培養した。検出値が O.D. 600 nm で 0.5 に到達すると、サンプルとして各培養物 5 mL を取って感染させた。サンプル作製後、M1 ヘルパーファージ 50 μL を各サンプルに添加した後、30 分間シェイキング無しで、そして次の 30 分間シェイキングしながら 37 °C でインキュベーションした。個別の培養物を Micro 遠心分離機 (Micro12, Hanil) を用いて 3,850 rpm で 15 分間遠心分離した。遠心分離された培養物の上清液を除去して別に保管し、1 M IPTG (AG Scientific) 1 mL、1 M MgCl₂ 5 mL、70 μg/μL カナマイシン (Biopure) 1 mL 及び クロラムフェニコール 1 mL を含有する 2 × YT 培地 5 mL に取り替えた。得られたペレットを新しく添加された培地に完全に分散させた後、攪拌しながら 30 °C で 16 時間インキュベーションした。

【0416】

【表10】

FAM19A5	Sequences
Wild Type	QFLKEGQLAAGTCEIVTLDRDSSQPRRTIARQTARACACRKGQIAGTTRARPAC VDARI I K T K Q W C D M L P C L E G E G C D L L I N R S G W T C T Q P G G R I K T T T V S (SEQ ID NO: 142)
M1	QFLKEGQLAAGTCEIVTAAHRDSSQPRRTIARQTARACACRKGQIAGTTRARPAC VDARI I K T K Q W C D M L P C L E G E G C D L L I N R S G W T C T Q P G G R I K T T T V S (SEQ ID NO: 95)
M2	QFLKEGQLAAGTCEIVTLDRCCNKNRRTIARQTARACACRKGQIAGTTRARPAC VDARI I K T K Q W C D M L P C L E G E G C D L L I N R S G W T C T Q P G G R I K T T T V S (SEQ ID NO: 96)
M3	QFLKEGQLAAGTCEIVTLDRDSSQPRIEERSQTARACACRKGQIAGTTRARPAC VDARI I K T K Q W C D M L P C L E G E G C D L L I N R S G W T C T Q P G G R I K T T T V S (SEQ ID NO: 97)
M4	QFLKEGQLAAGTCEIVTLDRDSSQPRRTIARQTVKCSFPGQIAGTTRARPAC VDARI I K T K Q W C D M L P C L E G E G C D L L I N R S G W T C T Q P G G R I K T T T V S (SEQ ID NO: 98)
M5	QFLKEGQLAAGTCEIVTLDRDSSQPRRTIARQTARACACRKGQIAGTTRNKPS VDARI I K T K Q W C D M L P C L E G E G C D L L I N R S G W T C T Q P G G R I K T T T V S (SEQ ID NO: 99)
M6	QFLKEGQLAAGTCEIVTLDRDSSQPRRTIARQTARACACRKGQIAGTTRARPAC VDARI I L Q R W W C Q M E L C L E G E G C D L L I N R S G W T C T Q P G G R I K T T T V S (SEQ ID NO: 100)
M7	QFLKEGQLAAGTCEIVTLDRDSSQPRRTIARQTARACACRKGQIAGTTRARPAC VDARI I K T K Q W C D M L P C L E G E G E C K T L P D N S G W T C T Q P G G R I K T T T V S (SEQ ID NO: 101)
M8	QFLKEGQLAAGTCEIVTLDRDSSQPRRTIARQTARACACRKGQIAGTTRARPAC VDARI I K T K Q W C D M L P C L E G E G C D L L I N R S G W T C S C S S G N K I K T T T V S (SEQ ID NO: 102)

【0417】

図15A及び実施例7に記載されたデータを参照すると、抗FAM19A5抗体1-65は、FAM19A5突然変異M6、M7及びM8との結合に失敗した。M6及びM7突然変異は、FAM19A5のエピトープ断片F5内の領域に相応する部位にアミノ酸突然変異を含む(上記の表10参照)。

【0418】

追加の抗FAM19A5抗体に対するエピトープ分析は、図15B及び図15Cに提供される。抗FAM19A5抗体13B4、13F7及び15A9はいずれも、FAM19A5突然変異M8との結合に失敗し、突然変異M7に対しては減少した結合を有した。ま

10

20

30

40

50

た、13B4抗体はFAM19A5突然変異M6との結合に失敗した(図15B参照)。同様に、抗体P1-A08、P1-F02、P2-A01、P2-A03、P2-F07及びP2-F11はいずれも、FAM19A5突然変異M8との結合に失敗し、大部分の抗体はまた、突然変異M7に対して減少した結合を有したり結合しなかった。P2-C12抗体は、それらの抗体と違い、FAM19A5突然変異M8に強く結合した。その代わりに、P2-C12抗体はFAM19A5突然変異M6との結合に失敗したが、この結果は、エピトープ断片F5がP2-C12抗体の重要なFAM19A5結合部位を含むということを示した先のデータと一致する。

【0419】

実施例9：相互競合分析

次に、下記の通り、2-部位サンドウィッチELISAを用いて、類似の結合エピトープを持つ異なる抗FAM19A5抗体が互いに競合するか否かを評価した(図16A参照)。

【0420】

まず、インキュベーションされた抗FAM19A5抗体を10µg/mLの濃度で1xPBSに希釈した。希釈された抗FAM19A5抗体(1xPBS中に10µg/mL、“キャプチャー抗体”)を使用して概略1時間37°Cで96-ウェルプレート(100µL/ウェル)をコーティングした。インキュベーション後、プレートを洗浄バッファ(0.01%Tween-20/PBS;0.01%PBSTともいう。)で計5回洗浄し、遮断溶液(5%BSA/PBS;5%PBSAともいう、250µL/ウェル)で37°Cで1時間遮断した後、再び洗浄した。次に、100µg/mL FAM19A5抗原(5%BSA、0.01%Tween-20を含有するPBSに希釈;5%PBSAともいう;“希釈バッファ”)を各ウェルに添加し、96-ウェルプレートを37°Cで2時間インキュベーションした。インキュベーション後、プレートを0.01%PBSTを使用して計5回洗浄した。最後の洗浄後、インキュベーションされたビオチン化抗FAM19A5抗体(“検出抗体”、5%PBSAに1µg/mLに希釈)を関連したウェル(100µL体積)に添加し、プレートを37°Cで1時間さらにインキュベーションした。その後、プレートを0.01%PBSTで再び洗浄した(計5回洗浄)。次に、10µLの希釈された(5%PBSAに1/2000)ストレプトアビジン-HRP(1mg/mL, Sigma, USA)をウェルに添加し、プレートを室温で30分間インキュベーションした。次に、プレートを洗浄し、TMB基質100µLで処理した(次に、3,3-プレート洗浄し、100µLで処理した、Thermo Fisher Scientific)。室温で30分さらにインキュベーション後、TMB基質を添加して色変化反応を誘導した。反応を硫酸(2N H₂SO₄)50µLを使用して中断させ、96-ウェルマイクロプレートリーダー(Molecular Device)を用いて620nm基準波長で450nmにおける色変化程度を検出した。

【0421】

図16Bに示すように、抗FAM19A5抗体1-65、P2-A03、P2-F11及び13B4はいずれも相互競合した。この結果は、先のエピトープ分析と一致し、これらの抗体が類似のエピトープ(すなわち、EP6、EP7、及び/又はEP8)でFAM19A5に結合するということを示した(図15A~図15C参照)。

【0422】

実施例10：結合親和性分析

FAM19A5に対する異なる抗FAM19A5抗体の結合親和性に差異があるか否かを決定するために、OCTET(登録商標)試験とELISA分析を用いた。OCTET(登録商標)試験には、次のプロトコルを使用した。Octet QK3でNi-NTAバイオセンサーをUPLC等級水で水和させた。FAM19A5タンパク質のHis-タグをNi-NTAバイオセンサー上に固定した(2nMのレベルで)。インキュベーションした抗FAM19A5抗体を300nM、100nM、33nM、11nM、3.3nM、1.1nM及び0nMの濃度で希釈した。バイオセンサー上に固定されたFAM19

10

20

30

40

50

A 5 に対する異なる抗 F A M 1 9 A 5 抗体の結合動力学を測定した。このデータを D a t a A n a l y s i s S o f t w a r e (バージョン 9 . 0) プログラムを用いて分析した。

【 0 4 2 3 】

図 1 7 A ~ 図 1 7 D に示すように、抗 F A M 1 9 A 5 抗体 1 - 6 5 及び 1 3 F 7 は類似の結合親和性を有し (それぞれ、 $K_d = 0.23 \text{ nM}$ 及び 0.25 nM)、抗体 1 3 B 4 ($K_d = 3.6 \text{ nM}$) 及び 1 5 A 9 ($K_d = 5.95 \text{ nM}$) と比較して、より強く F A M 1 9 A 5 に結合した。E L I S A によって測定された異なる抗 F A M 1 9 A 5 抗体の結合親和性が、図 1 8 A 及び図 1 8 B に提示されている。

【 0 4 2 4 】

実施例 1 1 : 脳傷害動物モデルにおける F A M 1 9 A 5 抗体の使用

本明細書に提示された抗 F A M 1 9 A 5 抗体の生体内機能を評価するために、外傷性脳傷害 (T B I) マウスモデルを使用した。C 5 7 B L / 6 成体雄マウス (8 ~ 9 週齢) をソジウムペントバルビタール (50 mg / kg) で麻酔した。1 分間頭蓋冠上に予冷された鉄棒を置き、極低温 T B I を誘導した。次に、マウスの皮膚を縫合し、正常マウスと同じ方式で収容しておいた (Moon et al, Neuro Report 22 : 304 - 308 (2011) 参照)。T B I 誘導後約第 1 日に、リン酸緩衝食塩水 (P B S) に希釈された異なる抗 F A M 1 9 A 5 抗体を様々な濃度 (0.1 、 0.3 、 1 、 3 、 5 、 10 又は $100 \mu\text{g / マウス}$) で動物に静脈内投与した。正常ヒト対照群免疫グロブリン (H C I) を対照群とした。

【 0 4 2 5 】

次に、T B I 誘導後第 5 日 (T B I 5 D) に、P B S 中の 4 % パラホルムアルデヒド (P F A) を灌流させて動物を殺し、脳組織を回収した。回収した脳組織を 2 4 時間 4 % P F A 溶液にさらに固定させた。次に、脳組織を 30 % スクロースで凍結保護し、クライオスタットで連続して切片化し ($40 \mu\text{m}$)、使用するまで -20 で 50 % グリセロール / 50 % P B S に保管した。

【 0 4 2 6 】

神経膠症に関連した反応性星状細胞を染色するために (ネスチン陽性及び G F A P 発現)、脳組織切片を P B S 中の 3 % ウシ血清アルブミン (B S A) 及び 0 . 1 % T r i t o n X - 1 0 0 で 30 分間遮断した。次に、1 次抗体を 4 で一晩、切片と共にインキュベーションした。この研究に使用された 1 次抗体は、マウス抗ネスチン (M i l l i p o r e , B i l l e r i c a , M A , U S A) 及びウサギ抗 G F A P (D a k o , C a r p i n t e r i a , C A , U S A) であった。P B S で数回洗浄後、適切な 2 次抗体を 30 分間適用した。H o e c h s t 3 3 3 4 2 (I n v i t r o g e n , C a r l s b a d , C A , U S A) で核を標識した。次に、切片を洗浄し、蛍光又は共焦点顕微鏡 (L e i c a , W e t z l a r , G e r m a n y) に装着して観察した。

【 0 4 2 7 】

効果を定量するために、各イメージにおいて G F A P - 陰性領域の R O I (関心領域) をまず特定し、次いで、相応する R O I の領域 (μm^2 , A) を L A S A F ライトソフトウェア (L e i c a M i c r o s y s t e m C M S G m b H , M a n n h e i m , G e r m a n y) を用いて計算した。また、半影と接している傷害中心の境界線の外側長 (μm , B) を同じソフトウェアで測定した。A / B の結果は、病巣中心から平均距離 (A / B, μm) を表す。

【 0 4 2 8 】

図 6 に示すように、対照群 H C I 抗体と違い、抗 F A M 1 9 A 5 抗体 1 - 6 5 は、外傷性脳傷害後半影領域において反応性神経膠症の開始を顕著に減少、逆転及び / 又は予防しており、これは、病巣境界 (点線で表示) 近くで G F A P - 陽性染色が少ないことから証明される。類似の結果が抗 F A M 1 9 A 5 抗体 1 3 B 4、1 3 F 7、1 5 A 9、P 2 - A 0 3、P 2 - F 1 1 及び P 1 - A 0 3 でも観察された (図 1 9 A ~ 図 1 9 E 参照)。そして、図 7 に示すように、傷害中心及び半影における G F A P 及び N e u N の免疫染色は、

10

20

30

40

50

抗 F A M 1 9 A 5 抗体がまた、損傷された領域を取り囲む半影領域においてニューロンの生存を促進できることを示す。

【 0 4 2 9 】

実施例 1 2 : 脊髄傷害の治療のための抗 F A M 1 9 A 5 の効能

抗 F A M 1 9 A 5 抗体が損傷された動物の機能的運動活性を改善できるか否かを試験するために、脊髄傷害 (S C I) 動物モデルを利用した。成体雄 S p r a g u e D a w l e y ラット (D a e H a n B i o L i n k C o . , L t d , K o r e a) を抱水クロラル (5 0 0 m g / k g) で麻酔し、8 回又は 1 0 回胸髄を露出させた。ヒト脊髄状態をシミュレーションするために、傷害強度を数値で計算するようにデザインされた N Y U インパクト (R o u t e s , S c i t e c k K o r e a I n c .) を利用した。1 0 g 錘を 2 5 m m 高さで胸側 9 番脊髄に落とし、硬膜損傷無しでラミネクトミによって露出させた。N Y U インパクトから計算されたデータは、傷害が誤差範囲内で均一に伝達されたことを確認し、傷を縫合した。傷部位にポビドンヨードを塗布後、ケージ当たり 2 匹のラットを収容し、膀胱を 7 週間一日 3 回マッサージして排尿を促進させた。次に、各動物は、次の抗体のいずれか一つを静脈内経路で投与された：(i) 抗 F A M 1 9 A 5 抗体 1 - 6 5 (6 0 μ g)、(i i) 抗 F A M 1 9 A 5 多クローン性 A b (6 0 μ g) 又は (i i i) P B S 中の正常ラット I g G (6 0 μ g)。S C I 動物の運同機能を B B B 運動能点数を用いて評価した。B B B 点数は、後足の動きがない場合の 0 点から正常動きに対する 2 1 点までの範囲である。動物は、開放空間で自由に徘徊するように置き、2 人のブラインド観察者によって観察された。S C I 後、第 1 日に B B B 点数が 1 点を超える動物は研究から除外した。4 0 日間点数をモニターした。データは 2 本の後足点数の平均 ± S E M と定量し、編集され、グラフとして整理された。図 8 (左パネル) は、F A M 1 9 A 5 抗体 1 - 6 5 の単一投与 (C、円) が、ピークル治療されたラット (A、ダイヤモンド) と対比して、傷害後 2 1 日 (d p i) から運動活性を有意に改善するというを示す。また、抗 F A M 1 9 A 5 多クローン性 A b (B、四角) を用いた治療も、ピークル治療されたラット (A、ダイヤモンド) と対比して、3 5 d p i から運動活性を改善した。また、傾斜面試験を 6 週まで毎週行った (図 8 の右パネル)。傾斜面試験においてラットは調整可能な傾斜面に位置した。各動物が少なくとも 5 秒間安定した姿勢を維持した傾斜面の最対角度が、動物グループに対してブラインドされた 2 人の観察者によって評価され、平均角度が記録された。傾斜面試験も同様、対照群グループ (A、ダイヤモンド) と対比して、F A M 1 9 A 5 抗体 1 - 6 5 (C、円) 又は抗 F A M 1 9 A 5 多クローン性 A b (B、四角) で治療された動物の機能活性を改善したことを示した。

【 0 4 3 0 】

発明の概要及び要約の部分を除く発明の詳細な説明の部分は、特許請求の範囲を解釈するために用いられるよう意図される。発明の概要及び要約書の部分は、発明者によって考察されたような本開示内容の例示的な具体例を全部ではなく一つ以上提示でき、したがって、本開示内容及び添付の特許請求の範囲を何ら限定しない。

【 0 4 3 1 】

本開示内容は、明示された機能の実施及びそれらの関係を例示する機能的構成要素を用いて上に記載された。これらの機能的構成要素の境界は、説明の便宜のために本明細書で任意に限定された。他の境界は、明示された機能及びそれらの関係が適切に行われる範囲で限定され得る。

【 0 4 3 2 】

特定の具体例の前述した説明は、本開示内容の一般的な性質を十分に表すはずであり、他者は当業界における知識を適用することによって、本開示内容の一般的概念から逸脱することなく、過度な実験無しで、このような特定の具体例を容易に変形し及び / 又は様々な適用に合わせて調整することができる。したがって、このような調整及び変形は、本明細書に提示された教示及び指針に基づいて開示された具体例の同等物の意味及び範囲内にあるように意図される。本明細書に提示された語句又は用語は制限ではなく説明の目的に使われるということを理解すべきであり、したがって、本明細書の用語及び語句は教示及

び指針に照らして当業者によって解釈されなければならない。

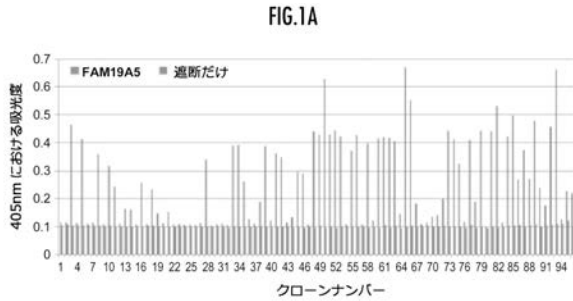
【0433】

本開示内容の範囲は、前述した例示的な具体例のいずれかによって限定されてはならず、添付の特許請求の範囲及びその同等物によって限定されるべきである。

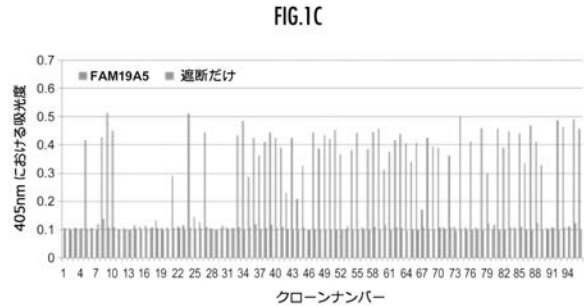
【0434】

本明細書に引用された全ての刊行物、特に、特許出願、インターネットサイト及び受託番号/データベース配列(ポリヌクレオチド及びポリペプチド配列を含む。)は、各個別刊行物、特許、特許出願、インターネットサイト又は寄託番号/データベース配列が本明細書に参考として含まれるという具体的且つ個別的に指摘されただけの程度で全ての趣旨のためにその全体が参考として本明細書に含まれる。

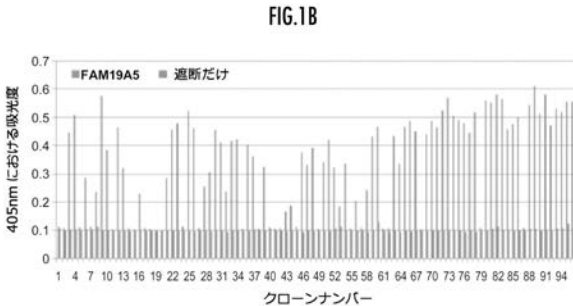
【図1A】



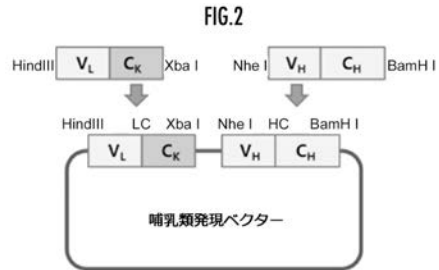
【図1C】



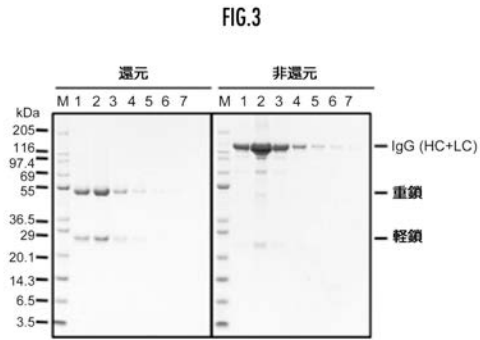
【図1B】



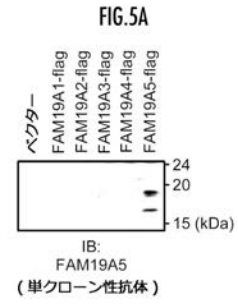
【図2】



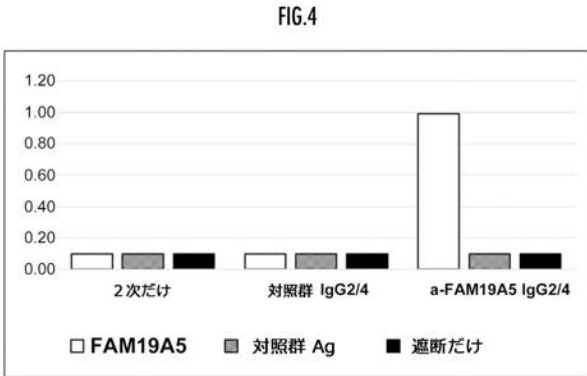
【 図 3 】



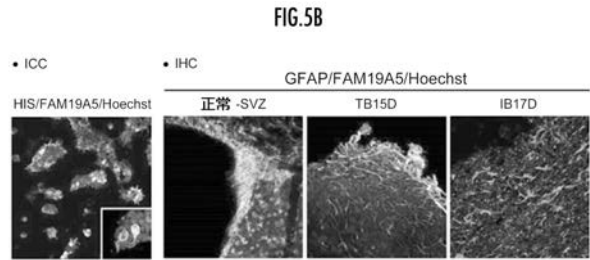
【 図 5 A 】



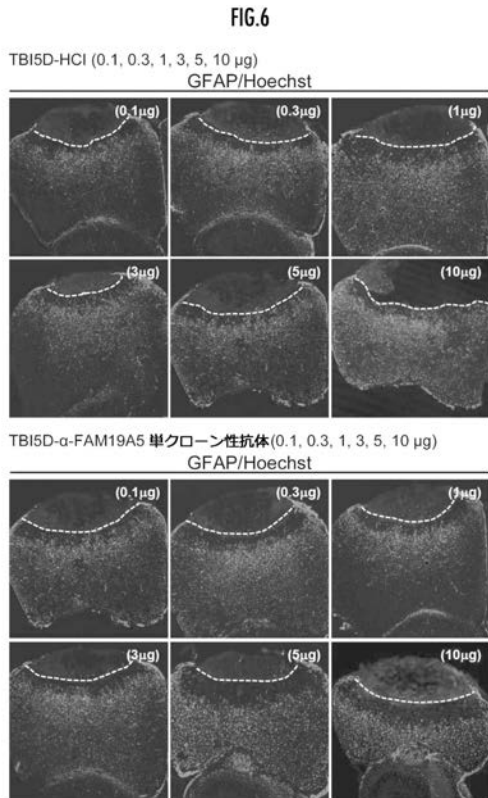
【 図 4 】



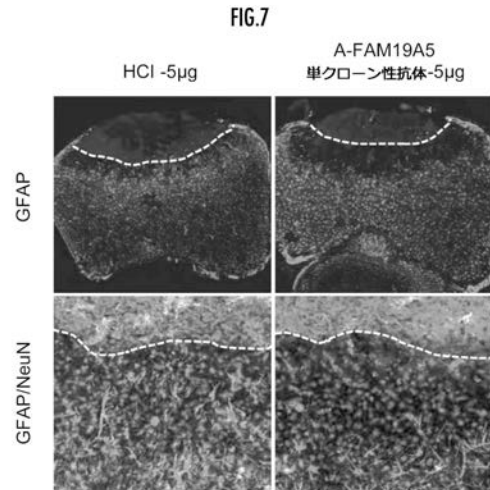
【 図 5 B 】



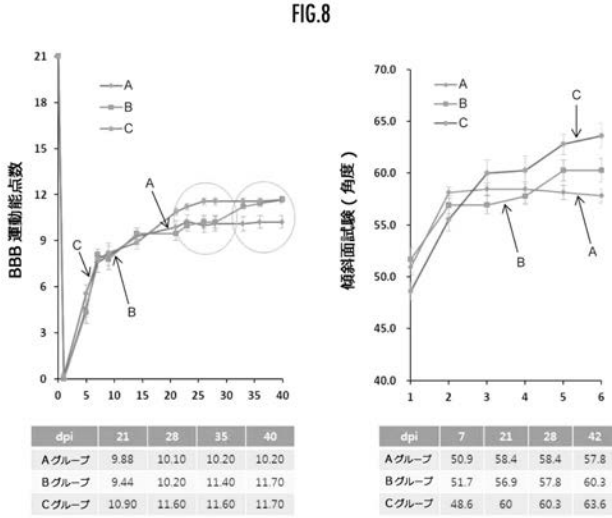
【 図 6 】



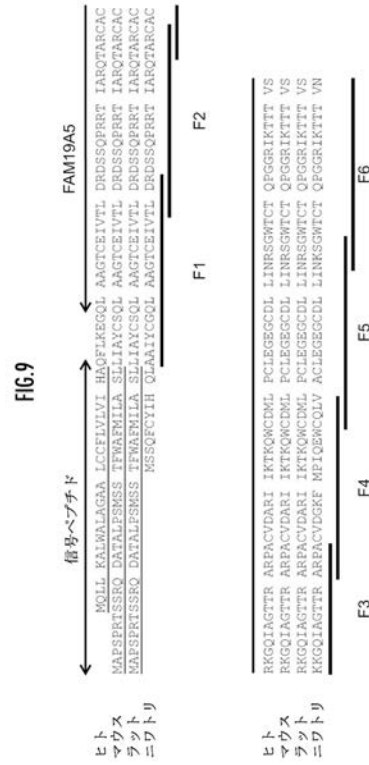
【 図 7 】



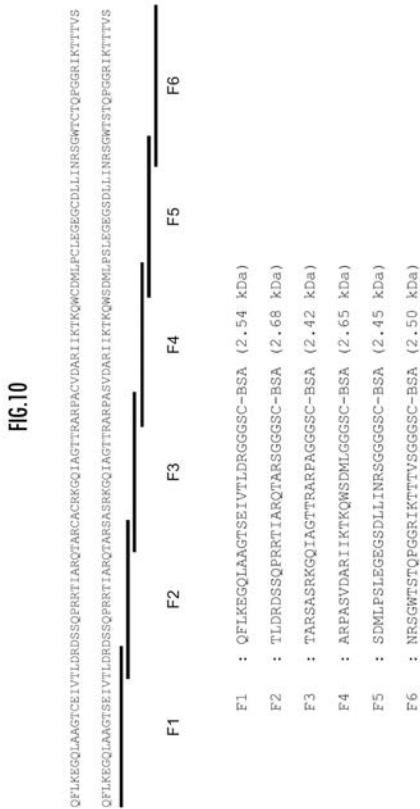
【 図 8 】



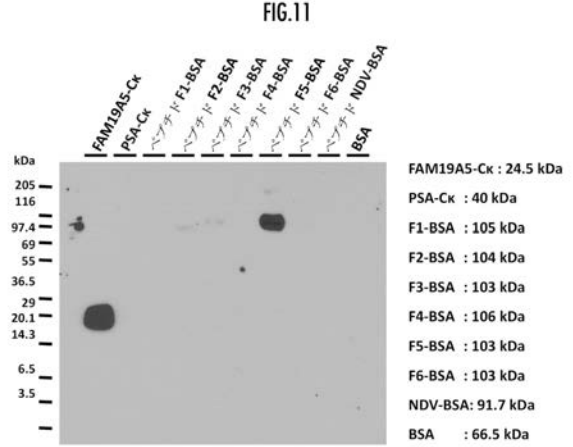
【 図 9 】



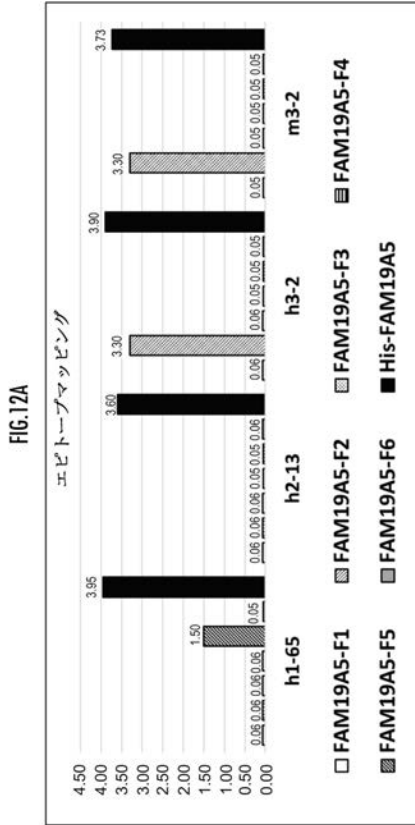
【 図 10 】



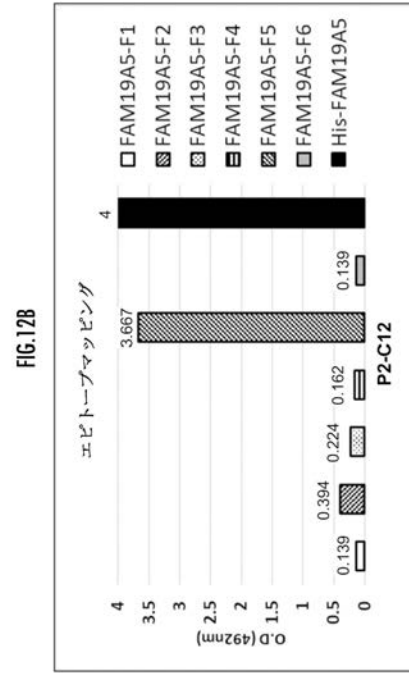
【 図 11 】



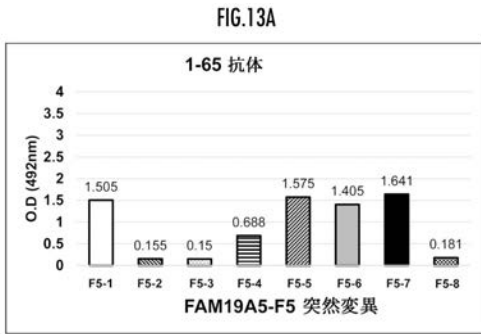
【 図 1 2 A 】



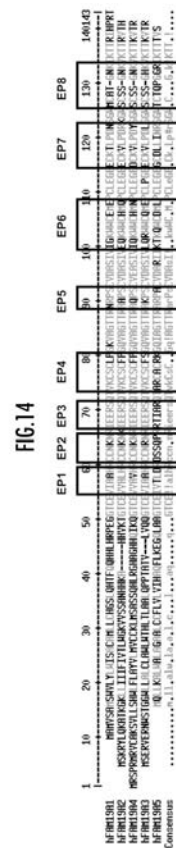
【 図 1 2 B 】



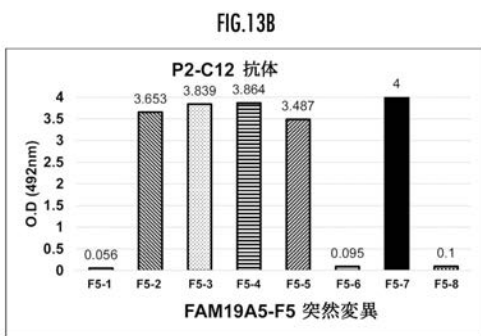
【 図 1 3 A 】



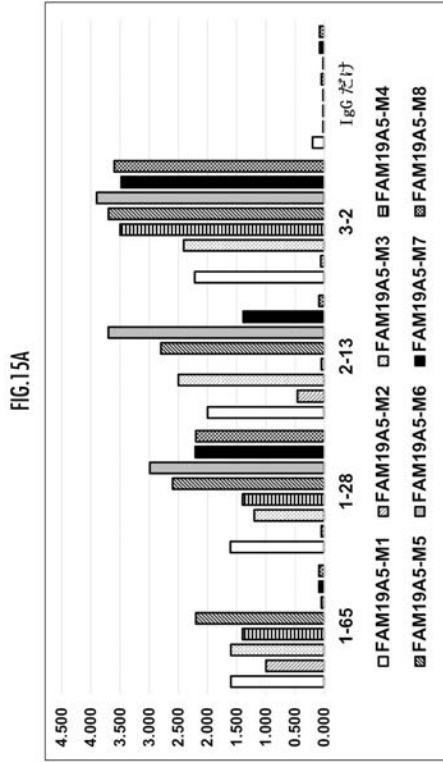
【 図 1 4 】



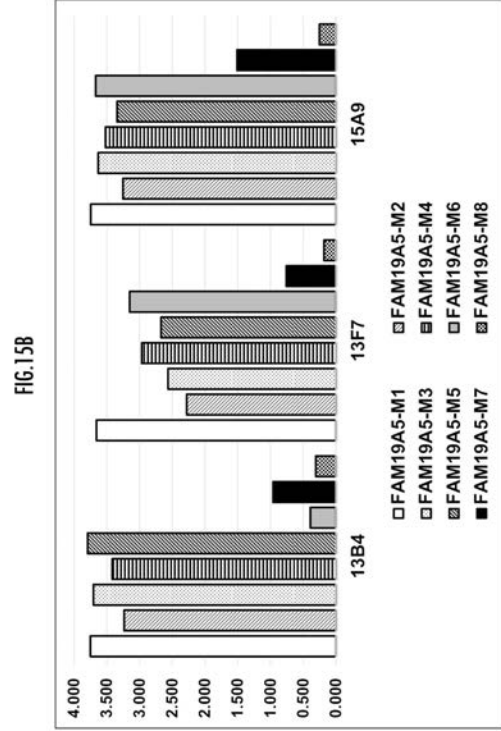
【 図 1 3 B 】



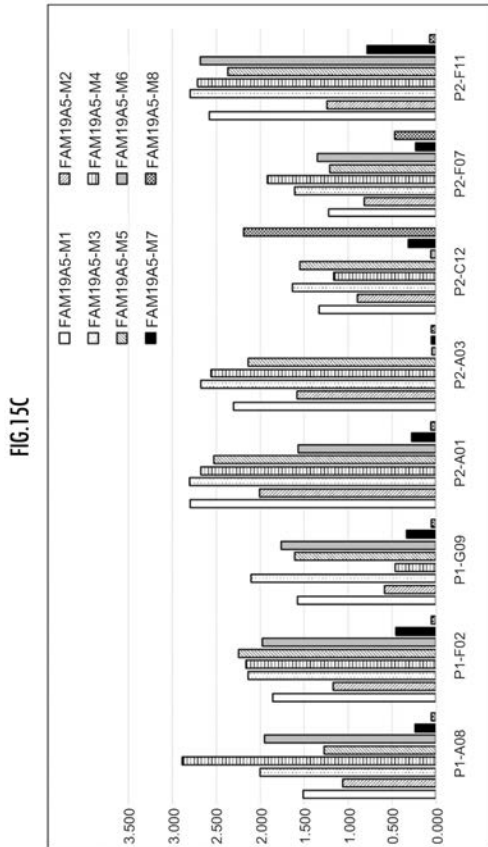
【 図 1 5 A 】



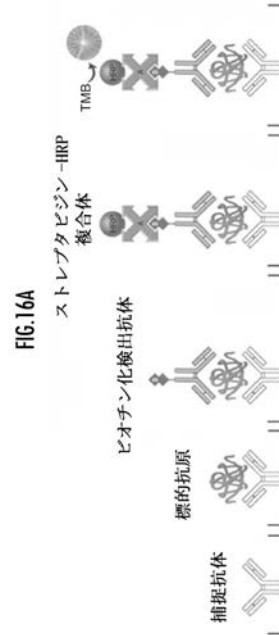
【 図 1 5 B 】



【 図 1 5 C 】



【 図 1 6 A 】



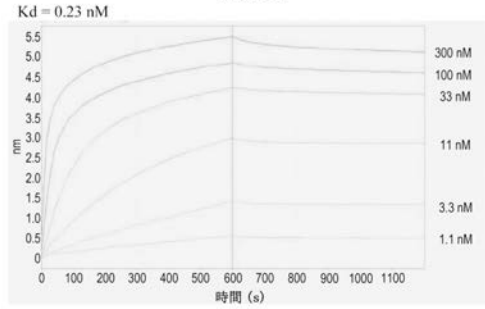
【 図 1 6 B 】

FIG.16B

捕捉抗体	1-65		P2-A03		P2-F11		13B4		2-13		3-2														
	100	0	S/N	10	0	S/N	100	0	S/N	100	0	S/N													
検出抗体	100	0	S/N	100	0	S/N	100	0	S/N	100	0	S/N													
1-65				0.16	0.11	0.1	1.1	1.61	0.33	0.19	1.7	0.19	0.15	0.15	1.0	1.73	1.81	0.55	3.3	1.98	1.83	0.28	6.5		
P2-A03	0.16	0.15	1.0				0.15	0.15	0.14	1.1				0.27	0.22	0.22	1.0	1.88	1.72	0.22	7.8	1.91	1.66	0.16	10
P2-F11	1.25	0.2	0.12	1.7	0.09	0.09	1.0							0.2	0.18	0.18	1.0	1.83	2.04	0.29	7.0	2.02	1.81	0.13	15.9
13B4	0.12	0.12	1.0	0.15	0.16	0.14	1.1	0.14	0.16	0.15	1.1			1.92	0.65	0.21	3.1					1.7	0.3	0.13	2.3
2-13	2.02	1.8	0.44	4.1	1.88	1.07	0.39	2.7	1.94	1.91	0.4	4.8		1.48	0.45	0.4	1.1					2.01	1.97	0.38	5.1
3-2	1.98	1.68	0.1	16.8	1.83	1.08	0.05	21.6	2.11	1.93	0.09	21.4		1.88	0.42	0.09	4.7	2.04	2.02	0.26	7.8				

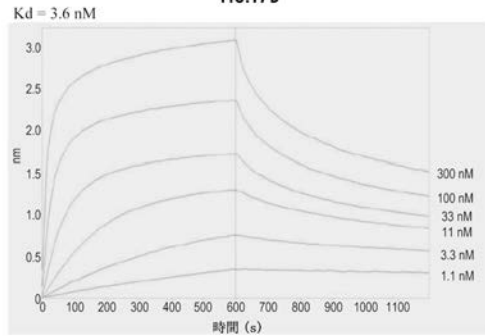
【 図 1 7 A 】

FIG.17A



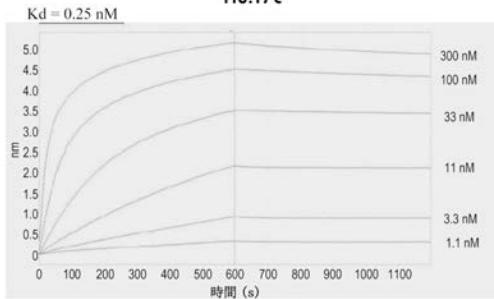
【 図 1 7 B 】

FIG.17B



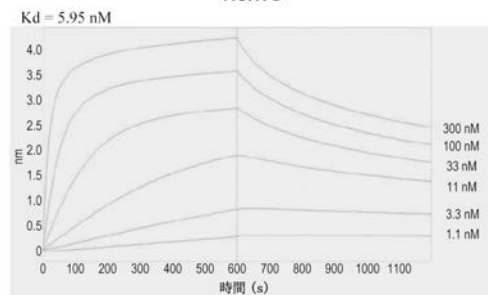
【 図 1 7 C 】

FIG.17C



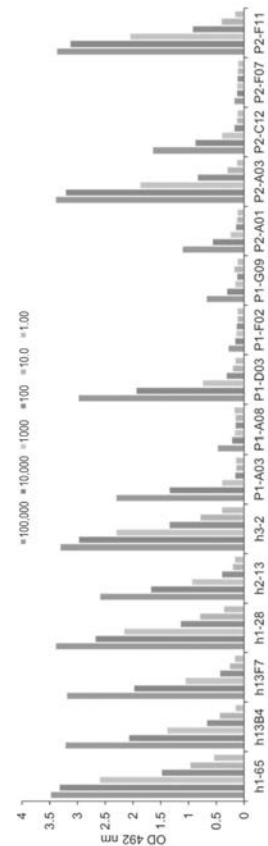
【 図 1 7 D 】

FIG.17D



【 図 1 8 A 】

FIG.18A



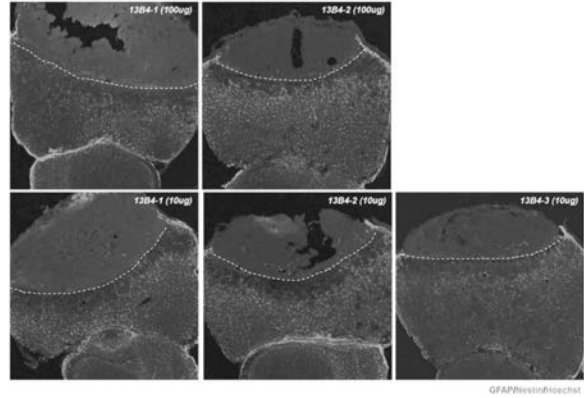
【 図 1 8 B 】

FIG.18B

N-Term-His	1.85	1.384	1.3F7	h1.28	h2.13	h3.2	P1-A03	P1-A08	P1-D03	P1-F02	P1-G09	P2-A01	P2-A03	P2-C12	P2-F07	P2-F11
Kg (nM)	0.10	1.06	2.77	0.17	1.96	0.72	7.50	6.95	4.29	0.00	11.05	9.09	0.61	7.64	0.00	0.41
Bmax	3.259	2.839	3.035	2.938	2.407	3.006	2.454	0.4791	3.019	0.1723	0.738	1.191	3.967	1.726	0.1343	3.259
R ²	0.8806	0.8823	0.9329	0.8703	0.9303	0.9021	0.9813	-0.2016	0.9714	0.7299	0.6802	0.9105	0.9746	0.9422	0.2002	0.9692

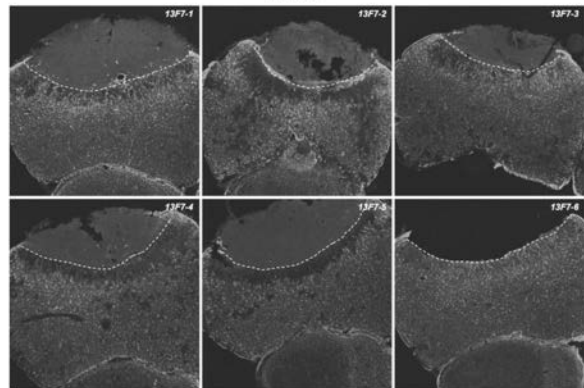
【 図 1 9 A 】

FIG.19A



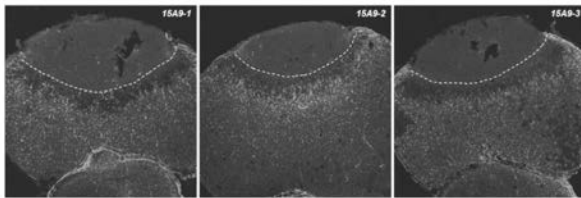
【 図 1 9 B 】

FIG.19B



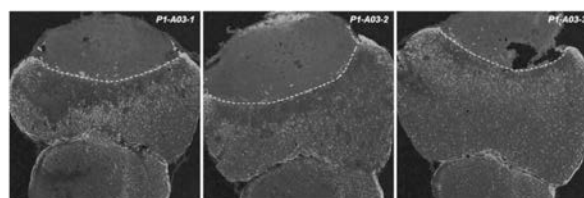
【 図 1 9 C 】

FIG.19C



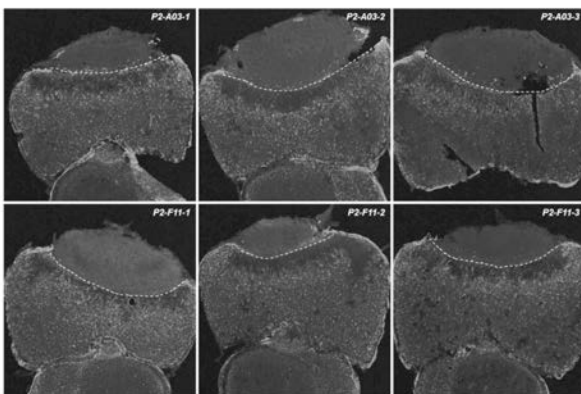
【 図 1 9 E 】

FIG.19E



【 図 1 9 D 】

FIG.19D



【配列表】

2020510609000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB2017/001490
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K 16/18 (2006.01) C07K 7/00 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01) A61K 38/08 (2006.01) A61K 38/10 (2006.01)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
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)		
STN: CAPLUS, EMBASE, BIOSIS - family with sequence similarity 19, member A5 and like terms		
EPOQUE: MEDLINE, WPIAP, EPODOC, NPL - family with sequence similarity 19, member A5 and like terms		
GENOME QUEST: SEQ ID NOs 2, 7-12, 29-94, 139-141		
Applicant/Inventor Search - Google patents, Patentscope, ESPACENET, Auspat, IP Australia Internal Databases: "Neuracle Science" or "Neuracle" or BONGCHEOL or SEONG or HWANG or EUN BEE CHO or JUN HO CHUNG or JUN YEONG JIN or TAE YOUNG YUNE or JEE YOUN LEE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Documents are listed in the continuation of Box C		
<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 21 December 2017	Date of mailing of the international search report 21 December 2017	
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaaustralia.gov.au	Authorised officer Suzanne Malik AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. +61262832058	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		PCT/IB2017/001490
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	TANG, Y.TOM et al., 'TAFAs: a novel secreted family with conserved cysteine residues and restricted expression in the brain'. Genomics. 2004. 83: 727-734 abstract, page 728	1-16
A	US 2015/0118230 A1 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) 30 April 2015 abstract, Examples 4, 9	1-16
A	US 2009/0221670 A1 (BORGLUM, A. et al.) 03 September 2009 paragraphs [0179-0196]	1-16
A	KR 10-2016-0101786 A (UNIVERSITY OF ULSAN FOUNDATION FOR INDUSTRY COOPERATION et al.) 26 August 2016 & English abstract retrieved from Patentscope abstract	1-16
X	US 2012/0261568 A1 (COON, J.J. et al.) 18 October 2012 SEQ ID NO: 141	12
X	WO 2006/005586 A2 (GENEPROT, INC.) 19 January 2006 Table 2, SEQ ID NO: 170	12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/IB2017/001490

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 filed or furnished:
- a. (means)
- on paper
- in electronic form
- b. (time)
- in the international application as filed
- together with the international application in electronic form
- subsequently to this Authority for the purposes of search
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 in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. PCT/IB2017/001490	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
US 2015/0118230 A1	30 April 2015	US 2015118230 A1	30 Apr 2015
		US 9579398 B2	28 Feb 2017
		CN 104254343 A	31 Dec 2014
		CN 107019800 A	08 Aug 2017
		EP 2815769 A1	24 Dec 2014
		KR 20130094255 A	23 Aug 2013
		KR 101406393 B1	13 Jun 2014
		US 2017121401 A1	04 May 2017
		WO 2013122408 A1	22 Aug 2013
US 2009/0221670 A1	03 September 2009	US 2009221670 A1	03 Sep 2009
		AU 2006246116 A1	16 Nov 2006
		CA 2651376 A1	16 Nov 2006
		EP 1888773 A2	20 Feb 2008
		EP 2287340 A2	23 Feb 2011
		EP 2305837 A1	06 Apr 2011
		WO 2006119775 A2	16 Nov 2006
KR 10-2016-0101786 A	26 August 2016	None	
US 2012/0261568 A1	18 October 2012	US 2012261568 A1	18 Oct 2012
		US 9040903 B2	26 May 2015
		DE 102012102875 A1	29 Nov 2012
WO 2006/005586 A2	19 January 2006	WO 2006005586 A2	19 Jan 2006
		WO 2006005538 A1	19 Jan 2006
		WO 2006005582 A1	19 Jan 2006
		WO 2006005583 A2	19 Jan 2006
		WO 2006005584 A1	19 Jan 2006
		WO 2006005585 A2	19 Jan 2006
		WO 2006005587 A1	19 Jan 2006
		WO 2006005588 A1	19 Jan 2006
		WO 2006005589 A2	19 Jan 2006
		WO 2006005590 A1	19 Jan 2006
		WO 2006005591 A1	19 Jan 2006
		WO 2006005592 A1	19 Jan 2006

Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.

Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. PCT/IB2017/001490	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
		WO 2006029838 A2	23 Mar 2006
		WO 2006029839 A1	23 Mar 2006
		WO 2006029840 A1	23 Mar 2006
		WO 2006029852 A1	23 Mar 2006
		WO 2006069739 A2	06 Jul 2006
		WO 2006069765 A2	06 Jul 2006
		WO 2006074787 A2	20 Jul 2006
End of Annex			
<p><small>Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001. Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2009)</small></p>			

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
G 0 1 N 33/543 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
	G 0 1 N 33/543	5 4 5 A

(81) 指定国・地域 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T R I T O N

(72) 発明者 ユン, テヨン

大韓民国 0 2 0 2 0 ソウル チュンナン - グ テルン ブラウンストーン アpartment
ムクドン コンルン - ロ 1 8 5 9 フロア 1 0 1 ルーム 8 0 4

(72) 発明者 キム, ボンチョル

大韓民国 1 3 5 2 5 キョンギ - ド ソンナム - シ ブンダン - グ トンパンギョ - ロ 1 5 5

(72) 発明者 ソン, ジェヨン

大韓民国 1 3 9 - 9 1 8 ソウル ノウォン - グ チュンゲ 1 - ドン ロッテ ウソン アパ
artment フロア 1 0 3 ルーム 1 2 0 5

(72) 発明者 ファン, ジョンイク

大韓民国 0 2 8 0 7 ソウル ソンブク - ク サムソン アpartment ドナム - ドン ドン
ソムン - ロ 3 4 2 4 フロア 1 0 6 ルーム 9 0 5

(72) 発明者 ジン, ジュニョン

大韓民国 1 3 8 3 5 キョンギ - ド クァチョン - シ レミアン - スル アpartment ウォ
ンムン - ドン ビュリャン - ロ 1 2 フロア 3 3 8 ルーム 1 6 0 2

(72) 発明者 イ, ジョン

大韓民国 0 2 0 2 0 ソウル チュンナン - グ テルン ブラウンストーン アpartment
ムクドン コンルン - ロ 1 8 5 9 フロア 1 0 3 ルーム 1 2 0 4

(72) 発明者 チョ, ウンピ

大韓民国 0 2 8 4 2 ソウル ソンブク - グ ゴウン ワン ルーム アナム - ドン 5 - ガ
ケウンサ - ギル 7 6 - 8 ルーム 5 0 3

F ターム(参考) 4C085 AA13 AA14 BB11 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB41 BB42
BB43 DD88 EE01 GG01 GG02 GG03 GG04 GG06 GG08 GG10
4H045 AA11 AA30 BA17 CA40 DA76 DA86 EA20 EA50 FA74 GA26

专利名称(译)	具有序列相似性的抗家族19成员a5抗体及其用途		
公开(公告)号	JP2020510609A	公开(公告)日	2020-04-09
申请号	JP2019523016	申请日	2017-11-07
[标]发明人	ユンテヨン キムボンチョル ソンジェヨン ファンジョンイク イジヨン		
发明人	チョン,ジュンホ ユン,テヨン キム,ボンチョル ソン,ジェヨン ファン,ジョンイク ジン,ジュニヨン イ,ジヨン チョ,ウンビ		
IPC分类号	C07K16/18 C12N15/13 C07K14/47 A61K39/395 A61P25/00 A61P43/00 G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P25/00 A61P25/28 C07K16/18 C07K2317/23 C07K2317/33 C07K2317/34 C07K2317/622 C07K2317/92 G01N33/563		
FI分类号	C07K16/18.ZNA C12N15/13 C07K14/47 A61K39/395.N A61K39/395.D A61P25/00 A61P43/00.111 G01N33/53.D G01N33/543.545.A		
F-TERM分类号	4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/BB33 4C085/BB34 4C085/BB35 4C085/BB36 4C085/BB37 4C085/BB41 4C085/BB42 4C085/BB43 4C085/DD88 4C085/EE01 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG06 4C085/GG08 4C085/GG10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA17 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 4H045/GA26		
优先权	62/418674 2016-11-07 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)	(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2020-510609 (P2020-510609A)
			(43) 公表日 令和2年4月9日 (2020. 4. 9)
本公開内容提供了特异性结合人FAM19A5的抗体以及包含此类抗体的组合物。在一个具体方面, 抗体利用此类抗体特异性结合人FAM19A5并调节FAM19A5活性, 例如抑制, 抑制, 减少或逆转反应性神经胶质细胞增生和/或反应性星形胶质细胞过度增殖。本公开还提供了通过施用与人FAM19A5特异性结合的抗体来治疗疾病的方法, 所述疾病例如中枢神经系统损伤, 变性性脑疾病或神经性疼痛。	(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
		C 0 7 K 16 / 1 8 (2 0 0 6 . 0 1) C 1 2 N 1 5 / 1 3 (2 0 0 6 . 0 1) C 0 7 K 1 4 / 4 7 (2 0 0 6 . 0 1) A 6 1 K 3 9 / 3 9 5 (2 0 0 6 . 0 1) A 6 1 P 2 5 / 0 0 (2 0 0 6 . 0 1)	C 0 7 K 1 6 / 1 8 Z N A C 1 2 N 1 5 / 1 3 C 0 7 K 1 4 / 4 7 A 6 1 K 3 9 / 3 9 5 N A 6 1 P 2 5 / 0 0 D
	(2) 出願番号 特願2019-523016 (P2019-523016)	(7) 出願人 ニューラル サイエンス カンパニー	
	(8) (22) 出願日 平成29年11月7日 (2017. 11. 7)	(7) 代理人 110000800	
	(8) 翻訳文提出日 令和1年6月26日 (2019. 6. 26)	(7) 発明者 チョン, ジュンホ	
	(8) 国際出願番号 PCT/182017/001490	(7) 発明者 大韓民国 13590 キョンギード ソンナム-シ アイワンプラス プーンリム ソヒョンドン ファンダン-グ ソヒョン-ロ 170 ティー-ドーン ルーム 1801	
	(8) 国際公開番号 W02018/083538		
	(8) 国際公開日 平成30年5月11日 (2018. 5. 11)		
	(3) 優先権主張番号 62/418, 674		
	(3) 優先日 平成28年11月7日 (2016. 11. 7)		
	(3) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)		
			最終頁に続く
	(54) 【発明の名称】 配列類似性を持つファミリー19、メンバーA5抗体及びその用途		