(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2021-521896
(P2021-521896A)
(43)公表日　令和3年8月30日(2021.8.30)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13	ZNA	4B065
C12N 15/63	(2006.01)	C12N	15/63	Z	4C085
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4H045
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 118 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-509960 (P2021-509960)
(86)(22)出願日　平成31年4月25日 (2019.4.25)
(85)翻訳文提出日　令和2年12月8日 (2020.12.8)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/029109
(87)国際公開番号　WO2019/210054
(87)国際公開日　令和1年10月31日 (2019.10.31)
(31)優先権主張番号　18169888.7
(32)優先日　平成30年4月27日 (2018.4.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁 (EP)
(31)優先権主張番号　62/772,809
(32)優先日　平成30年11月29日 (2018.11.29)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(71)出願人　398050098
バイオジェン・エムエイ・インコーポレイテッド
Ｂｉｏｇｅｎ　ＭＡ　Ｉｎｃ．
アメリカ合衆国０２１４２マサチューセッツ州ケンブリッジ、ビニー・ストリート２２５番
(71)出願人　520417942
ニューリミューン　アーゲー
スイス連邦　ツェーハー－８９５２　シュリーレン，ヴァーギシュトラーセ　１８
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ヒト由来の抗（ポリＧＡ）ジペプチドリピート（ＤＰＲ）抗体

(57)【要約】
Ｃ９ｏｒｆ７２ポリグリシン－アラニンＤＰＲに結合することができる新規のジペプチドリピート（ＤＰＲ）特異的抗体（例えば、ヒト由来抗体）ならびにその合成バリアント及び生物工学的誘導体、ならびにそれらに関連する方法及び使用が提供される。本発明の抗体は、ＤＰＲタンパク質を標的とする免疫療法及び診断のための医薬組成物及び診断用組成物に使用することができる。
【選択図】図２

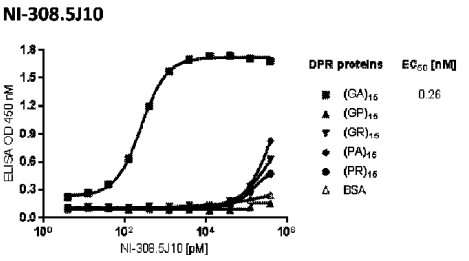


Fig. 2

【特許請求の範囲】
【請求項１】
第９染色体オープンリーディングフレーム７２（Ｃ９ｏｒｆ７２）遺伝子から翻訳される少なくとも６リピートのポリグリシン－アラニン（ＧＡ）からなるジペプチドリピート（ＤＰＲ）の$(GA)_6$（配列番号８０）に結合することができる抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片であって、次の６つの相補性決定領域（ＣＤＲ）：
（ａ）配列番号３のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＨ－ＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号４のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＬ－ＣＤＲ３
を可変領域に含み、
場合により、前記抗体がヒト由来抗体であり、場合により、前記抗体がモノクローナル抗体であり、場合により、前記抗体がヒト由来モノクローナル抗体である、前記抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【請求項２】
（ａ）配列番号２に示されるアミノ酸配列または１つ以上のアミノ酸置換を含むそのバリアントを含む可変重鎖（V_H）、及び
（ｂ）配列番号７に示されるアミノ酸配列または１つ以上のアミノ酸置換を含むそのバリアントを含む可変軽鎖（V_L）
を可変領域に含み、
場合により、前記V_H及びV_L鎖のアミノ酸配列が、それぞれ配列番号２及び７と少なくとも９０％同一である、請求項１に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【請求項３】
（ａ）前記ＣＤＲが、脱アミド化易発性のアスパラギン（Ｎ）及び／またはグルタミン（Ｑ）を含まず、及び／または
（ｂ）前記V_H及び／またはV_L鎖のアミノ酸配列が、占有されているグリコシル化部位を含まない、
請求項１または２に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【請求項４】
１つ、２つ、またはそれ以上の前記アミノ酸置換が、
（ａ）脱アミド化易発性のアスパラギン（Ｎ）もしくはグルタミン（Ｑ）の、脱アミド化非易発性アミノ酸による置換、
（ｂ）脱アミド化易発性ＮもしくはＱに直接隣接する、場合によりグリシン（Ｇ）である小さい柔軟なアミノ酸の、より大きなアミノ酸による置換、
（ｃ）グリコシル化部位の除去をもたらす、場合によりグリコシル化モチーフＮＸＳもしくはＮＸＴ内にある少なくとも１つのアミノ酸の置換、及び／または
（ｄ）保存的アミノ酸置換である１つ以上のアミノ酸の置換
から選択され、
場合により、（ａ）及び（ｂ）の前記アミノ酸置換（複数可）がＶＨ－ＣＤＲ２に存在し、（ｃ）の前記アミノ酸置換（複数可）が前記V_L鎖に存在し、場合により、
（ｉ）ＶＨ－ＣＤＲ２において、配列番号２の５４位に対応するアスパラギン（Ｎ）及び／または５５位に対応するグリシン（Ｇ）が、別のアミノ酸で置換されており、場合に

より、前記アスパラギン（Ｎ）がセリン（Ｓ）もしくはスレオニン（Ｔ）で置換されており、及び／または前記グリシン（Ｇ）がセリン（Ｓ）もしくはスレオニン（Ｔ）で置換されており、及び／または

（ｉｉ）前記$Ｖ_{L}$鎖において、配列番号７の７５位に対応するアスパラギン（Ｎ）が、別のアミノ酸で置換されており、場合により、前記アスパラギン（Ｎ）がアスパラギン酸（Ｄ）で置換されている、

請求項１～３のいずれか１項に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【請求項５】

次の６つのＣＤＲ：

（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ１、

（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、

（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、

（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、

（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、及び

（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３

を可変領域に含む、請求項１に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【請求項６】

次の６つのＣＤＲ：

（ａ）配列番号７８のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ１、

（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、

（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、

（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、

（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、及び

（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３

を可変領域に含む、請求項１に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【請求項７】

配列番号１２のアミノ酸配列を含む$Ｖ_{H}$鎖を可変領域に含む、請求項５または６に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【請求項８】

配列番号２４のアミノ酸配列を含む$Ｖ_{L}$鎖を可変領域に含む、請求項５または６に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【請求項９】

配列番号１２のアミノ酸配列を含む$Ｖ_{H}$鎖、及び配列番号２４のアミノ酸配列を含む$Ｖ_{L}$鎖を可変領域に含む、請求項５または６に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【請求項１０】

請求項１～９のいずれか１項に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片であって、

（ｉ）前記抗体またはＤＰＲ結合性断片が、ポリ（ＧＡ）$_{8}$ペプチド（配列番号８１）に対して、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって決定した場合に$５\times１０^{5}Ｍ^{-1}ｓ^{-1}$未満の$Ｋ_{a}$（会合速度）及び$１０\times１０^{-3}ｓ^{-1}$未満の$Ｋ_{d}$（解離速度）で３０ｎＭ未満の$Ｋ_{D}$（解離定数）に対応する結合親和性を有し、場合により、前記ＤＰＲ結合性断片が、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって決定した場合に$１～５\times１０^{5}Ｍ^{-1}ｓ^{-1}$の$Ｋ_{a}$（会合速度）及び$２．５～１０\times１０^{-3}ｓ^{-1}$の$Ｋ_{d}$（解離速度）で１０ｎＭ～３０ｎＭの$Ｋ_{D}$（解離定数）に対応する結合親和性を有し、及び／または

（ｉｉ）そのＦａｂ断片が、示差走査熱量測定（ＶＰ－ＤＳＣ）によって決定した場合に、それぞれ７８～８２℃の範囲内、場合により約７９～８１℃の範囲内の熱安定性及び融解温度$Ｔ_{m}$を有する、

前記抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【請求項１１】

前記ＣＤＲまたは$Ｖ_{H}$及び$Ｖ_{L}$鎖のアミノ酸配列に対して場合により異種である異種ポリペプチド配列をさらに含む、請求項１～１０のいずれか１項に記載の抗体またはそのＤ

ＰＲ結合性断片であって、場合により、前記異種ポリペプチド配列が、ヒト定常ドメイン、場合によりＩｇＧ型のヒト定常ドメイン、最も場合によりＩｇＧ１クラスまたはアイソタイプのヒト定常ドメインを含む、前記抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【請求項１２】
（ｉ）リピート数ｎが６以上の場合にのみ前記ポリＧＡペプチドに結合し、
（ｉｉ）ポリ（ＧＡ）$_{15}$ペプチド（配列番号６６）の線状エピトープ及び立体構造エピトープを認識し、
（ｉｉｉ）ＢＳＡ担体タンパク質にカップリングした前記ポリＧＡペプチドに、対応する疎水的にコーティングされたペプチドと実質的に同じ親和性で結合し、
（ｉｖ）無関係のアミロイド形成タンパク質に対する交差反応性が実質的にないか、もしくはごくわずかであり、及び／または
（ｖ）Ｃ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ患者の小脳の顆粒細胞層においてＣ９ｏｒｆ７２遺伝子から翻訳されるＤＰＲ含有タンパク質もしくはその凝集形態に結合することができる、
請求項１～１１のいずれか１項に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【請求項１３】
一本鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）、Ｆ（ａｂ’）断片、Ｆ（ａｂ）断片、及びＦ（ａｂ’）$_2$断片からなる群から選択され、及び／またはキメラマウス－ヒト抗体もしくはマウス化抗体である、請求項１～１２のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項１４】
請求項１～１３のいずれか１項に記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片またはその免疫グロブリンV_HもしくはV_L鎖をコードする１つ以上のポリヌクレオチド（複数可）であって、場合により、前記ポリヌクレオチドがｃＤＮＡであり、及び／または異種核酸に作動可能に連結している、前記ポリヌクレオチド。
【請求項１５】
請求項１４に記載のポリヌクレオチド（複数可）を含む１つ以上のベクター（複数可）。
【請求項１６】
請求項１４に記載のポリヌクレオチド（複数可）または請求項１５に記載のベクター（複数可）を含む宿主細胞。
【請求項１７】
抗ＤＰＲ抗体またはその免疫グロブリン鎖（複数可）を調製する方法であって、
（ａ）請求項１６に記載の細胞を培養することと、
（ｂ）前記抗体またはその免疫グロブリン鎖（複数可）を前記培養物から単離することと
を含む、前記方法。
【請求項１８】
請求項１４に記載のポリヌクレオチド（複数可）によってコードされるか、または請求項１７に記載の方法によって得ることができる、抗体またはそのＤＰＲ結合性断片もしくは免疫グロブリン鎖（複数可）であって、場合により、前記抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片または請求項１～１３のいずれか１項に記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片が、
（ｉ）酵素、放射性同位元素、フルオロフォア、タグ、フラッグ、及び重金属からなる群から選択される標識で検出可能に標識されているか、または
（ｉｉ）薬物に結合している、
前記抗体またはそのＤＰＲ結合性断片もしくは免疫グロブリン鎖（複数可）。
【請求項１９】
請求項１～１３または１８のいずれか１項に記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、請求項１４に記載のポリヌクレオチド（複数可）、請求項１５に記載のベクター（複数可）、または請求項１６に記載の細胞を含む組成物であって、場合により、
（ｉ）医薬組成物であり、薬学的に許容される担体をさらに含み、場合によりワクチンで

あるか、または
（ｉｉ）診断用組成物もしくはキットであり、場合により、免疫ベースの診断方法で従来使用されている試薬をさらに含む、
前記組成物。
【請求項２０】
ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する疾患の予防的処置に使用するためのものであり、場合により、前記疾患が、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、及びＦＴＬＤ－ＡＬＳからなる群から選択される、請求項１～１３または１８のいずれか１項に記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、請求項１４に記載のポリヌクレオチド（複数可）、請求項１５に記載のベクター（複数可）、または請求項１６に記載の細胞。
【請求項２１】
ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する疾患の治療的処置に使用するためのものであり、場合により、前記疾患が、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、及びＦＴＬＤ－ＡＬＳからなる群から選択される、請求項１～１３または１８のいずれか１項に記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、請求項１４に記載のポリヌクレオチド（複数可）、請求項１５に記載のベクター（複数可）、または請求項１６に記載の細胞。
【請求項２２】
ヒトまたは動物の体内における、ポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質、例えば、凝集したポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質のインビボ検出、あるいはポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質、例えば、凝集したポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質への治療剤及び／または診断剤の標的化に使用するための、請求項１～１３または１８のいずれか１項に記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、請求項１４に記載のポリヌクレオチド（複数可）、請求項１５に記載のベクター（複数可）、または請求項１６に記載の細胞。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本願は、２０１８年４月２７日に出願された欧州特許出願第１８１６９８８８．７号、及び２０１８年１１月２９日に出願された米国仮出願第６２／７７２，８０９号に基づく優先権を主張する。両出願の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
配列表
本願は、ＡＳＣＩＩ形式で電子提出された配列表を含み、この配列表は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。２０１９年４月２４日に作成された該ＡＳＣＩＩコピーは、１３７５１－０３０９ＷＯ１＿ＳＬ．ｔｘｔという名称であり、１０２，１７８バイトのサイズである。
【０００３】
本発明は、広く抗体ベースの治療及び診断方法に関する。特に、本発明は、非従来型の非ＡＴＧ翻訳物、特に第９染色体オープンリーディングフレーム７２（Ｃ９ｏｒｆ７２）に見出されるポリグリシン－アラニン（ポリＧＡ）ジペプチドリピート（ＤＰＲ）を形成するヘキサヌクレオチドリピート及びかかるＤＰＲを含む抗原に特異的に結合し、それぞれ、凝集したＤＰＲ及びＤＰＲ含有タンパク質によって誘発される疾患及び状態の処置及び診断において有用な、新規のヒト由来抗体ならびにその断片、誘導体、及び生物工学的バリアントに関する。さらに、本発明は、ＤＰＲまたはその凝集体に関連する疾患を同定するための診断ツールとしても、また例えば前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、ＦＴＬＤ－ＡＬＳ、及び脊髄小脳失調症３６型などの疾患を処置するための受動的ワクチン接種戦略としても役立つ、抗体ならびにそのバリアント及びその誘導体を含む医薬組成物及び診断用組成物に関する。

【背景技術】
【０００４】
前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）は、脳の前頭葉及び側頭葉の萎縮に関連する臨床的、病理学的、及び遺伝的に不均一な障害の一群に属する。これは、認知症の早期発症の２番目に多い原因である。認知症状は様々であり、前頭皮質及び側頭皮質の変性に起因する認知症、行動及び性格の変化、言語機能障害、及び／または精神病を含む。その症状により、ＦＴＬＤは、（ｉ）行動異常型前頭側頭型認知症（ｂｖＦＴＬＤ）、（ｉｉ）意味性認知症（ＳＤ）、または（ｉｉｉ）進行性非流暢性失語（ＰＮＦＡ）の３つの群に分けることができる。ＦＴＬＤ患者は、利用可能な好適な治療法がないため、症状の発症から５～１０年後に死亡する。しかしながら、ＦＴＬＤ患者の５０％は、家族歴が陽性であることが示され、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）に匹敵し、根底にある病因が共通する一連の疾患を表すようである。これらの常染色体優性遺伝疾患はいずれも遺伝的及び病理学的に不均一であることが示されたが（例えば、Ｖａｎｃｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｒａｉｎ　１２９（２００６），８６８－８７６を参照されたい）、遺伝子分析では、Ｃ９ｏｒｆ７２遺伝子の非コードエクソン１ａと１ｂとの間に位置するヘテロ接合性の伸長したヘキサヌクレオチドリピート（ＧＧＧＧＣＣ）が、ＦＴＬＤ及びＡＬＳの遺伝的原因で最も多いものとして同定された（例えば、ＤｅＪｅｓｕｓ－Ｈｅｒｎａｎｄｅｚ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｎ　７２（２０１１），２４５－２５６及びＲｅｎｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｎ　７２（２０１１），２５７－２６８を参照されたい）。特に、３つの交互になったリーディングフレームにおけるセンス転写物、すなわち伸長したヘキサヌクレオチドリピートの非従来型の非ＡＴＧ翻訳は、それぞれが２つのアミノ酸の繰り返し単位（ジペプチドリピート、ＤＰＲ）からなる３つの異なるポリペプチド、すなわちポリ（Ｇｌｙ－Ａｌａ；ＧＡ）、ポリ（Ｇｌｙ－Ｐｒｏ；ＧＰ）、及びポリ（Ｇｌｙ－Ａｒｇ；ＧＲ）の産生、生成、及び凝集をもたらしたことが示された。さらに、対応するアンチセンス転写物の翻訳の結果として、ポリ（Ｐｒｏ－Ａｒｇ；ＰＲ）、ポリ（Ｐｒｏ－Ａｌａ；ＰＡ）、及びポリ（Ｇｌｙ－Ｐｒｏ；ＧＰ）が生成される。これらのＣ９ｏｒｆ７２－ジペプチドリピート（ＤＰＲ）の伸長は、最大でＦＴＬＤ患者の３０％、ＡＬＳ患者の５０％、及びＦＴＬＤ－ＡＬＳ患者の８０％において主要因であることが示され、最も高い変異頻度は米国及び欧州連合の白人集団で観察された。さらに、リピート数が１９を超えるＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲ伸長を有する患者では、他の形態のＦＴＬＤ及び／またはＡＬＳを有する患者と比較して、発症年齢が低く、神経障害の発生率が高く、精神病または幻覚を起こす傾向があった。例えば、Ｈａｒｍｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌ．Ａｇｉｎｇ　３４（２０１３），ｅ１３－ｅ１９を参照されたい。
【０００５】
ジペプチドリピート（ＤＰＲ）伸長に関連する疾患及び／または障害の処置、例えば疾患の進行を遅らせる医薬は存在しない。これまでの医療の主な焦点は、非常にストレス過多であることが多い付随症状を処置するための医薬品の提供に依存していた。
【０００６】
ＡＬＳ、ＦＴＬＤ、及び他の神経変性障害に対するＣ９ｏｒｆ７２の病理学的伸長の治療標的化における近年のアプローチで最も顕著なものでは、反復配列からのジペプチドリピートタンパク質（ＤＰＲ）の翻訳、またはＣ９ｏｒｆ７２伸長からのＲＮＡ結合性タンパク質の隔絶により、リピート転写に由来するＲＮＡ（フォーカス）が直接及ぼす毒性効果を相殺するために小さな化合物を使用する、アンチセンスオリゴヌクレオチド／ＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉ）戦略や、毒性ＲＮＡ／タンパク質のサイレンシングのみならず、Ｃ９ｏｒｆ７２コード配列の転写の低減またはＲＮＡフォーカスによって隔絶されたＲＮＡ結合性タンパク質の利用能の減少に起因するハプロ不全のレスキューも行うための遺伝子療法に焦点が置かれる。総説については例えば、Ｍｉｓｃ．ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌ．５４（２０１７），４４６６－４４７６を参照されたい。
【０００７】
Ｃ９ｏｒｆ７２のヘキサヌクレオチドリピート伸長を有する患者の脳内のＤＰＲタンパ

ク質を抗体の標的にすることを検討するのは魅力的であり得るが、これまでのところ、このアプローチは十分に検討されていないか、または実際にとられるアプローチによる弊害を伴い得るようである。例えば、Ｅｄｂａｕｅｒらのグループは、ＧＡ－ＤＰＲ（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）を含むＧＳＴ融合タンパク質に結合することが示された、凝集した（ＧＡ）$_{10}$ペプチド（配列番号７２）によるマウスの免疫による、配列（Ｇｌｙ－Ａｌａ）のジペプチドリピートからなるオリゴペプチドに対する抗体の生成について説明している。国際出願第ＷＯ２０１４／１１４６６０号を参照されたい。これらの抗体のうちの１つ、ＧＡ－５Ｆ２と称されるものは、インビトロでの共培養アッセイ及び細胞抽出物において、Ｃ９ｏｒｆ７２ポリＧＡジペプチドリピートタンパク質の伝達及び凝集を阻害することが示され得る。Ｚｈｏｕ　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ　９（２０１７），６８７－７０２を参照されたい。

【０００８】

しかしながら、ヒトの体内でヒト抗マウス抗体（ＨＡＭＡ）の応答を誘発しやすいマウスモノクローナル抗体の欠点に加えて、このモノクローナル抗体は人工抗原に対して作られているという事実があるため、ＤＰＲ－ＧＡ$_{15}$の結合が、ＡＬＳ、ＦＴＬＤ、及び他の神経変性障害を患う患者の脳に存在するＣ９ｏｒｆ７２遺伝子のＤＰＲタンパク質に対する対応する特異性及び親和性に変換されるかどうかは明らかではない。

【０００９】

実際、学者及び産業界は依然としてＣ９ｏｒｆ７２　ＡＬＳ／ＦＴＬＤのＲＮＡを標的とした処置戦略に焦点を置いているようである。例えば、ＧＧＧＧＣＣリピートを発現するＤｒｏｓｏｐｈｉｌａにおけるインビトロ及びインビボでのＣ９ｏｒｆ７２　ＡＬＳ／ＦＴＬＤの病態を改善するためのＲＮＡ　Ｇ四重鎖の標的化に関する有望な結果について報告している、Ｓｉｍｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ　１０（２０１８），２２－３１による近年の公開文献、及びＳｃｈｌｕｄｉ＆Ｅｄｂａｕｅｒ，ＥＭＢＯ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ　１０（２０１８），４－６による解説を参照されたい。

【００１０】

しかしながら、ＲＮＡベースの治療薬、小さな有機化合物、及び遺伝子療法は、ＲＮＡ固有の不安定性、化合物の潜在的な免疫原性特性、及び標的細胞への効率的な輸送のための送達ビヒクルの必要性といったいくつかの欠点を有するだけでなく、遺伝子療法の適用に関する倫理的問題が残っている。

したがって、ＡＬＳ、ＦＴＬＤ、及び他の神経変性障害の処置におけるＣ９ｏｒｆ７２の病理学的伸長の治療標的化において、Ｃ９ｏｒｆ７２遺伝子の発現産物に起因する疾患及び障害に対して特異的であり、場合により十分に調査されている薬物のクラスに属し、かつヒトが許容できる新たな薬物の開発が依然として必要である。

この技術的問題は、特許請求の範囲で特徴付けられ、以下でさらに説明され、実施例及び図に示される実施形態によって解決される。

【先行技術文献】

【特許文献】

【００１１】

【特許文献１】国際公開第２０１４／１１４６６０号

【非特許文献】

【００１２】

【非特許文献１】Ｖａｎｃｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｒａｉｎ　１２９（２００６），８６８－８７６

【非特許文献２】ＤｅＪｅｓｕｓ－Ｈｅｒｎａｎｄｅｚ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｎ　７２（２０１１），２４５－２５６

【非特許文献３】Ｒｅｎｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｎ　７２（２０１１），２５７－２６８

【非特許文献４】Ｈａｒｍｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌ．Ａｇｉｎｇ　３４（

２０１３），ｅ１３－ｅ１９
【非特許文献５】Ｍｉｓｃ．ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌ．５４（２０１７），４４６６－４４７６
【非特許文献６】Ｚｈｏｕ　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ　９（２０１７），６８７－７０２
【非特許文献７】Ｓｉｍｏｎｅ　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ　１０（２０１８），２２－３１
【非特許文献８】Ｓｃｈｌｕｄｉ＆Ｅｄｂａｕｅｒ，ＥＭＢＯ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ　１０（２０１８），４－６

【発明の概要】

【００１３】

本発明は、ＤＰＲタンパク質及びその凝集形態に関連する疾患及び状態の予防的処置または治療的処置に特に有用である、ポリグリシン－アラニン（Ｇｌｙ－Ａｌａ；ＧＡ）リピートからなるジペプチドリピート（ＤＰＲ）及びＤＰＲ含有タンパク質（ＤＰＲタンパク質）に結合することができるヒト由来モノクローナル抗体、ならびに本明細書において例示される抗体のＤＰＲ結合性断片、合成バリアント、及び生物工学的誘導体といった同等のＤＰＲタンパク質結合分子を提供する。

【００１４】

近年、Ｃ９ｏｒｆ７２－ＡＬＳ患者及びＦＴＬＤ患者の処置における抗体ベースの治療的介入の開発に大きな期待が見込める、ヒト由来の抗ＤＰＲ抗体のクラスが報告されている。開示内容が参照により本明細書に組み込まれる国際出願第ＷＯ２０１６／０５０８２２号を参照されたい。この文献に記載されているように、抗ＤＰＲタンパク質抗体及びその可変領域をコードするｃＤＮＡは、それぞれ、神経学的状態及び神経変性状態の症状がない患者から単離されている。ＷＯ２０１６／０５０８２２の３頁及び実施例を参照されたい。本発明に従って行われたさらなる実験では、様々な結合アッセイにおいて、特に選択されたヒトＣ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ患者に由来する脳組織において決定された特有の結合特性を有することが示され得る、抗ポリＧＡ　ＤＰＲ抗体（ＮＩ－３０８．５Ｊ１０と称され、本明細書では以下「対象抗体」ともいう）を同定しクローニングすることができた。実施例１１及び図１０を参照されたい。さらに、実施例９及び図８に示すように、Ｃ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲペプチドに対する参照抗ポリＧＡ抗体の結合は、対象ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体が標的に先に結合することによって抑止されるが、凝集したＣ９ｏｒｆ７２ポリＧＡ　ＤＰＲ（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）に対する対象抗体の結合は、参照抗ポリＧＡ抗体（ＮＩ－ｍＡｂ参照物）が標的に先に結合してもブロックされない。

【００１５】

したがって、対象ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体及び参照抗ポリＧＡ抗体はいずれも、Ｃ９ｏｒｆ７２ポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質またはその凝集形態のために選択され、これらを認識するが、対象抗体は驚くべきことに、ポリＧＡペプチドのさらなる立体構造エピトープを認識するようである。この特性のため、この抗体は、Ｃ９ｏｒｆ７２ヘキサヌクレオチドリピート伸長を保有する患者においてＣ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲタンパク質を標的化するのに特に好適なものとなるが、それは、ポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質凝集体が、他のＤＰＲタンパク質及び／またはｐ６２及びｈｎＲＮＰ　Ａ３などの無関係の凝集性タンパク質と共凝集することが多いためである（Ｍｏｒｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｃｔａ　Ｎｅｕｒｏｐａｔｈｏｌ．１２６（２０１３），８８１－８９３、Ｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｃｔａ　Ｎｅｕｒｏｐａｔｈｏｌｏｇｉｃａ．Ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ（２０１３），１：６８．ｄｏｉ：１０．１１８６／２０５１－５９６０－１－６８、Ｄａｖｉｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｃｔａ　Ｎｅｕｒｏｐａｔｈｏｌｏｇｉｃａ　Ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ（２０１７）；５：３１．ｄｏｉ：１０．１１８６／ｓ４０４７８－０１７－０４３７－５）。

【００１６】

さらに、本発明の範囲内で実施されたさらなる実験は、脱アミド化またはグリコシル化

されやすいＣＤＲ及びフレームワーク領域のアミノ酸が、対象抗体の本質的な結合特性を失うことなく置換され得ることを明らかにした。実施例１２～１５及び図１１を参照されたい。

【００１７】

したがって、本発明は、元のヒト由来抗ＤＰＲ抗体のバリアント及び誘導体であって、抗体の製造可能性を向上させつつ、抗体の結合特性及び安定性は影響を受けず同じ状態を保つか、またはさらには向上するような、１つ以上のアミノ酸置換をＣＤＲ及び／またはフレームワーク領域内に含む、バリアント及び誘導体も提供する。実施例１５及び１６を参照されたい。さらに、ＣＤＲ及び／または可変領域における修飾がごくわずかであるため、元のＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の対象バリアント及び誘導体も、ヒトにおいて実質的に非免疫原性であると予想される。

【００１８】

要約すると、本願に開示される本発明は、ヒトの脳においてＣ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲタンパク質またはその凝集形態を標的化するのに特に好適であり、ひいてはＣ９ｏｒｆ７２ＡＬＳ／ＦＴＬＤ患者の免疫療法のために特に好適なものとなる特性を有する、ヒト由来の抗ポリＧＡ抗体ならびにそのバリアント及び誘導体を提供する。

【００１９】

したがって、本発明は、広く以下の実施形態に関する。

【００２０】

［１］

第９染色体オープンリーディングフレーム７２（Ｃ９ｏｒｆ７２）遺伝子から翻訳される少なくとも６リピートのポリグリシン－アラニン（ＧＡ）からなるジペプチドリピート（ＤＰＲ）の$(GA)_6$（配列番号８０）に結合することができる抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片であって、次の６つの相補性決定領域（ＣＤＲ）：

（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＨ－ＣＤＲ１、

（ｂ）配列番号４のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＨ－ＣＤＲ２、

（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＨ－ＣＤＲ３、

（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＬ－ＣＤＲ１、

（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＬ－ＣＤＲ２、

（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＬ－ＣＤＲ３

を可変領域に含み、

場合により、前記抗体がヒト由来抗体であり、場合により、前記抗体がモノクローナル抗体であり、場合により、前記抗体がヒト由来モノクローナル抗体である、前記抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００２１】

［２］

（ａ）配列番号２に示されるアミノ酸配列または１つ以上のアミノ酸置換を含むそのバリアントを含む可変重鎖（V_H）、及び

（ｂ）配列番号７に示されるアミノ酸配列または１つ以上のアミノ酸置換を含むそのバリアントを含む可変軽鎖（V_L）

を可変領域に含み、

場合により、前記V_H及びV_L鎖のアミノ酸配列が、それぞれ配列番号２及び７と少なくとも９０％同一である、［１］に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００２２】

［３］
（ａ）前記ＣＤＲが、脱アミド化易発性（ｄｅａｍｉｄａｔｉｏｎ－ｐｒｏｎｅ）のアスパラギン（Ｎ）及び／またはグルタミン（Ｑ）を含まず、及び／または
（ｂ）前記$Ｖ_{Ｈ}$及び／または$Ｖ_{Ｌ}$鎖のアミノ酸配列が、占有されているグリコシル化部位を含まない、
［１］または［２］に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００２３】
［４］
１つ、２つ、またはそれ以上の前記アミノ酸置換が、
（ａ）脱アミド化易発性のアスパラギン（Ｎ）もしくはグルタミン（Ｑ）の、脱アミド化非易発性アミノ酸による置換、
（ｂ）脱アミド化易発性Ｎもしくは Ｑに直接隣接する、場合によりグリシン（Ｇ）である小さい柔軟なアミノ酸の、より大きなアミノ酸による置換、
（ｃ）グリコシル化部位の除去をもたらす、場合によりグリコシル化モチーフＮＸＳもしくはＮＸＴ内にある少なくとも１つのアミノ酸の置換、及び／または
（ｄ）保存的アミノ酸置換である１つ以上のアミノ酸の置換
から選択される、［１］～［３］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００２４】
［５］
（ａ）及び（ｂ）の前記アミノ酸置換（複数可）がＶＨ－ＣＤＲ２に存在し、（ｃ）の前記アミノ酸置換（複数可）が前記$Ｖ_{Ｌ}$鎖に存在する、［４］に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００２５】
［６］
（ｉ）ＶＨ－ＣＤＲ２において、配列番号２の５４位に対応するアスパラギン（Ｎ）及び／または５５位に対応するグリシン（Ｇ）が、別のアミノ酸で置換されており、場合により、前記アスパラギン（Ｎ）がセリン（Ｓ）もしくはスレオニン（Ｔ）で置換されており、及び／または前記グリシン（Ｇ）がセリン（Ｓ）もしくはスレオニン（Ｔ）で置換されており、及び／または
（ｉｉ）前記$Ｖ_{Ｌ}$鎖において、配列番号７の７５位に対応するアスパラギン（Ｎ）が、別のアミノ酸で置換されており、場合により、前記アスパラギン（Ｎ）がアスパラギン酸（Ｄ）で置換されている、
［５］に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００２６】
［７］
［１］～［６］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片であって、前記抗体またはＤＰＲ結合性断片が、ポリ（ＧＡ）$_{8}$ペプチド（配列番号８１）に対して、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって決定した場合に$５\times１０^{５}Ｍ^{-１}ｓ^{-１}$未満の$Ｋ_{ａ}$（会合速度）及び$１０\times１０^{-３}ｓ^{-１}$未満の$Ｋ_{ｄ}$（解離速度）で３０ｎＭ未満の$Ｋ_{Ｄ}$（解離定数）に対応する結合親和性を有し、場合により、前記ＤＰＲ結合性断片が、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって決定した場合に$１～５\times１０^{５}Ｍ^{-１}ｓ^{-１}$の$Ｋ_{ａ}$（会合速度）及び$２．５～１０\times１０^{-３}ｓ^{-１}$の$Ｋ_{ｄ}$（解離速度）で１０ｎＭ～３０ｎＭの$Ｋ_{Ｄ}$（解離定数）に対応する結合親和性を有する、前記抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００２７】
［８］
［１］～［７］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片であって、そのＦａｂ断片が、示差走査熱量測定（ＶＰ－ＤＳＣ）によって決定した場合に、それぞれ７８～８２℃の範囲内、例えば約７９～８１℃の範囲内の熱安定性及び融解温度$Ｔ_{ｍ}$を有す

る、前記抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００２８】
［９］
（ｉ）次の６つのＣＤＲ：
（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）ＶＨ－ＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３、
（ｉｉ）次の６つのＣＤＲ：
（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）ＶＨ－ＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３、
（ｉｉｉ）次の６つのＣＤＲ：
（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）ＶＨ－ＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号１９のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３、
（ｉｖ）次の６つのＣＤＲ：
（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）ＶＨ－ＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３、または
（ｖ）次の６つのＣＤＲ：
（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）ＶＨ－ＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号４のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３
を可変領域に含む、［１］～［８］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００２９】
［９ａ］
次の６つのＣＤＲ：
（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）ＶＨ－ＣＤＲ１、

（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、及び
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３
を可変領域に含む、［１］～［８］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００３０】
［１０］
（ｉ）配列番号１２及び配列番号２４に示されるＶ$_H$及びＶ$_L$鎖のアミノ酸配列、
（ｉｉ）配列番号２及び配列番号２４に示されるＶ$_H$及びＶ$_L$鎖のアミノ酸配列、
（ｉｉｉ）配列番号１５及び配列番号２４に示されるＶ$_H$及びＶ$_L$鎖のアミノ酸配列、
（ｉｖ）配列番号１８及び配列番号２４に示されるＶ$_H$及びＶ$_L$鎖のアミノ酸配列、
（ｖ）配列番号２１及び配列番号２４に示されるＶ$_H$及びＶ$_L$鎖のアミノ酸配列、
（ｖｉ）配列番号１２及び配列番号７に示されるＶ$_H$及びＶ$_L$鎖のアミノ酸配列、
（ｖｉｉ）配列番号１５及び配列番号７に示されるＶ$_H$及びＶ$_L$鎖のアミノ酸配列、
（ｖｉｉｉ）配列番号１８及び配列番号７に示されるＶ$_H$及びＶ$_L$鎖のアミノ酸配列、
（ｉｘ）配列番号２１及び配列番号７に示されるＶ$_H$及びＶ$_L$鎖のアミノ酸配列、または
（ｘ）配列番号２及び配列番号７に示されるＶ$_H$及びＶ$_L$鎖のアミノ酸配列
を可変領域に含む、［１］～［９ａ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００３１】
［１０ａ］
配列番号１２のアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含むＶ$_H$鎖を可変領域に含む、［１］～［１０］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００３２】
［１０ｂ］
配列番号２４のアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含むＶ$_L$鎖を可変領域に含む、［１］～［１０ａ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００３３】
［１０ｃ］
配列番号１２のアミノ酸配列と少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を含むＶ$_H$鎖を可変領域に含む、［１］～［１０ｂ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００３４】
［１０ｄ］
配列番号２４のアミノ酸配列と少なくとも９５％同一であるアミノ酸配列を含むＶ$_L$鎖を可変領域に含む、［１］～［１０ｃ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００３５】
［１０ｅ］
配列番号１２のアミノ酸配列と少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むＶ$_H$鎖を可変領域に含む、［１］～［１０ｄ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００３６】
［１０ｆ］
配列番号２４のアミノ酸配列と少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を含むＶ$_L$鎖を可変領域に含む、［１］～［１０ｅ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合

性断片。
【００３７】
［１０ｇ］
配列番号１２のアミノ酸配列に対して１つ、２つ、または３つの付加、置換、または欠失を有する配列番号１２のアミノ酸配列のバリアントを含むV_H鎖を可変領域に含む、［１］～［１０ｆ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００３８】
［１０ｈ］
配列番号２４のアミノ酸配列に対して１つ、２つ、または３つの付加、置換、または欠失を有する配列番号２４のアミノ酸配列のバリアントを含むV_L鎖を可変領域に含む、［１］～［１０ｇ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００３９】
［１０ｉ］
配列番号１２のアミノ酸配列を含むV_H鎖を可変領域に含む、［１］～［１０ｈ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００４０】
［１０ｊ］
配列番号２４のアミノ酸配列を含むV_L鎖を可変領域に含む、［１］～［１０ｉ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００４１】
［１１］
前記ＣＤＲまたはV_H及びV_L鎖のアミノ酸配列に対して場合により異種である異種ポリペプチド配列をさらに含む、［１］～［１０ｊ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片であって、場合により、前記異種ポリペプチド配列が、ヒト定常ドメイン、場合によりＩｇＧ型のヒト定常ドメイン、場合によりＩｇＧ１クラスまたはアイソタイプのヒト定常ドメインを含む、前記抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００４２】
［１１ａ］
前記異種ポリペプチド配列が、前記ＣＤＲに対して異種である、［１１］に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００４３】
［１１ｂ］
前記異種ポリペプチド配列が、前記V_H及びV_Lに対して異種である、［１１］に記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００４４】
［１１ｃ］
前記異種ポリペプチド配列が、軽鎖定常ドメイン、場合によりカッパ型の軽鎖定常ドメインである、［１１］～［１１ｂ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００４５】
［１１ｄ］
前記異種ポリペプチド配列が、異種哺乳動物分泌シグナルペプチドである、［１１］～［１１ｂ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００４６】
［１２］
場合により、リピート数ｎが６以上の場合にのみ前記ポリＧＡペプチドに結合する、［１］～［１１ｄ］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００４７】
［１３］
ポリ（ＧＡ）$_{15}$ペプチド（配列番号６６）の線状エピトープ及び立体構造エピトープを

認識する、［１］～［１２］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００４８】
［１４］
バイオレイヤー干渉法によって決定した場合に（K_a＝０．５～５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$）の会合速度定数及び解離定数（K_d＝１～５×１０$^{-5}$ｓ$^{-1}$）で、約（０．０５～０．５ｎＭ、場合により０．１～０．２ｎＭ）の親和性ＫＤでポリ（ＧＡ）$_{15}$ペプチド（配列番号６６）に結合する、［１］～［１３］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００４９】
［１５］
ＢＳＡ担体タンパク質にカップリングした前記ポリＧＡペプチドに、対応する疎水的にコーティングされたペプチドと実質的に同じ親和性で結合する、［１］～［１４］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００５０】
［１６］
無関係のアミロイド形成タンパク質に対する交差反応性が実質的にないか、またはごくわずかである、［１］～［１５］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００５１】
［１７］
Ｃ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ患者の小脳の顆粒細胞層においてＣ９ｏｒｆ７２遺伝子から翻訳されるＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に結合することができる、［１］～［１６］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００５２】
［１８］
トランスジェニックＣ９ｏｒｆ７２マウスモデルに投与されると、ニューロンの喪失、行動異常、運動障害、及び生存期間の減少などのＣ９ｏｒｆ７２疾患の病理学的特徴のうち少なくとも１つの症状を改善することができる、［１］～［１７］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００５３】
［１９］
一本鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）、Ｆ（ａｂ’）断片、Ｆ（ａｂ）断片、及びＦ（ａｂ’）$_2$断片からなる群から選択される、［１］～［１８］のいずれか１つに記載の抗体。
【００５４】
［２０］
キメラマウス－ヒト抗体またはマウス化抗体である、［１］～［１９］のいずれか１つに記載の抗体。
【００５５】
［２１］
［１］～［２０］のいずれか１つに記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片またはその免疫グロブリンV_HもしくはV_L鎖をコードする１つ以上のポリヌクレオチド（複数可）であって、場合により、前記ポリヌクレオチドがｃＤＮＡであり、及び／または異種核酸に作動可能に連結している、前記ポリヌクレオチド。
【００５６】
［２１ａ］
［１］～［２０］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片のV_H鎖をコードするポリヌクレオチドであって、前記V_H鎖が、配列番号２４のアミノ酸配列を含むV_L鎖と対になると、Ｃ９ｏｒｆ７２遺伝子から翻訳される少なくとも６リピートのポリＧＡからなるＤＰＲまたはそのＤＰＲ結合性断片に結合し、場合により、前記ポリヌクレオチドがｃＤＮＡであり、及び／または異種核酸に作動可能に連結している、前記ポリヌ

クレオチド。
【００５７】
［２１ｂ］
［１］～［２０］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片の$Ｖ_{L}$鎖をコードするポリヌクレオチドであって、前記$Ｖ_{L}$鎖が、配列番号１２のアミノ酸配列を含む$Ｖ_{H}$鎖と対になると、Ｃ９ｏｒｆ７２遺伝子から翻訳される少なくとも６リピートのポリＧＡからなるＤＰＲまたはそのＤＰＲ結合性断片に結合し、場合により、前記ポリヌクレオチドがｃＤＮＡであり、及び／または異種核酸に作動可能に連結している、前記ポリヌクレオチド。
【００５８】
［２１ｃ］
前記異種核酸が調節エレメントである、［２１］～［２１ｂ］のいずれか１つに記載のポリヌクレオチド（複数可）。
【００５９】
［２１ｄ］
前記異種核酸が、プロモーター、エンハンサー、リボソーム結合部位、または転写ターミネーターであり、場合により、前記プロモーターがサイトメガロウイルス前初期プロモーターである、［２１］～［２１ｂ］のいずれか１つに記載のポリヌクレオチド（複数可）。
【００６０】
［２１ｅ］
前記異種核酸が分泌シグナルペプチドをコードし、場合により、前記分泌シグナルペプチドが哺乳動物シグナルペプチドである、［２１］～［２１ｂ］のいずれか１つに記載のポリヌクレオチド（複数可）。
【００６１】
［２２］
［２１］～［２１ｅ］のいずれか１つに記載のポリヌクレオチド（複数可）を含む１つ以上のベクター（複数可）。
【００６２】
［２３］
［２１］～［２１ｅ］のいずれか１つに記載のポリヌクレオチド（複数可）または［２２］に記載のベクター（複数可）を含む宿主細胞。
【００６３】
［２４］
抗ＤＰＲ抗体の生成のための、［２１］～［２１ｅ］のいずれか１つに記載のポリヌクレオチド（複数可）、［２２］に記載のベクター（複数可）、または［３０］に記載の宿主細胞の使用。
【００６４】
［２５］
抗ＤＰＲ抗体またはその免疫グロブリン鎖（複数可）を調製する方法であって、
（ａ）［２３］に記載の細胞を培養することと、
（ｂ）前記抗体またはその免疫グロブリン鎖（複数可）を前記培養物から単離することと
を含む、前記方法。
【００６５】
［２６］
［２１］～［２１ｅ］のいずれか１つに記載のポリヌクレオチド（複数可）によってコードされるか、または［２５］に記載の方法もしくは［２４］に記載の使用によって得ることができる、抗体またはそのＤＰＲ結合性断片もしくは免疫グロブリン鎖（複数可）。
【００６６】

［２７］
（ｉ）酵素、放射性同位元素、フルオロフォア、タグ、フラッグ、及び重金属からなる群から選択される標識で検出可能に標識されているか、または
（ｉｉ）薬物に結合している、
［１］～［２０］または［２６］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。
【００６７】
［２８］
［１］～［２０］、［２６］または［２７］のいずれか１つに記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、［２１］～［２１ｅ］のいずれか１つに記載のポリヌクレオチド（複数可）、［２２］に記載のベクター（複数可）、または［２３］に記載の細胞を含む、組成物。
【００６８】
［２９］
医薬組成物であり、薬学的に許容される担体をさらに含み、場合によりワクチンである、［２８］に記載の組成物。
【００６９】
［３０］
ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する障害の処置に使用するための医薬組成物を調製する方法であって、
（ａ）［２３］に記載の細胞を培養することと、
（ｂ）前記抗体またはその免疫グロブリン鎖（複数可）を前記培養物から医薬品グレードまで精製することと、
（ｃ）その前記抗体を薬学的に許容される担体と混合することと
を含む、前記方法。
【００７０】
［３１］
診断用組成物またはキットであり、場合により、免疫ベースの診断方法で従来使用されている試薬をさらに含む、［２８］に記載の組成物。
【００７１】
［３２］
ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する疾患の予防的処置に使用するための、［１］～［２０］、［２６］または［２７］のいずれか１つに記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、［２１］に記載のポリヌクレオチド（複数可）、［２２］に記載のベクター（複数可）、または［２３］に記載の細胞。
【００７２】
［３２ａ］
ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する疾患の治療的処置に使用するための、［１］～［２０］、［２６］または［２７］のいずれか１つに記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、［２１］に記載のポリヌクレオチド（複数可）、［２２］に記載のベクター（複数可）、または［２３］に記載の細胞。
【００７３】
［３２ｂ］
ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集体形態に関連または起因する疾患の予防的処置及び治療的処置に使用するための、［１］～［２０］、［２６］または［２７］のいずれか１つに記載の抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、［２１］に記載のポリヌクレオチド（複数可）、［２２］に記載のベクター（複数可）、または［２３］に記載の細胞。
【００７４】
［３３］
前記疾患が、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、及びＦＴ

ＬＤ－ＡＬＳからなる群から選択される、［３２］～［３２ｂ］のいずれか１つに記載の使用のための抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、ポリヌクレオチド（複数可）、ベクター（複数可）、または細胞。

【００７５】

［３４］

前記抗体が、トランスジェニックＣ９ｏｒｆ７２マウスモデルに投与されると、ニューロンの喪失、行動異常、運動障害、及び生存期間の減少などのＣ９ｏｒｆ７２疾患の病理学的特徴のうち少なくとも１つの症状を改善することができる、［３２］～［３２ｂ］及び［３３］のいずれか１つに記載の使用のための抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、ポリヌクレオチド（複数可）、ベクター（複数可）、または細胞。

【００７６】

［３５］

ヒトまたは動物の体内における、ポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質、例えば、凝集したポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質のインビボ検出、あるいはポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質、例えば、凝集したポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質への治療剤及び／または診断剤の標的化に使用するための、［１］～［２０］、［２６］または［２７］のいずれか１つに記載の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００７７】

［３６］

前記インビボ造影が、ポジトロン放出断層撮影（ＰＥＴ）、単一光子放出断層撮影（ＳＰＥＣＴ）、近赤外（ＮＩＲ）、光学造影、または磁気共鳴造影（ＭＲＩ）を含む、［３５］に記載の使用のための抗体またはそのＤＰＲ結合性断片。

【００７８】

さらに本明細書では、ＤＰＲ　Ａｂ－１抗体またはその断片が提供される。また本明細書では、表１２に記載されている相補性決定領域（ＣＤＲ）、重鎖配列、軽鎖配列、可変ドメイン配列、及び／または定常ドメイン配列を含む抗ＤＰＲ抗体またはその断片も提供される。諸実施形態において、抗ＤＰＲ抗体またはその断片は、配列番号３８のアミノ酸配列を有する重鎖と、配列番号４２のアミノ酸配列を有する軽鎖とを含む。

【００７９】

また本明細書では、

（ｉ）配列番号３８のアミノ酸配列を有する抗ＤＰＲ抗体の重鎖をコードする核酸配列、及び／または

（ｉｉ）配列番号４２のアミノ酸配列を有する抗ＤＰＲ抗体の軽鎖をコードする核酸配列

を含む核酸分子も提供され、場合により、核酸配列（ｉ）及び（ｉｉ）は、同じ核酸分子または別々の核酸分子に配置されており、

場合により、核酸分子は、ｃＤＮＡを含み、及び／または異種核酸に作動可能に連結している。

【００８０】

また本明細書では、配列番号５１～５８のヌクレオチド配列のうちの１つ以上を含む核酸分子も提供される。

【００８１】

また本明細書では、本明細書に記載される核酸分子（複数可）を含むベクターも提供される。

【００８２】

また本明細書では、（ｉ）本明細書に記載される核酸分子（複数可）または（ｉｉ）本明細書に記載されるベクター（複数可）を含む宿主細胞も提供される。

【００８３】

いくつかの態様において、本明細書では、抗ＤＰＲ抗体またはその断片の生成のための、本明細書に記載される核酸分子（複数可）、ベクター（複数可）、または宿主細胞の使用が提供される。

【００８４】
いくつかの態様において、本明細書では、抗ＤＰＲ抗体またはその断片を生成する方法であって、（ｉ）本明細書に記載される宿主細胞を培養することと、（ｉｉ）抗体またはその断片を培養物から単離することとを含む、方法が提供される。
【００８５】
また本明細書では、本明細書に記載される抗ＤＰＲ抗体またはその断片、本明細書に記載される核酸分子（複数可）、本明細書に記載されるベクター（複数可）、または本明細書に記載される宿主細胞を含む組成物、例えば、医薬組成物も提供される。諸実施形態において、医薬組成物は、薬学的に許容される担体を含む。諸実施形態において、組成物は、例えば、免疫ベースの診断方法で従来使用されている試薬をさらに含む、診断用組成物またはキットである。
【００８６】
また、処置を必要とする対象の、ＤＰＲ含有タンパク質凝集体、例えば、Ｃ９ＯＲＦ７２　ＤＰＲ含有タンパク質凝集体に関連または起因する障害（例えば、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、またはＦＴＬＤ－ＡＬＳ）を処置する方法であって、本明細書に記載される抗ＤＰＲ抗体またはその断片（例えば、ＤＰＲ　Ａｂ－１、例えば、表１２に示されるアミノ酸配列（複数可）を含むもの）を対象に投与することにより、対象の障害（例えば、ＡＬＳ、ＦＴＬＤ、またはＦＴＬＤ－ＡＬＳ）を処置することを含む、方法も提供される。
【００８７】
また、ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する障害（例えば、ＡＬＳ、ＦＴＬＤ、またはＦＴＬＤ－ＡＬＳ）の処置に使用するための医薬組成物を調製する方法であって、（ｉ）本明細書に記載される宿主細胞を培養することと、（ｉｉ）抗体またはその断片を培養物から医薬品グレードまで単離及び／または精製することと、（ｉｉｉ）抗体またはその断片を薬学的に許容される担体と混合することとを含む、方法も提供される。
【００８８】
本明細書では、ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する障害（例えば、ＡＬＳ、ＦＴＬＤ、またはＦＴＬＤ－ＡＬＳ）を処置する（例えば、予防的及び／または治療的に処置する）のに使用するための、本明細書に記載される抗ＤＰＲ抗体またはその断片（例えば、ＤＰＲ　Ａｂ－１、例えば、表１２に示されるアミノ酸配列（複数可）を含むもの）、本明細書に記載される核酸分子（複数可）、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される宿主細胞が提供される。
【００８９】
本明細書では、ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する障害（例えば、ＡＬＳ、ＦＴＬＤ、またはＦＴＬＤ－ＡＬＳ）の処置（例えば、予防的及び／または治療的な処置）のための医薬を調製するための、本明細書に記載される抗ＤＰＲ抗体またはその断片（例えば、ＤＰＲ　Ａｂ－１、例えば、表１２に示されるアミノ酸配列（複数可）を含むもの）、本明細書に記載される核酸分子（複数可）、本明細書に記載されるベクター、または本明細書に記載される宿主細胞の使用が提供される。
【００９０】
本発明のさらなる実施形態は、以下の説明及び実施例から明らかになるであろう。
【図面の簡単な説明】
【００９１】
【図１】ヒト抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０及びそのバリアントの可変領域のアミノ酸配列。フレームワーク領域（ＦＲ）及び相補性決定領域（ＣＤＲ）が示され、ＣＤＲには下線が引かれている。Ｋａｂａｔ付番スキームを使用した（参照により本明細書に組み込まれる、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｂｉｏｉｎｆ．ｏｒｇ．ｕｋ／ａｂｓ／や、前掲のｗｅｂ参考文献において参照され、ＷＯ２０１６／０５０８２２Ａ２の３９頁及び４０頁の表１に示されるＫａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ

Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，“Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ”（１９８３）を参照のこと）。特記なき限り、本発明の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体における特定のアミノ酸残基の位置の付番への言及は、Ｋａｂａｔ付番システムに従うが、ただし、この付番は理論上のものであり、本発明の抗体すべてに等しく適用されない場合がある。例えば、第１のＣＤＲの位置に応じて、続くＣＤＲがいずれかの方向にシフトする可能性がある。したがって、図１及び／または配列表におけるＣＤＲの表記に関して不注意による誤りや矛盾がある場合、本願の開示内容、すなわち抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の可変重鎖（V_H）及び可変軽鎖（V_L）のアミノ酸配列に基づき、Ｋａｂａｔに従って正しいＣＤＲ配列を決定することは、十分に当業者の裁量の範囲内にあり、この配列が特許請求される抗体及びそのＤＰＲ結合性断片を定義するために使用されるものとする。（Ａ）配列番号２及び７に示される抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の可変重鎖ＶＨ及び軽鎖ＶＫ配列、（Ｂ）配列番号１２に示されるアミノ酸置換Ｎ５４Ｓを有する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントの可変重鎖配列ＶＨ。可変重鎖及び軽鎖配列のＣＤＲ内の好ましいアミノ酸置換は、（ｃ）～（ｅ）に示される可変重鎖配列及び（ｆ）に示される可変軽鎖配列に存在するものを含めて太字で示されている。本明細書においてさらに説明されるように、ＣＤＲ及び／またはフレームワーク領域では、Ｍｉｒｓｋｙ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｅｖｏｌ．３２（２０１４）８０６－８１９の８１３頁、図６、特にＬＧモデルに示されるように、例えば、２つのアミノ酸の位置が変化するような、例えば、おそらく、さもなければ３つ以上のアミノ酸置換が他のＣＤＲのうちの１つ以上に存在するために、類似しているが同一ではない結合特性を有する、ヒト由来抗ポリＧＡ抗体の可変軽鎖に見出されているＶＬ－ＣＤＲ３の「ＰＳ」と「ＳＰ」のような、元のアミノ酸単独の、または隣接するアミノ酸と合わせた生理化学的特性を考慮に入れる保存的アミノ酸置換が好ましい。（Ｃ）配列番号１５に示されるアミノ酸置換Ｎ５４Ｔを有する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントの可変重鎖配列ＶＨ、（Ｄ）配列番号１８に示されるアミノ酸置換Ｇ５５Ｓを有する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントの可変重鎖配列ＶＨ、（Ｅ）配列番号２１に示されるアミノ酸置換Ｇ５５Ｔを有する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントの可変重鎖配列ＶＨ、（Ｆ）配列番号２４に示されるアミノ酸置換Ｎ７５Ｄを有する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントの可変軽鎖配列ＶＫ。

【図２】Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質に対する結合特異性及びEC_{50}の決定。Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチド$(GA)_{15}$（■）（配列番号６６）、$(GP)_{15}$（▲）（配列番号６７）、$(GR)_{15}$（▼）（配列番号６８）、$(PA)_{15}$（◆）（配列番号６９）、$(PR)_{15}$（●）（配列番号７０）、及びＢＳＡ対照（△）に対するヒト由来ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体のEC_{50}を、間接ＥＬＩＳＡによって決定した。抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、０．２６ｎＭの結合親和性でＣ９ｏｒｆ７２ ＤＰＲタンパク質ペプチド$(GA)_{15}$（配列番号６６）を特異的に認識した。

【図３】ＢＳＡにカップリングしたＣ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチド及びカップリングしていないＣ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチドのEC_{50}の決定。ＢＳＡにカップリングしたＣ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチド（▲）及びカップリングしていないＣ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチド（■）の$(GA)_{15}$（配列番号６６）、$(GP)_{15}$（配列番号６７）、$(GR)_{15}$（配列番号６８）、$(PR)_{15}$（配列番号６９）、$(PA)_{15}$（配列番号７０）、またはＢＳＡ対照（△）に対する、ヒト由来ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の半数効果濃度（EC_{50}）の、間接ＥＬＩＳＡを使用した決定。抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、同様の結合親和性で、ＢＳＡにカップリングしたＣ９ｏｒｆ７２ ＤＰＲタンパク質ペプチド（０．１６ｎＭ）と、カップリングしていないＣ９ｏｒｆ７２ ＤＰＲタンパク質ペプチド（０．２３ｎＭ）とを認識した。

【図４】無関係の凝集タンパク質に対するヒト由来抗（ポリＧＡ）ＤＰＲ抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合特異性の分析。Ｃ９ｏｒｆ７２$(GA)_{15}$（配列番号６６）、（Ｇ

Ｐ）$_{15}$（配列番号６７）、（ＧＲ）$_{15}$（配列番号６８）、（ＰＲ）$_{15}$（配列番号７０）、及び（ＰＡ）$_{15}$（配列番号６９）の各ペプチド、ならびに５つの無関係のアミロイド形成タンパク質に対する抗体結合を、間接ＥＬＩＳＡによって決定した。抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０－は、Ｃ９ｏｒｆ７２（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）ペプチドへの結合を示し、無関係の分析物への有意なオフターゲット結合はなかった。ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体は２０ｎＭ濃度で試験した。

【図５】Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質に対するＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の結合選択性。ＢＳＡにカップリングしたＣ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチド（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）、（ＧＰ）$_{15}$（配列番号６７）、（ＧＲ）$_{15}$（配列番号６８）、（ＰＡ）$_{15}$（配列番号６９）、及び（ＰＲ）$_{15}$（配列番号７０）に対する、ヒト由来抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０のＣ９ｏｒｆ７２結合選択性の、ウエスタンブロット分析による決定。Ｃ９ｏｒｆ７２ポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質は、抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０によって認識された。

【図６】抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０のＣ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲタンパク質リピート長依存性結合。Ｃ９ｏｒｆ７２ポリＧＡジペプチドリピートタンパク質ペプチドに対する、ヒト由来ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体のジペプチドリピート長依存性結合特異性及び半数効果濃度（ＥＣ$_{50}$）の、間接ＥＬＩＳＡによる決定。抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、ＤＰＲタンパク質ペプチド（ＧＡ）$_{6}$（配列番号８０）、（ＧＡ）$_{10}$（配列番号７９）、及び（ＧＡ）$_{20}$（配列番号８２）を、結合親和性をもって標的とし、ＥＣ$_{50}$はそれぞれ１３．８ｎＭ、０．３０ｎＭ、及び０．２９ｎＭであった。図６は、記載順に、それぞれ、配列番号７７、７６、７５、７４、７３、７２、及び７１を開示している。

【図７】ポリＧＡ　Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチドに対するＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合のバイオレイヤー干渉法による解析。Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチド（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）に対する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合定数ＫＤ、K_a、及びK_dの、バイオレイヤー干渉法を使用した決定。固定化された合成（ＧＡ）$_{15}$ペプチド（配列番号６６）に対するＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合を示すバイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）センサグラム。３０、１５、７．５、３．７５、及び１．８７５ｎＭの様々な濃度で抗体を分析した。測定は三連で行った。センサグラムは、抗体の各試験濃度について単回の測定値を示しているが、最も高い濃度については、第２のデータセットをさらに示している。抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、（１．５±０．２）×10^{-10}ＭのＫＤ、（１．６３±０．０５）×$10^{5}M^{-1}s^{-1}$のK_a、及び（２．４±０．４）×$10^{-5}s^{-1}$のK_dを示した。

【図８】ＮＩ－３０８．５Ｊ１０及び参照のヒト由来抗ポリＧＡ　ＤＰＲ抗体（ＮＩ－ｍＡｂ参照物）のポリＧＡ　Ｃ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲペプチドへの競合的結合についてのバイオレイヤー干渉法による解析。Ｃ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲペプチド（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）に対する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０及びＮＩ－ｍＡｂ参照物の競合的結合パターンの、バイオレイヤー干渉法を使用した決定。固定化された合成（ＧＡ）$_{15}$ペプチド（配列番号６６）に対するＮＩ－３０８．５Ｊ１０（Ａ）及びＮＩ－ｍＡｂ参照物（Ｂ）の競合的結合を示すバイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）センサグラム。

【図９】抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の完全性の分析。２μｇまたは１０μｇの組換えヒト由来ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗Ｃ９ｏｒｆ７２ポリＧＡ　ＤＰＲ抗体のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析とその後のクーマシーブルー染色。予想されたサイズの抗体の重鎖及び軽鎖に対応する２つの主要なバンドが検出された。

【図１０】ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、ＦＴＬＤ患者における病的なＣ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質凝集体を検出する。（Ａ）ヒト由来ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体により、選択されたＣ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ症例の小脳の顆粒細胞層において、病的な神経細胞質内封入体、神経核内封入体、及び変性神経突起が明らかになった。対照的に、非神経学的対照の小脳は、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０染色に対して陰性であった。（Ｂ）選択されたＣ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ症例の小脳の顆粒細胞層において、抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０により検出された、ニューロンのＣ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲ封入体の代表的な

高倍率画像。
【図１１】変異Ｎ５４Ｓ、Ｎ５４Ｔ、Ｇ５５Ｓ、Ｇ５５Ｔ、及びＮ７５ＤがマッピングされているＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の結晶構造。結晶構造から導き出すことができるように、翻訳後修飾は、抗体の結合部位から遠く離れている。
【図１２】ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体バリアントの完全性の分析。各重鎖変異体と組み合わせたＮ７５Ｄ軽鎖からなる工学操作されたＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体バリアントを、完全なヒトＩｇＧ１としても、またＦａｂとしても生成した。精製されたタンパク質のサイズ及び均一性をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析した。上：ヒトＩｇＧ１：レーン１、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０　ＷＴ／ＷＴ；レーン２、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＷＴ／Ｎ７５Ｄ；レーン３、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＮ５４Ｓ／Ｎ７５Ｄ；レーン４、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＮ５４Ｔ／Ｎ７５Ｄ；レーン５、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＧ５５Ｓ／Ｎ７５Ｄ；レーン６、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＧ５５Ｔ／Ｎ７５Ｄ．；下：ｈｉｓタグ付きＦａｂ：レーン１、ＷＴ－Ｆａｂ－６Ｈｉｓ／ＷＴ　ＮＩ－３０８．５Ｊ１０；レーン２、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＷＴ－Ｆａｂ－６Ｈｉｓ／Ｎ７５Ｄ；レーン３、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＮ５４Ｓ－Ｆａｂ－６Ｈｉｓ／Ｎ７５Ｄ；レーン４、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＮ５４Ｔ－Ｆａｂ－６Ｈｉｓ／Ｎ７５Ｄ；レーン５、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＧ５５Ｓ－Ｆａｂ－６Ｈｉｓ／Ｎ７５Ｄ；レーン６、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＧ５５Ｔ－Ｆａｂ－６Ｈｉｓ／Ｎ７５Ｄ。すべてのタンパク質が予想されたサイズを示し、明らかな凝集体またはタンパク質分解産物はなかった。
【図１３Ａ】ＧＡ（例えば、ポリ（ＧＡ））に対するＤＰＲ　Ａｂ－１　Ｆａｂの結合。表面プラズモン共鳴によって示されるように、ＤＰＲ　Ａｂ－１のＦａｂ断片は、$(GA)_8$リピート（配列番号８１）に結合した。
【図１３Ｂ】結晶構造によって示されるように、ＤＰＲ　Ａｂ－１のＦａｂ断片は、ＧＡリピートペプチドに結合した。
【発明を実施するための形態】
【００９２】
本発明は、広く、ジペプチドリピート（ＤＰＲ）タンパク質、特にその凝集形態の存在に関連する疾患及び状態を検出するための免疫療法及び非侵襲的方法に関する。より詳細には、本発明は、選択されたヒトドナー集団から得られた配列情報に基づいて生成され、かかるＤＰＲ、特にポリグリシン－アラニン（Ｇｌｙ－Ａｌａ；ＧＡ）－ＤＰＲ及びかかるＤＰＲを含むタンパク質に結合することができる、組換えヒト由来モノクローナル抗体及びそのＤＰＲ結合性断片に関する。本発明の組換えヒト由来モノクローナル抗体ならびにその合成誘導体及び生物工学的誘導体は、伸長したヘキサヌクレオチドリピートがＣ９ｏｒｆ７２－ジペプチドリピート（ＤＰＲ）を形成する変化したＣ９ｏｒｆ７２に特異的に結合することを有利な特徴とする。実施例に示すように、本発明の組換え抗体は、偽陽性を示さず、ＤＰＲ及び／または病理学的なＣ９ｏｒｆ７２の検出のための診断試薬としての特異性が高く、また少なくとも可変領域及びＣＤＲをそれぞれコードする配列がヒト由来であり、元の抗体がヒトの体内で成熟するため、治療剤として効果的かつ安全であることが合理的に期待できる。
【００９３】
Ｉ．定義
特記なき限り、本明細書で使用される用語には、Ｏｘｆｏｒｄ　Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ　ｏｆ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　ａｎｄ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｏｘｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｐｒｅｓｓ，１９９７、２０００年改訂及び２００３年再版、ＩＳＢＮ　０　１９　８５０６７３　２に提示されている定義が与えられる。さらに、特記なき限り、本発明の特徴を説明するために本明細書で使用される用語及び表現には、開示内容が参照により本明細書に明示的に組み込まれるＷＯ２０１６／０５０８２２Ａ２、特に、３９頁及び４０頁のＣＤＲの定義に関する表１を含め、２６～５３頁の「Ｉ．Ｄｅｆｉｎｉｔｉｏｎｓ」のサブセクションに提示されている定義が与えられる。

抗体、ポリヌクレオチドなどについてＷＯ２０１６／０５０８２２Ａ２に開示されている実施形態全般にも同じことが当てはまる。

【００９４】

実体に付く「ａ」または「ａｎ」という用語は、その実体が１つ以上あることを意味することに留意されたい。例えば、「抗体（ａｎ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）」は、１つ以上の抗体を表すと理解される。したがって、「ａ」（または「ａｎ」）、「１つ以上」、及び「少なくとも１つ」は、本明細書では同義に使用され得る。

【００９５】

特に明記しない限り、「ＤＰＲ」すなわち「ジペプチドリピート」タンパク質という用語は、本明細書では、特に遺伝子の伸長したヘキサヌクレオチドリピートに起因する、２つのアミノ酸の繰り返し単位を明確に指すために使用される。「ＤＰＲ」及び「ＤＰＲｓ」という用語はまた、すべてのタイプ及び形態のＤＰＲ、例えばＧＡ、ＧＲ、ＧＰ、ＰＡ、ＰＲなどを集合的に指すために使用される。以下では、主に、ＦＬＴＤまたはＡＬＳを患う患者の脳組織に見られるＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲタンパク質において一般的に観察される、ＧＡ、例えば、（ＧＡ）ｎ（ここでｎは１、２、３、４、５、６、またはそれ以上（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、またはそれ以上）であり、例えば、ｎは６～１５（６及び１５を含む）であり、例えば、ｎは１５である）、例えば１５リピートの（GA_{15}）（配列番号６６）、ＧＰ、例えば１５リピートの（GP_{15}）（配列番号６７）、ＧＲ、例えば１５リピートの（GR_{15}）（配列番号６８）、もしくはＰＲ、例えば１５リピートの（PR_{15}）（配列番号７０）、もしくはＰＡ、例えば１５リピートの（PA_{15}）（配列番号６９）のいずれかを含むかまたはそれからなるＤＰＲを特異的に認識する抗体に関して、本発明を説明する。諸実施形態において、本明細書に記載される抗ＤＰＲ抗体は、ＧＡリピートを含むＤＰＲに特異的に結合する。抗Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲ抗体は好ましい実施形態を表すが、本発明は広く抗ＤＰＲタンパク質抗体及び対応する実施形態を提供する。したがって、原則として、本明細書において開示され、実施例及び図に示されるいずれの実施形態及び対応する特徴も、抗Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲのみに適用されることが明確である場合を除き、任意の抗ＤＰＲタンパク質抗体全般にも適用されるよう意図されることが強調される。

【００９６】

ＤＰＲ関連疾患の別の例は、脊髄小脳失調症３６型、緩徐進行性神経変性障害、ならびに成人発症性の歩行失調及び四肢失調、下肢痙縮、構音障害、筋線維束性収縮、舌萎縮、及び反射亢進を特徴とする常染色体優性小脳失調症１型（ＡＤＣＡ　１型）のサブタイプである。一部の罹患者は、難聴を発症する場合もある。例えば、Ｇａｒｃｉａ－Ｍｕｒｉａｓ　ｅｔ　ａｌ，．Ｂｒａｉｎ　１３５（２０１２），１４２３－１４３５を参照されたい。脊髄小脳失調症３６型は、染色体２０ｐ１３のＮＯＰ５６遺伝子におけるイントロンＧＧＣＣＴＧヘキサヌクレオチドリピートのヘテロ接合性伸長に起因することが示された。例えば、Ｇａｒｃｉａ－Ｍｕｒｉａｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｒａｉｎ　１３５（２０１２），１４２３－１４３５、Ｉｋｅｄａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｌｏｇｙ　７９（２０１２），３３３－３４１、Ｋｏｂａｙａｓｈｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｍ．Ｊ．Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅｔ．８９（２０１１），１２１－１３０を参照されたい。

【００９７】

「Ｃ９ＯＲＦ７２」という用語は、特に明記しない限り、第９染色体オープンリーディングフレーム７２（Ｃ９ＯＲＦ７２）の変化形態を指す。「Ｃ９ＯＲＦ７２」という用語は、Ｃ９ＯＲＦ７２－ジペプチドリピート（ＤＰＲ）につながるＣ９ＯＲＦ７２ヘキサヌクレオチド伸長を広く同定するためにも使用される。したがって、この用語はＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲを示すためにも使用される。「Ｃ９ＯＲＦ７２」という用語は、変異型Ｃ９ＯＲＦ７２など、すべてのタイプ及び形態のＣ９ＯＲＦ７２を集合的に指すためにも使用される。Ｃ９ＯＲＦ７２という用語の前に付加される文字は、例えばヒトＣ９ＯＲＦ７２を示すｈＣ９ＯＲＦ７２、またはマウス起源を示すｍＣ９ＯＲＦ７２のように、特定のオルソログの起源となる生物を示すために使用される。

【００９８】
本明細書において開示される抗ＤＰＲ抗体は、場合により、Ｃ９ＯＲＦ７２－ジペプチドリピート（ＤＰＲ）及びそのエピトープに結合する。例えば、本明細書では、病理学的に変化したＣ９ＯＲＦ７２種またはその断片、すなわち伸長したイントロンＣ９ＯＲＦ７２ヘキサヌクレオチドリピートのＣ９ＯＲＦ７２転写物から非従来的に翻訳されたジペプチドリピート、ならびに凝集形態のＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲまたはその断片に特異的に結合する抗体が開示される。（病理学的に）凝集したＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲ／Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲの凝集体という用語は、本明細書では、前述の形態を明確に指すために使用される。本明細書で使用される（病理学的）「凝集形態」または「凝集体」という用語は、伸長したイントロンＣ９ＯＲＦ７２ヘキサヌクレオチドリピートのＣ９ＯＲＦ７２転写物からのＣ９ＯＲＦ７２の誤った／病理学的な翻訳に起因する蓄積またはクラスター形成の産物を表す。これらの凝集体、蓄積物またはクラスター形態は、Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲタンパク質及び／またはその断片から実質的になるか、またはこれらの両方からなる場合がある。本明細書で使用される場合、Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲに「特異的に結合する」、「選択的に結合する」、または「優先的に結合する」抗体への言及は、他の無関係のタンパク質に結合しない抗体を指す。本発明の抗体は、ペアードヘリカルフィラメント（ＰＨＦ）－タウ、ＴＡＵ、トランス活性応答ＤＮＡ結合性タンパク質４３（ＴＤＰ－４３）、トランスサイレチン（ＴＴＲ）、完全長アミロイド前駆体タンパク質（ｆｌＡＰＰ）、及び／またはハンチンチン（ＨＴＴ）からなる群から選択される無関係のアミロイド形成タンパク質を実質的に認識しない。一例において、本明細書において開示されるＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲ抗体は、ＤＰＲ及び／またはＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲもしくはそのエピトープに結合することができ、他のタンパク質についてはバックグラウンドの約２倍を超える結合を示さない。ＤＰＲ及び／またはＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲタンパク質バリアントに「特異的に結合する」または「選択的に結合する」抗体とは、Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲタンパク質のすべてのバリアントに結合するわけではない、すなわち少なくとも１つの他のＣ９ＯＲＦ７２立体構造異性体に結合しない抗体を指す。例えば、本明細書では、インビトロでも、Ｃ９ＯＲＦ７２に関連する疾患を有するかまたはＣ９ＯＲＦ７２に関連する疾患を発症するリスクがある患者から得られた組織でも、ＤＰＲを形成する伸長したヘキサヌクレオチドリピートを示す形態のＣ９ＯＲＦ７２に優先的に結合することができる抗体が開示される。

【００９９】
「ペプチド」という用語は、「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語（これらは本明細書では時に同義に使用され得る）をその意味の範囲内に含むと理解される。同様に、タンパク質及びポリペプチドの断片も想定され、本明細書では「ペプチド」と呼ばれる場合がある。とはいえ、「ペプチド」という用語は、場合により、少なくとも５個の連続するアミノ酸、例えば、少なくとも１０個の連続するアミノ酸、例えば、少なくとも１５個の連続するアミノ酸、例えば、少なくとも２０個の連続するアミノ酸、例えば、少なくとも２５個の連続するアミノ酸を含むアミノ酸ポリマーを意味する。さらに、本発明に係るペプチドは、典型的には、１００個以下の連続するアミノ酸、例えば、８０個未満の連続するアミノ酸または５０個未満の連続するアミノ酸を有する。

【０１００】
本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」という用語は、単一の「ポリペプチド」ならびに複数の「ポリペプチド」を包含することを意図し、アミド結合（ペプチド結合としても知られる）によって直線的に連結された単量体（アミノ酸）から構成される分子を指す。「ポリペプチド」という用語は、２つ以上のアミノ酸からなる任意の１つまたは複数の鎖を指し、生成物の特定の長さを指すものではない。したがって、「ペプチド」、「ジペプチド」、「トリペプチド」、「オリゴペプチド」、「タンパク質」、「アミノ酸鎖」、または２つ以上のアミノ酸からなる１つもしくは複数の鎖を指すために使用される任意の他の用語は、「ポリペプチド」の定義に含まれ、「ポリペプチド」という用語は、これらの用語のうちのいずれかの代わりに、またはそれと同義に使用され得る。

【０１０１】
「ポリペプチド」という用語はまた、既知の保護基／ブロッキング基によるグリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、及び誘導体化、タンパク質分解的切断、または天然に発生しないアミノ酸による修飾を含むがこれらに限定されない、ポリペプチドの発現後修飾の産物を指すことを意図している。ポリペプチドは、天然の生物学的起源に由来する場合も、組換え技術によって生成される場合もあるが、必ずしも指定された核酸配列から翻訳されるとは限らない。ポリペプチドは、化学合成を含む任意の様式で生成され得る。

【０１０２】
本発明のポリペプチドは、アミノ酸約３個以上、５個以上、１０個以上、２０個以上、２５個以上、５０個以上、７５個以上、１００個以上、２００個以上、５００個以上、１，０００個以上、または２，０００個以上のサイズであり得る。ポリペプチドは、規定の三次元構造を有し得るが、必ずしもそのような構造を有するとは限らない。規定の三次元構造を有するポリペプチドは、折り畳まれているといわれ、規定の三次元構造を有しないが多数の異なる立体構造をとることができるポリペプチドは、折り畳まれていないといわれる。本明細書で使用される場合、糖タンパク質という用語は、アミノ酸残基、例えば、セリン残基またはアスパラギン残基の酸素含有側鎖または窒素含有側鎖を介してタンパク質に結合している少なくとも１つの炭水化物部分に結合したタンパク質を指す。

【０１０３】
「単離された」ポリペプチドまたはその断片、バリアント、もしくは誘導体とは、その天然の環境にないポリペプチドを意味する。特定の精製レベルが求められるわけではない。例えば、単離されたポリペプチドは、その天然または自然な環境から取り出されていてもよい。宿主細胞で発現させた組換え生成ポリペプチド及びタンパク質は、任意の好適な技術によって分離されている、分画されている、または部分的もしくは実質的に精製されている天然のポリペプチドまたは組換えポリペプチドと同様に、本発明においては単離されているものとみなす。

【０１０４】
「組換えペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質」とは、組換えＤＮＡ技術によって生成される、すなわち所望のペプチドを含む融合タンパク質をコードする外因性組換えＤＮＡ発現構築物によって形質転換された、微生物または哺乳動物の細胞から生成されるペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質を指す。ほとんどの細菌培養で発現するタンパク質またはペプチドは、典型的にはグリカンを含まない。酵母で発現するタンパク質またはポリペプチドは、哺乳動物細胞で発現するものとは異なるグリコシル化パターンを有する場合がある。

【０１０５】
本発明のポリペプチドとしては、前述のポリペプチドの断片、誘導体、類似体、またはバリアント、ならびに合成バリアントまたは生物学的バリアント及びそれらの任意の組み合わせが含まれる。「断片」、「バリアント」、「誘導体」、及び「類似体」という用語は、天然ペプチドのアミノ酸配列に十分に類似したアミノ酸配列を有するペプチド及びポリペプチドを含む。「十分に類似した」という用語は、第１及び第２のアミノ酸配列が共通構造ドメイン及び／または共通機能活性を有するように、第２のアミノ酸配列に対して同一または同等のアミノ酸残基を、十分なまたは最低限の数含む第１のアミノ酸配列を意味する。例えば、少なくとも約４５％、少なくとも約５０％、少なくとも約５５％、少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、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９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、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％、または少なくとも約１００％同一である共通構造ドメインを含むアミノ酸配列は、本明細書では十分に類似していると定義される。場合により、バリアントは、本発明の好ましいペプチドのアミノ酸配列、特に、変化したＣ９ＯＲＦ７２タンパク質、例えば病理学的なＣ９

ＯＲＦ７２－ＤＰＲ、ならびにそのいずれかのＤＰＲタンパク質単独、バリアント、誘導体、または類似体に十分に類似している。そのようなバリアントは概して、本発明のペプチドの機能活性を保持する。バリアントには、それぞれ天然及び野生型のペプチドから、１つ以上のアミノ酸欠失（複数可）、付加（複数可）、及び／または置換（複数可）によってアミノ酸配列が異なるペプチドが含まれる。これらは、人工的に設計されたものだけでなく、天然に発生するバリアントであってもよい。

【０１０６】

さらに、本発明の抗体または抗体ポリペプチドを指す場合の「断片」、「バリアント」、「誘導体」、及び「類似体」という用語には、対応する天然の結合分子、抗体、またはポリペプチドの抗原結合特性の少なくとも一部を保持する任意のポリペプチドが含まれる。本発明のポリペプチドの断片には、本明細書の他の箇所に記述される特定の抗体断片に加えて、タンパク質分解断片、ならびに欠失断片が含まれる。本発明の抗体及び抗体ポリペプチドのバリアントは、上述の断片のほかに、アミノ酸置換、欠失、または挿入によって変化したアミノ酸配列を有するポリペプチドも含む。バリアントは、天然に発生する場合もあれば、または天然に発生しない場合もある。天然に発生しないバリアントは、当該技術分野において公知の変異誘発技術を使用して生成され得る。バリアントポリペプチドは、保存的または非保存的なアミノ酸置換、欠失、または付加を含んでいてもよい。ＤＰＲタンパク質に特異的に結合する分子、例えば、本発明の抗体及び抗体ポリペプチドの誘導体は、天然ポリペプチドには見られない付加的な特徴を呈するように変化しているポリペプチドである。例としては、融合タンパク質が挙げられる。バリアントポリペプチドは、本明細書では「ポリペプチド類似体」と呼ばれることもある。本明細書で使用される場合、結合分子もしくはその断片、抗体、または抗体ポリペプチドの「誘導体」とは、１つ以上の残基が官能性側基の反応によって化学的に誘導体化されている対象ポリペプチドを指す。「誘導体」としては、２０種の標準アミノ酸の天然に発生するアミノ酸誘導体を１つ以上含むペプチドも含まれる。例えば、４－ヒドロキシプロリンでプロリンを置換することができ、５－ヒドロキシリジンでリジンを置換することができ、３－メチルヒスチジンでヒスチジンを置換することができ、ホモセリンでセリンを置換することができ、オルニチンでリジンを置換することができる。

【０１０７】

分子の類似性及び／または同一性の決定：

２つのペプチド間の「類似性」は、１つのペプチドのアミノ酸配列を第２のペプチドの配列と比較することによって決定される。１つのペプチドのアミノ酸が、第２のペプチドの対応するアミノ酸と同一であるか、または保存的アミノ酸置換であれば、類似性がある。保存的置換としては、Ｄａｙｈｏｆｆ，Ｍ．Ｏ．，ｅｄ．，Ｔｈｅ Ａｔｌａｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ５，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ，Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ，Ｄ．Ｃ．（１９７８）、及びＡｒｇｏｓ，ＥＭＢＯ Ｊ．８（１９８９），７７９－７８５に記載されているものが挙げられる。例えば、次の群のうちの１つに属するアミノ酸は、保存的な変化または置換を表す：－Ａｌａ、Ｐｒｏ、Ｇｌｙ、Ｇｌｎ、Ａｓｎ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ；－Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｙｒ、Ｔｈｒ；－Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｐｈｅ；－Ｌｙｓ、Ａｒｇ、Ｈｉｓ；－Ｐｈｅ、Ｔｙｒ、Ｔｒｐ、Ｈｉｓ；及び－Ａｓｐ、Ｇｌｕ。

【０１０８】

２つのポリヌクレオチド間の「類似性」は、１つのポリヌクレオチドの核酸配列を、あるポリヌクレオチドの配列と比較することによって決定される。１つのポリヌクレオチドの核酸が、第２のポリヌクレオチドの対応する核酸と同一であれば、または核酸がコード配列の一部である場合には、核酸を構成する各トリプレットが、同じアミノ酸もしくは保存的アミノ酸置換をコードすれば、類似性がある。２つの配列間の同一性パーセントまたは類似性パーセントの決定は、場合により、Ｋａｒｌｉｎ ａｎｄ Ａｌｔｓｃｈｕｌ（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ ＵＳＡ ９０：５８７３－５８７

の数学的アルゴリズムを使用して達成される。このようなアルゴリズムは、ＮＣＢＩ（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／Ｂｌａｓｔ．ｃｇｅ）で利用可能なＡｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０のＢＬＡＳＴｎ及びＢＬＡＳＴｐプログラムに組み込まれている。

【０１０９】

同一性パーセントまたは類似性パーセントの決定は、特定の長さ及び組成の配列に関し、ＮＣＢＩウェブページ及び「ＢＬＡＳＴ Ｐｒｏｇｒａｍ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ Ｇｕｉｄｅ」で推奨されている、ＢＬＡＳＴポリヌクレオチド検索用のＢＬＡＳＴｎプログラム及びＢＬＡＳＴタンパク質検索用のＢＬＡＳＴｐプログラムの標準パラメータを用いて行われる。

【０１１０】

ＢＬＡＳＴポリヌクレオチド検索は、ＢＬＡＳＴｎプログラムを用いて行われる。一般的なパラメータについては、短い配列（２０塩基未満）の場合、ＮＣＢＩウェブページにおいて推奨されているように、「Ｍａｘ Ｔａｒｇｅｔ Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ」ボックスを１００に設定してもよく、「Ｓｈｏｒｔ ｑｕｅｒｉｅｓ」ボックスをチェックしてもよく、「Ｅｘｐｅｃｔ ｔｈｒｅｓｈｏｌｄ」ボックス１０００に設定してもよく、「Ｗｏｒｄ Ｓｉｚｅ」ボックスを７に設定してもよい。より長い配列の場合、「Ｅｘｐｅｃｔ ｔｈｒｅｓｈｏｌｄ」ボックスを１０に設定してもよく、「Ｗｏｒｄ Ｓｉｚｅ」ボックスを１１に設定してもよい。スコアリングパラメータについては、「Ｍａｔｃｈ／ｍｉｓｍａｔｃｈ Ｓｃｏｒｅｓ」を１，－２に設定してもよく、「Ｇａｐ Ｃｏｓｔｓ」ボックスをｌｉｎｅａｒに設定してもよい。フィルタ及びマスキングのパラメータについては、「Ｌｏｗ ｃｏｍｐｌｅｘｉｔｙ ｒｅｇｉｏｎｓ」ボックスはチェックしなくてもよく、「Ｓｐｅｃｉｅｓ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ｒｅｐｅａｔｓ」ボックスはチェックしなくてもよく、「Ｍａｓｋ ｆｏｒ ｌｏｏｋｕｐ ｔａｂｌｅ ｏｎｌｙ」ボックスはチェックしてもよく、「ＤＵＳＴ Ｆｉｌｔｅｒ Ｓｅｔｔｉｎｇｓ」はチェックしてもよく、「Ｍａｓｋ ｌｏｗｅｒ ｃａｓｅ ｌｅｔｔｅｒｓ」ボックスはチェックしなくてもよい。この点に関して、一般に、上記の設定のほとんどを行う「Ｓｅａｒｃｈ ｆｏｒ ｓｈｏｒｔ ｎｅａｒｌｙ ｅｘａｃｔ ｍａｔｃｈｅｓ」を使用してもよい。この点に関する詳細情報は、ＮＣＢＩウェブページで公開されている「ＢＬＡＳＴ Ｐｒｏｇｒａｍ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ Ｇｕｉｄｅ」で確認することができる。

【０１１１】

ＢＬＡＳＴタンパク質検索は、ＢＬＡＳＴｐプログラムを用いて行われる。一般的なパラメータについては、「Ｍａｘ Ｔａｒｇｅｔ Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ」ボックスを１００に設定してもよく、「Ｓｈｏｒｔ ｑｕｅｒｉｅｓ」ボックスをチェックしてもよく、「Ｅｘｐｅｃｔ ｔｈｒｅｓｈｏｌｄ」ボックスを１０に設定してもよく、「Ｗｏｒｄ Ｓｉｚｅ」ボックスを「３」に設定してもよい。スコアリングパラメータについては、「Ｍａｔｒｉｘ」ボックスを「ＢＬＯＳＵＭ６２」に設定してもよく、「Ｇａｐ Ｃｏｓｔｓ」ボックスを「Ｅｘｉｓｔｅｎｃｅ：１１ Ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ：１」に設定してもよく、「Ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎａｌ ａｄｊｕｓｔｍｅｎｔｓ」ボックスを「Ｃｏｎｄｉｔｉｏｎａｌ ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎａｌ ｓｃｏｒｅ ｍａｔｒｉｘ ａｄｊｕｓｔｍｅｎｔ」に設定してもよい。フィルタ及びマスキングのパラメータについては、「Ｌｏｗ ｃｏｍｐｌｅｘｉｔｙ ｒｅｇｉｏｎｓ」ボックスはチェックしなくてもよく、「Ｍａｓｋ ｆｏｒ ｌｏｏｋｕｐ ｔａｂｌｅ ｏｎｌｙ」ボックスはチェックしなくてもよく、「Ｍａｓｋ ｌｏｗｅｒ ｃａｓｅ ｌｅｔｔｅｒｓ」ボックスはチェックしなくてもよい。

【０１１２】

両プログラムを、例えば、検索する配列の長さに関して変更する場合は、ＮＣＢＩウェブページでＨＴＭＬ及びＰＤＦ版が公開されている「ＢＬＡＳＴ Ｐｒｏｇｒａｍ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ Ｇｕｉｄｅ」の推奨に従って行う。

【０１１３】

ポリヌクレオチド：
「ポリヌクレオチド」という用語は、単一の核酸ならびに複数の核酸を包含することを意図し、単離された核酸分子または構築物、例えば、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）またはプラスミドＤＮＡ（ｐＤＮＡ）を指す。ポリヌクレオチドは、従来のホスホジエステル結合または非従来型結合（例えば、ペプチド核酸（ＰＮＡ）に見られるようなアミド結合）を含み得る。「核酸」という用語は、ポリヌクレオチドに存在する任意の１つ以上の核酸セグメント、例えば、ＤＮＡまたはＲＮＡ断片を指す。「単離された」核酸またはポリヌクレオチドとは、天然の環境から取り出された核酸分子、ＤＮＡ、またはＲＮＡを意味する。例えば、ベクターに含まれる抗体をコードする組換えポリヌクレオチドは、本発明においては単離されているものとみなされる。単離されたポリヌクレオチドのさらなる例としては、異種宿主細胞で維持される組換えポリヌクレオチドまたは溶液中の（部分的もしくは実質的に）精製されたポリヌクレオチドが挙げられる。単離されたＲＮＡ分子には、本発明のポリヌクレオチドのインビボまたはインビトロＲＮＡ転写物が含まれる。本発明に係る単離されたポリヌクレオチドまたは核酸は、合成的に生成されたかかる分子をさらに含む。さらに、ポリヌクレオチドまたは核酸は、プロモーター、リボソーム結合部位、または転写ターミネーターなどの調節エレメントであってもよいし、それらを含んでいてもよい。

【０１１４】
本明細書で使用される場合、「コード領域」は、核酸のうち、アミノ酸に翻訳されるコドンからなる部分である。「終止コドン」（ＴＡＧ、ＴＧＡ、またはＴＡＡ）はアミノ酸に翻訳されないが、コード領域の一部とみなされる場合がある。しかし、フランキング配列、例えばプロモーター、リボソーム結合部位、転写ターミネーター、イントロンなどはいずれも、コード領域の一部ではない。２つ以上の本発明のコード領域が、単一のポリヌクレオチド構築物、例えば単一のベクターに存在してもよいし、または別々のポリヌクレオチド構築物、例えば別々の（異なる）ベクターに存在してもよい。さらに、任意のベクターは、単一のコード領域を含んでいてもよいし、または２つ以上のコード領域を含んでいてもよい。例えば、単一のベクターが、免疫グロブリン重鎖可変領域と免疫グロブリン軽鎖可変領域とを別々にコードしてもよい。さらに、本発明のベクター、ポリヌクレオチド、または核酸は、結合分子、抗体、またはそれらの断片、バリアント、もしくは誘導体をコードする核酸に融合しているか、あるいは融合していない、異種コード領域をコードしてもよい。異種コード領域は、分泌シグナルペプチドまたは異種機能ドメインなどの特殊なエレメントまたはモチーフを含むが、これらに限定されない。

【０１１５】
ある特定の実施形態では、ポリヌクレオチドまたは核酸はＤＮＡである。ＤＮＡの場合、ポリペプチドをコードする核酸を構成するポリヌクレオチドは、通常、１つ以上のコード領域に作動可能に会合しているプロモーター及び／または他の転写もしくは翻訳を制御するエレメントを含み得る。作動可能な会合とは、遺伝子産物、例えばポリペプチドのコード領域が、遺伝子産物の発現を調節配列（複数可）の影響下または制御下に置くように、１つ以上の調節配列と会合する場合である。２つのＤＮＡ断片（例えば、ポリペプチドコード領域及びそれに会合したプロモーター）は、プロモーター機能の誘導が、所望の遺伝子産物をコードするｍＲＮＡの転写をもたらす場合、そして、２つのＤＮＡ断片間の結合の性質が、遺伝子産物の発現を指示する発現調節配列の能力に干渉したり、転写されるＤＮＡ鋳型の能力に干渉したりしない場合に、「作動可能に会合」または「作動可能に連結」している。したがって、プロモーターが、ポリペプチドをコードする核酸の転写をもたらすことができれば、プロモーター領域は、この核酸に作動可能に会合していることになる。プロモーターは、所定の細胞においてのみＤＮＡの実質的な転写を指示する細胞特異的プロモーターであってもよい。プロモーターに加えて、他の転写制御エレメント、例えばエンハンサー、オペレーター、リプレッサー、及び転写終結シグナルが、細胞特異的転写を指示するようにポリヌクレオチドに作動可能に会合していてもよい。本明細書では、好適なプロモーター及び他の転写制御領域を開示している。

【０１１６】
当業者には、様々な転写制御領域が知られている。これらは、限定されるものではないが、例えば、サイトメガロウイルス（イントロンＡと合わせた前初期プロモーター）、サルウイルス４０（初期プロモーター）、及びレトロウイルス（例えばラウス肉腫ウイルス）のプロモーター及びエンハンサーセグメントなど、脊椎動物細胞において機能する転写制御領域を含むが、これらに限定されない。他の転写制御領域には、アクチン、熱ショックタンパク質、ウシ成長ホルモン、及びウサギβ－グロビンなどの脊椎動物遺伝子に由来するもの、ならびに真核細胞での遺伝子発現を制御することができる他の配列が含まれる。さらなる好適な転写制御領域としては、組織特異的プロモーター及びエンハンサー、ならびにリンホカイン誘導性プロモーター（例えば、インターフェロンまたはインターロイキンによって誘導できるプロモーター）が挙げられる。
【０１１７】
同様に、当業者には、様々な翻訳制御エレメントが知られている。これらは、リボソーム結合部位、翻訳開始コドン及び終結コドン、ならびにピコルナウイルスに由来するエレメント（特に、ＣＩＴＥ配列とも呼ばれる内部リボソーム侵入部位またはＩＲＥＳ）を含むが、これらに限定されない。
【０１１８】
他の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、例えば、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）の形態のＲＮＡである。
【０１１９】
本発明のポリヌクレオチド及び核酸コード領域は、本発明のポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの分泌を指示する分泌性ペプチドまたはシグナルペプチドをコードするさらなるコード領域に会合していてもよい。シグナル仮説によれば、哺乳動物細胞によって分泌されるタンパク質は、成長中のタンパク質鎖が粗面小胞体を通して排出され始めると成熟タンパク質から切断されるシグナルペプチドまたは分泌リーダー配列を有する。当業者であれば、脊椎動物細胞によって分泌されるポリペプチドが、通常、ポリペプチドのＮ末端に融合したシグナルペプチドを有し、これが完全なまたは「完全長」のポリペプチドから切断されて、分泌型または「成熟」型のポリペプチドが生成されることを認識している。ある特定の実施形態では、天然のシグナルペプチド、例えば、免疫グロブリン重鎖もしくは軽鎖シグナルペプチド、または作動可能に会合しているポリペプチドの分泌を指示する能力を保持するその配列の機能的誘導体が使用される。代替的には、異種哺乳動物シグナルペプチド、またはその機能的誘導体を使用してもよい。例えば、野生型リーダー配列を、ヒト組織プラスミノーゲン活性化因子（ＴＰＡ）またはマウスβ－グルクロニダーゼのリーダー配列で置換してもよい。
【０１２０】
本発明の文脈で使用される「結合分子」は、主に抗体及びその断片に関するが、ジペプチドリピート（ＤＰＲ）タンパク質に結合し、場合により、変化したＣ９ＯＲＦ７２、特に（病理学的に）変化したＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲに結合する、他の非抗体分子を指す場合もあり、この非抗体分子としては、ホルモン、受容体、リガンド、主要組織適合抗原（ＭＨＣ）分子、熱ショックタンパク質（ＨＳＰ）などのシャペロンならびにカドヘリン、インテグリン、Ｃ型レクチン、及び免疫グロブリン（Ｉｇ）の各スーパーファミリーに属するメンバーなどの細胞間接着分子が挙げられるが、これらに限定されない。したがって、以下の実施形態のほとんどは、分かりやすくすることのみを目的として、本発明の範囲を制限することなく、治療剤及び診断剤の開発のための好ましい結合分子を代表する抗体及び抗体様分子に関して記述される。
【０１２１】
抗体：
「抗体」及び「免疫グロブリン」という用語は、本明細書では同義に使用される。抗体または免疫グロブリンは、少なくとも重鎖の可変ドメインを含む結合分子であり、通常、少なくとも重鎖及び軽鎖の可変ドメインを含む。脊椎動物系における基本的な免疫グロブ

リンの構造は比較的よく理解されている。例えば、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．１９８８）を参照されたい。

【０１２２】

以下にさらに詳細に記述するように、「免疫グロブリン」という用語は、生化学的に区別することができる様々な幅広いクラスのポリペプチドを含む。重鎖がガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、またはイプシロン（γ、μ、α、δ、ε）に分類され、これらの中にはいくつかのサブクラス（例えば、γ１～γ４）があることは、当業者には理解されよう。抗体の「クラス」をそれぞれＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ ＩｇＧ、またはＩｇＥと決定するのは、この鎖の性質である。免疫グロブリンのサブクラス（アイソタイプ）、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１などは十分に解析されており、機能の特殊化をもたらすことが知られている。これらのクラス及びアイソタイプのそれぞれの変化型は、本開示内容を鑑みれば当業者には容易に認識可能であり、したがって、本発明の範囲内にある。すべての免疫グロブリンのクラスが明らかに本発明の範囲内にあり、以下の記述は概して、免疫グロブリン分子のＩｇＧクラスに関するものである。ＩｇＧに関しては、標準的な免疫グロブリン分子は、分子量およそ２３，０００ダルトンの２つの同一の軽鎖ポリペプチドと、分子量５３，０００～７０，０００の２つの同一の重鎖ポリペプチドとを含む。これら４つの鎖は、典型的に、ジスルフィド結合によって結合されて「Ｙ」構成をなし、軽鎖が「Ｙ」の分岐点から始まって可変領域の全体にわたり、重鎖を挟む。

【０１２３】

軽鎖は、カッパまたはラムダ（κ、λ）のいずれかに分類される。各重鎖クラスには、カッパまたはラムダのいずれかの軽鎖が結合し得る。概して、軽鎖及び重鎖は互いに共有結合しており、２つの重鎖の「尾」部分は、免疫グロブリンがハイブリドーマ、Ｂ細胞、または遺伝子工学操作された宿主細胞のいずれかによって生成される場合、共有ジスルフィド結合または非共有結合によって互いに結合している。重鎖では、アミノ酸配列は、Ｙ構成の分岐の両端にあるＮ末端から、各鎖の端にあるＣ末端まで続く。

【０１２４】

軽鎖と重鎖の両方が、構造的及び機能的に相同な領域に分けられる。「定常」及び「可変」という用語は、機能的に使用される。これに関して、軽鎖の可変ドメイン（V_L）部分と重鎖の可変ドメイン（V_H）部分との両方が抗原認識及び特異性を決定することは理解されよう。反対に、軽鎖の定常ドメイン（ＣＬ）及び重鎖の定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２、またはＣＨ３）は、分泌、経胎盤可動性、Ｆｃ受容体結合、補体結合などの重要な生物学的特性をもたらす。慣例により、定常領域ドメインの番号は、抗体の抗原結合部位またはアミノ末端から遠位になるにつれて大きくなる。Ｎ末端部分は可変領域であり、Ｃ末端部分には定常領域がある。ＣＨ３及びＣＬドメインは実際、それぞれ重鎖及び軽鎖のカルボキシ末端を含む。

【０１２５】

上記のように、可変領域は、抗体が抗原のエピトープを選択的に認識して特異的に結合することを可能にする。つまり、抗体のV_Lドメイン及びV_Hドメイン、または相補性決定領域（ＣＤＲ）のサブセットが組み合わさって、三次元の抗原結合部位を決める可変領域を形成する。この四次抗体構造は、Ｙの各アームの端部に存在する抗原結合部位を形成する。より詳細には、抗原結合部位は、V_H及びV_L鎖のそれぞれにある３つのＣＤＲによって決まる。ＤＰＲ、特に、Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲを形成する変化したＣ９ＯＲＦ７２に特異的に結合するのに十分な構造を含む、あらゆる抗体または免疫グロブリン断片は、本明細書では「結合性断片」または「免疫特異的断片」と同義を示す。

【０１２６】

天然に発生する抗体では、抗体は、各抗原結合性ドメインに存在する、「相補性決定領域」または「ＣＤＲ」と呼ばれることもある６つの超可変領域を含み、超可変領域は、抗

体が水性環境で三次元構成をとると抗原結合性ドメインを形成するように特異的に配置されたアミノ酸の短い非連続的な配列である。「ＣＤＲ」には、少ない分子間変動を示す比較的保存された４つの「フレームワーク」領域すなわち「ＦＲ」がフランキングしている。フレームワーク領域は大部分がβシート立体構造をとり、ＣＤＲはループを形成し、このループがβシート構造を接続し、場合によってはその一部を形成する。したがって、フレームワーク領域は、鎖間の非共有結合相互作用によってＣＤＲを正しい位置に配置するための足場を形成するように機能する。配置されたＣＤＲによって形成される抗原結合性ドメインは、免疫反応性抗原のエピトープに相補的な表面を決める。この相補的な表面は、同族エピトープに対する抗体の非共有結合を促進する。ＣＤＲ及びフレームワーク領域を構成するアミノ酸は、それぞれ、詳細に定義されているため（全体が参照により本明細書に組み込まれる、“Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，”Ｋａｂａｔ，Ｅ．，ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，（１９８３）、及びＣｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９６（１９８７），９０１－９１７を参照されたい）、重鎖または軽鎖の可変領域のいずれについても、当業者によって容易に同定され得る。

【０１２７】

ある用語に、当該技術分野で使用及び／または許容されている２つ以上の定義がある場合は、本明細書で使用されるその用語の定義は、相反する明確な記述がない限り、そのような意味をすべて含むことを意図する。具体的な例は、重鎖ポリペプチド及び軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見られる、隣接していない抗原結合部位を説明するために、「相補性決定領域」（「ＣＤＲ」）という用語を使用することである。この特定の領域については、参照により本明細書に組み込まれるＫａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，“Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ”（１９８３）、及びＣｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９６（１９８７），９０１－９１７に記載されており、その定義には、互いに比較したときのアミノ酸残基の重複またはサブセットが含まれる。とはいえ、いずれかの定義を適用して抗体またはそのバリアントのＣＤＲを指すことは、本明細書で定義及び使用される用語の範囲内にあることが意図される。上記の参考文献のそれぞれによって定義される、ＣＤＲに包まれる適切なアミノ酸残基を、比較として以下の表１に示す。特定のＣＤＲに包まれる残基の厳密な番号は、ＣＤＲの配列及びサイズによって異なる。当業者は、ヒトＩｇＧサブタイプの抗体の可変領域のアミノ酸配列を考慮すれば、どの残基が抗体の特定の超可変領域またはＣＤＲを構成するかを定法により決定することができる。

【表１】

表１：ＣＤＲの定義[1]

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

[1]表１におけるすべてのＣＤＲ定義の付番は、Ｋａｂａｔらによって定められた付番規定（下記参照）に従う。

【０１２８】
Ｋａｂａｔらはまた、あらゆる抗体に適用できる可変ドメイン配列の付番システムも定義した。当業者は、配列自体のほかに何らかの実験データに依存することなく、この「Ｋａｂａｔ付番」システムを任意の可変ドメイン配列に確実に適用することができる。本明細書で使用される場合、「Ｋａｂａｔ付番」は、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，“Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ”（１９８３）によって示された付番システムを指す。特記なき限り、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、バリアント、もしくは誘導体における特定のアミノ酸残基の位置の付番への言及は、Ｋａｂａｔ付番システムに従うが、ただし、この付番は理論上のものであり、本発明の抗体すべてに等しく適用されない場合がある。例えば、第１のＣＤＲの位置に応じて、続くＣＤＲがいずれかの方向にシフトする可能性がある。

【０１２９】
本発明の抗体またはその断片（例えば、抗原結合性断片または免疫特異的断片）、そのバリアント、もしくは誘導体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、多重特異性抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、霊長類化抗体、マウス化抗体またはキメラ抗体、一本鎖抗体、エピトープ結合性断片、例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’及びＦ（ａｂ’）２、Ｆｄ、Ｆｖ、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、一本鎖抗体、ジスルフィド結合Ｆｖ（ｓｄＦｖ）、ＶＬまたはＶＨのいずれかのドメインを含む断片、Ｆａｂ発現ライブラリによって生成された断片、及び抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体（例えば、本明細書において開示される抗体に対する抗Ｉｄ抗体を含む）を含むが、これらに限定されない。ＳｃＦｖ分子は当該技術分野において公知であり、例えば、米国特許第５，８９２，０１９号に記載されている。本発明の免疫グロブリンまたは抗体分子は、任意のタイプ（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＹ）、クラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、及びＩｇＡ２）、またはサブクラスの免疫グロブリン分子であってよい。

【０１３０】
一実施形態において、本発明の抗体は、五価構造を有するＩｇＭまたはその誘導体ではない。特に、ＩｇＭは五価構造をもち、親和性成熟が起こらないことから、非特異的な交差反応性及び非常に低い親和性を示すことが多いため、ＩｇＭは、本発明の特定の用途、特に治療用途において、ＩｇＧ及び他の二価抗体または対応する結合分子よりも有用性が低い。特に好ましい実施形態において、本発明の抗体はポリクローナル抗体ではない。すなわち、血漿免疫グロブリン試料から得られた混合物ではなく、１つの特定の抗体種から実質的になる。

【０１３１】
一本鎖抗体を含めた抗体断片は、可変領域（複数可）を単独で、またはヒンジ領域、ＣＨ１ドメイン、ＣＨ２ドメイン、及びＣＨ３ドメインの全体もしくは一部と組み合わせて含み得る。本発明には、可変領域（複数可）とヒンジ領域、ＣＨ１ドメイン、ＣＨ２ドメイン、及びＣＨ３ドメインとの任意の組み合わせを含むＤＰＲ結合性断片も含まれる。本発明の抗体またはその免疫特異的断片は、鳥及び哺乳動物を含む任意の動物起源に由来し得る。場合により、抗体は、ヒト、マウス、ロバ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ラマ、ウマ、またはニワトリの抗体である。別の実施形態では、可変領域は、コンドリクトイド（ｃｏｎｄｒｉｃｔｈｏｉｄ）由来（例えば、サメ由来）であり得る。

【０１３２】
本明細書で使用される場合、「重鎖部分」または「重鎖」または「重鎖領域」という用語は、免疫グロブリン重鎖に由来するアミノ酸配列を含む。重鎖部分を含むポリペプチドは、ＣＨ１ドメイン、ヒンジ（例えば、上部、中間部、及び／または下部ヒンジ領域）ドメイン、ＣＨ２ドメイン、ＣＨ３ドメイン、またはそれらのバリアントもしくは断片のうちの少なくとも１つを含む。例えば、本発明で使用するための結合ポリペプチドは、ＣＨ１ドメインを含むポリペプチド鎖か、ＣＨ１ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部

、及びＣＨ２ドメインを含むポリペプチド鎖か、ＣＨ１ドメイン及びＣＨ３ドメインを含むポリペプチド鎖か、ＣＨ１ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部、及びＣＨ３ドメインを含むポリペプチド鎖か、またはＣＨ１ドメイン、ヒンジドメインの少なくとも一部、ＣＨ２ドメイン、及びＣＨ３ドメインを含むポリペプチド鎖を含み得る。別の実施形態では、本発明のポリペプチドは、ＣＨ３ドメインを含むポリペプチド鎖を含む。さらに、本発明で使用するための結合ポリペプチドは、ＣＨ２ドメインの少なくとも一部（例えば、ＣＨ２ドメインの全部または一部）を欠いていてもよい。上記のように、これらのドメイン（例えば、重鎖部分）が、天然に発生する免疫グロブリン分子とアミノ酸配列が異なるように改変され得ることは、当業者には理解されよう。

【０１３３】

本明細書において開示される、ある特定の抗体、またはその抗原結合性断片、バリアント、もしくは誘導体において、多量体の１つのポリペプチド鎖の重鎖部分は、多量体の第２のポリペプチド鎖上のものと同一である。代替的には、本発明の重鎖部分を含む単量体は同一ではない。例えば、各単量体が異なる標的結合部位を含み、例えば二重特異性抗体またはダイアボディを形成してもよい。

【０１３４】

別の実施形態では、本明細書において開示される抗体、またはその抗原結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、ｓｃＦｖのように単一のポリペプチド鎖から構成され、考えられるインビボでの治療用途及び診断用途のために細胞内で発現される（細胞内抗体）。

【０１３５】

本明細書において開示される診断及び処置の方法で使用するための結合ポリペプチドの重鎖部分は、異なる免疫グロブリン分子に由来してもよい。例えば、ポリペプチドの重鎖部分は、ＩｇＧ１分子に由来するＣＨ１ドメインと、ＩｇＧ３分子に由来するヒンジ領域とを含み得る。別の例では、重鎖部分は、一部はＩｇＧ１分子に由来し、一部はＩｇＧ３分子に由来する、ヒンジ領域を含み得る。別の例では、重鎖部分は、一部はＩｇＧ１分子に由来し、一部はＩｇＧ４分子に由来する、キメラヒンジを含み得る。

【０１３６】

本明細書で使用される場合、「軽鎖部分」または「軽鎖」または「軽鎖領域」という用語は、免疫グロブリン軽鎖に由来するアミノ酸配列を含む。場合により、軽鎖部分は、ＶＬドメインまたはＣＬドメインのうちの少なくとも１つを含む。

【０１３７】

抗体のペプチドまたはポリペプチドエピトープの最小サイズは、アミノ酸約４～５個分であると考えられている。ペプチドまたはポリペプチドエピトープは、場合により、少なくとも７個、場合により少なくとも９個、または場合により少なくとも約１５個～約３０個のアミノ酸を含む。ＣＤＲは抗原性ペプチドまたはポリペプチドを三次形態で認識できるため、エピトープを構成するアミノ酸は連続している必要はなく、場合によっては、同じペプチド鎖にないことすらある。本発明において、本発明の抗体によって認識されるペプチドまたはポリペプチドエピトープは、例えば、Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲに見られるＧＡ$_{15}$（配列番号６６）のようなＤＰＲの、少なくとも４個、少なくとも５個、少なくとも６個、少なくとも７個、場合により少なくとも８個、少なくとも９個、少なくとも１０個、少なくとも１５個、少なくとも２０個、少なくとも２５個、または約１５個～約３０個の連続または非連続のアミノ酸の配列を含む。言い換えれば、本発明の抗体またはその生物工学的誘導体は、場合により、２つの異なるアミノ酸Ｘ及びＸ’からなるジペプチド（ＸＸＸ及びＸＸＸ’、ＸａａＸａａ’）のリピート数が例えば３～５０、場合により１０～４０、場合により１５～３０、または場合により１５であるＤＰＲを認識する。したがって、本発明の抗体またはその生物工学的誘導体によって認識されるエピトープまたは抗原は、リピート数が１５のＤＰＲからなる場合、概して、（ＸＸ’）$_{15}$と表記され得る。

【０１３８】

「特異的に結合する」または「特異的に認識する」は、本明細書では同義に使用され、概して、結合分子、例えば抗体が、その抗原結合性ドメインを介してエピトープに結合すること、及び該結合が、抗原結合性ドメインとエピトープとの間にある程度の相補性を必要とすることを意味する。この定義によれば、抗体が、その抗原結合性ドメインを介して、ランダムな無関係のエピトープに結合するよりも容易にエピトープに結合する場合、この抗体は該エピトープに「特異的に結合する」といえる。「特異性」という用語は、本明細書では、ある特定の抗体がある特定のエピトープに結合する相対的親和性を限定するために使用される。例えば、抗体「Ａ」が所与のエピトープに対して抗体「Ｂ」より高い特異性を有するとみなされる場合や、抗体「Ａ」が関連するエピトープ「Ｄ」に対して有する特異性よりも高い特異性でエピトープ「Ｃ」に結合するという場合がある。

【０１３９】

存在する場合、「免疫学的結合特性」という用語、または抗体の抗原との他の結合特性は、すべての文法的形態において、抗体の特異性、親和性、交差反応性、及び他の結合特性を指す。

【０１４０】

「優先的に結合する」とは、結合分子、例えば抗体が、あるエピトープに対して、関連する、同様の、相同の、または類似のエピトープに結合するよりも容易に特異的に結合することを意味する。したがって、所与のエピトープに「優先的に結合する」抗体は、かかる抗体が関連するエピトープと交差反応する場合があるとしても、関連するエピトープよりも所与のエピトープに結合する傾向が強い。

【０１４１】

非限定的な例として、結合分子、例えば抗体は、第２のエピトープに対する抗体のＫＤよりも小さい解離定数（ＫＤ）で第１のエピトープに結合する場合、該第１のエピトープに優先的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例において、抗体は、第２のエピトープに対する抗体のＫＤより少なくとも１桁小さい親和性で第１のエピトープに結合する場合、第１の抗原に優先的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例において、抗体は、第２のエピトープに対する抗体のＫＤより少なくとも２桁小さい親和性で第１のエピトープに結合する場合、第１のエピトープに優先的に結合するとみなされ得る。

【０１４２】

別の非限定的な例において、結合分子、例えば抗体は、第２のエピトープに対する抗体のオフ速度（ｋ（ｏｆｆ））よりも低いｋ（ｏｆｆ）で第１のエピトープに結合する場合、第１のエピトープに優先的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例において、抗体は、第２のエピトープに対する抗体のｋ（ｏｆｆ）より少なくとも１桁小さい親和性で第１のエピトープに結合する場合、第１のエピトープに優先的に結合するとみなされ得る。別の非限定的な例において、抗体は、第２のエピトープに対する抗体のｋ（ｏｆｆ）より少なくとも２桁小さい親和性で第１のエピトープに結合する場合、第１のエピトープに優先的に結合するとみなされ得る。

【０１４３】

本明細書において開示される結合分子、例えば、抗体または抗原結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、ＤＰＲまたはその断片、バリアント、もしくは特定の立体構造に、$5\times10^{-2}sec^{-1}$、$10^{-2}sec^{-1}$、$5\times10^{-3}sec^{-1}$、または$10^{-3}sec^{-1}$以下のオフ速度（ｋ（ｏｆｆ））で結合するということができる。場合により、本発明の抗体は、ＤＰＲタンパク質またはその断片、バリアント、もしくは特定の立体構造に、$5\times10^{-4}sec^{-1}$、$10^{-4}sec^{-1}$、$5\times10^{-5}sec^{-1}$、または$10^{-5}sec^{-1}$、$5\times10^{-6}sec^{-1}$、$10^{-6}sec^{-1}$、$5\times10^{-7}sec^{-1}$、または$10^{-7}sec^{-1}$以下のオフ速度（ｋ（ｏｆｆ））で結合するということができる。特に好ましい実施形態において、ＤＰＲは、Ｃ９ＯＲＦ７２に会合したＤＰＲ、すなわちＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲである。

【０１４４】

本明細書において開示される結合分子、例えば、抗体または抗原結合性断片、バリアン

ト、もしくは誘導体は、ＤＰＲ、またはその断片、バリアント、もしくは特定の立体構造に、$10^{3}M^{-1}sec^{-1}$、$5\times10^{3}M^{-1}sec^{-1}$、$10^{4}M^{-1}sec^{-1}$、または$5\times10^{4}M^{-1}sec^{-1}$以上のオン速度（ｋ（ｏｎ））で結合するということができる。場合により、本発明の抗体は、ＤＰＲまたはその断片、バリアント、もしくは特定の立体構造に、$10^{5}M^{-1}sec^{-1}$、$5\times10^{5}M^{-1}sec^{-1}$、$10^{6}M^{-1}sec^{-1}$、または$5\times10^{6}M^{-1}sec^{-1}$、または$10^{7}M^{-1}sec^{-1}$以上のオン速度（ｋ（ｏｎ））で結合するということができる。一実施形態において、結合分子は、Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲ、またはその断片、バリアント、もしくは特定の立体構造に、$10^{3}M^{-1}sec^{-1}$、$5\times10^{3}M^{-1}sec^{-1}$、$10^{4}M^{-1}sec^{-1}$、または$5\times10^{4}M^{-1}sec^{-1}$以上のオン速度（ｋ（ｏｎ））で結合するということができる。場合により、本発明の抗体は、Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲまたはその断片、バリアント、もしくは特定の立体構造に、$10^{5}M^{-1}sec^{-1}$、$5\times10^{5}M^{-1}sec^{-1}$、$10^{6}M^{-1}sec^{-1}$、または$5\times10^{6}M^{-1}sec^{-1}$、または$10^{7}M^{-1}sec^{-1}$以上のオン速度（ｋ（ｏｎ））で結合するということができる。

【０１４５】

結合分子、例えば抗体は、参照抗体がエピトープに結合するのをある程度ブロックする程度まで当該エピトープに優先的に結合する場合、所与のエピトープに対する参照抗体の結合を競合的に阻害するといわれる。競合的阻害は、当該技術分野において公知の任意の方法、例えば、競合ＥＬＩＳＡアッセイによって決定することができる。抗体は、所与のエピトープに対する参照抗体の結合を、少なくとも９０％、少なくとも８０％、少なくとも７０％、少なくとも６０％、または少なくとも５０％競合的に阻害するといわれることがある。

【０１４６】

本明細書で使用される場合、「親和性」という用語は、結合分子、例えば免疫グロブリン分子のＣＤＲとの、個々のエピトープの結合強度の尺度を指す。例えば、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．（１９８８）の２７～２８頁を参照されたい。本明細書で使用される場合、「アビディティ」という用語は、免疫グロブリンの集団と抗原との複合体の全体的な安定性、つまり、免疫グロブリン混合物と抗原との機能的結合強度を指す。例えば、Ｈａｒｌｏｗの２９～３４頁を参照されたい。アビディティは、集団内の個々の免疫グロブリン分子の、特定のエピトープとの親和性と、免疫グロブリン及び抗原の価数との両方に関連する。例えば、二価モノクローナル抗体と、ポリマーなどの高度に反復するエピトープ構造を有する抗原との間の相互作用は、アビディティが高いものとなる。抗原に対する抗体の親和性またはアビディティは、任意の好適な方法（例えば、Ｂｅｒｚｏｆｓｋｙ ｅｔ ａｌ．，“Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ａｎｔｉｇｅｎ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ”Ｉｎ Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｐａｕｌ，Ｗ．Ｅ．，Ｅｄ．，Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ（１９８４）、Ｋｕｂｙ，Ｊａｎｉｓ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ（１９９２）を参照されたい）、及び本明細書に記載される方法を使用して実験的に決定することができる。抗原に対する抗体の親和性を測定するための一般的な技術には、ＥＬＩＳＡ、ＲＩＡ、及び表面プラズモン共鳴が含まれる。特定の抗体－抗原相互作用の親和性の測定値は、異なる条件、例えば、塩濃度、ｐＨで測定された場合、異なり得る。したがって、親和性及び他の抗原結合パラメータ、例えば、ＫＤ、IC_{50}の測定は、場合により、抗体及び抗原の標準溶液、及び標準バッファーを用いて行われる。

【０１４７】

本発明の結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、交差反応性という観点から説明または規定することもできる。本明細書で使用される場合、「交差反応性」という用語は、１つの抗原に特異的な抗体が第２の抗原と反応する能力、２つの異なる抗原性物質間の関連性の尺度を指す。したがって、抗体は、その

形成を誘導したもの以外のエピトープに結合する場合、交差反応性がある。交差反応性エピトープは、一般に、誘導性エピトープと同じ相補的構造特徴の多くを含み、場合によっては、実のところ元のエピトープよりも良好に適合する場合がある。

【０１４８】

例えば、ある特定の抗体は、関連しているが同一ではないエピトープ、例えば、基準エピトープに対して少なくとも９５％、少なくとも９０％、少なくとも８５％、少なくとも８０％、少なくとも７５％、少なくとも７０％、少なくとも６５％、少なくとも６０％、少なくとも５５％、及び少なくとも５０％の同一性（当該技術分野において公知であり本明細書に記載される方法を使用して計算した場合）を有するエピトープに結合するという点で、ある程度の交差反応性を有する。抗体は、基準エピトープに対して、９５％未満、９０％未満、８５％未満、８０％未満、７５％未満、７０％未満、６５％未満、６０％未満、５５％未満、及び５０％未満の同一性（当該技術分野において公知であり本明細書に記載される方法を使用して計算した場合）でエピトープに結合しない場合、交差反応性がほとんどまたはまったくないということができる。抗体は、ある特定のエピトープの他の類似体、オルソログ、またはホモログのいずれにも結合しない場合、そのエピトープに対して「特異性が高い」とみなされ得る。

【０１４９】

本発明の結合分子、例えば、抗体またはその抗原結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、ＤＰＲ及び／またはＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲを示す変異型Ｃ９ＯＲＦ７２種及び／またはその断片に対する結合親和性という観点から説明または規定することもできる。好ましい結合親和性には、解離定数またはＫｄが5×10^{-2}Ｍ、10^{-2}Ｍ、5×10^{-3}Ｍ、10^{-3}Ｍ、5×10^{-4}Ｍ、10^{-4}Ｍ、5×10^{-5}Ｍ、10^{-5}Ｍ、5×10^{-6}Ｍ、10^{-6}Ｍ、5×10^{-7}Ｍ、10^{-7}Ｍ、5×10^{-8}Ｍ、10^{-8}Ｍ、5×10^{-9}Ｍ、10^{-9}Ｍ、5×10^{-10}Ｍ、10^{-10}Ｍ、5×10^{-11}Ｍ、10^{-11}Ｍ、5×10^{-12}Ｍ、10^{-12}Ｍ、5×10^{-13}Ｍ、10^{-13}Ｍ、5×10^{-14}Ｍ、10^{-14}Ｍ、5×10^{-15}Ｍ、または10^{-15}Ｍ未満のものが含まれる。

【０１５０】

これまでに示したように、様々な免疫グロブリンクラスの定常領域のサブユニット構造及び三次元構成はよく知られている。本明細書で使用される場合、「ＶＨドメイン」という用語は、免疫グロブリン重鎖のアミノ末端側の可変ドメインを含み、「ＣＨ１ドメイン」という用語は、免疫グロブリン重鎖の第１の（最もアミノ末端側の）定常領域ドメインを含む。ＣＨ１ドメインは、ＶＨドメインに隣接しており、免疫グロブリン重鎖分子のヒンジ領域のアミノ末端側にある。

【０１５１】

本明細書で使用される場合、「ＣＨ２ドメイン」という用語には、重鎖分子のうち、例えば、従来の付番スキームを使用して抗体の残基２４４から残基３６０付近（Ｋａｂａｔ付番システムでは残基２４４～３６０、ＥＵ付番システムでは残基２３１～３４０；前掲のＫａｂａｔ　ＥＡ　ｅｔ　ａｌ参照）に伸びる部分が含まれる。ＣＨ２ドメインは、別のドメインと密接な対をなさないという点で独特である。むしろ、インタクトな天然ＩｇＧ分子の２つのＣＨ２ドメイン間には、２つのＮ結合型分枝状炭水化物鎖が介在する。また、ＣＨ３ドメインがＩｇＧ分子のＣＨ２ドメインからＣ末端まで伸びており、およそ１０８個の残基を含むことも十分に立証されている。

【０１５２】

本明細書で使用される場合、「ヒンジ領域」という用語は、重鎖分子のＣＨ１ドメインをＣＨ２ドメインに結合する部分を含む。このヒンジ領域はおよそ２５個の残基を含み、柔軟性があるため、Ｎ末端側の２つの抗原結合性領域が独立して動くことができる。ヒンジ領域は、上部、中間部、及び下部のヒンジドメインという３つの異なるドメインに細分することができる。Ｒｏｕｘ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６１（１９９８），４０８３－４０９０を参照されたい。

【０１５３】
本明細書で使用される場合、「ジスルフィド結合」という用語には、２つの硫黄原子間に形成される共有結合が含まれる。アミノ酸システインは、ジスルフィド結合を形成したり、第２のチオール基と架橋したりすることができるチオール基を含む。ほとんどの天然に発生するＩｇＧ分子では、ＣＨ１及びＣＬ領域は、ジスルフィド結合によって連結され、２つの重鎖は、Ｋａｂａｔ付番システムを使用した場合に２３９位及び２４２位に対応する位置（ＥＵ付番システムでは２２６位または２２９位）で２つのジスルフィド結合によって連結されている。
【０１５４】
本明細書で使用される場合、「連結された」、「融合した」、または「融合」という用語は、同義に使用される。これらの用語は、化学的コンジュゲーションまたは組換え手段を含め、あらゆる手段によって２つ以上の要素または成分をひとつに結合させることを指す。「インフレーム融合」とは、元のオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）の正しい翻訳リーディングフレームを維持する様式で、２つ以上のポリヌクレオチドのＯＲＦを結合させて、連続したより長いＯＲＦを形成することを指す。したがって、組換え融合タンパク質は、元のＯＲＦによってコードされるポリペプチドに対応する２つ以上のセグメントを含む単一のタンパク質である（これらのセグメントは通常、自然にこのように結合することはない）。このように、リーディングフレームが、融合したセグメント全体にわたって連続的になっても、これらのセグメントは、例えばインフレームリンカー配列によって物理的または空間的に分離していてもよい。例えば、免疫グロブリン可変領域のＣＤＲをコードするポリヌクレオチドは、「融合した」ＣＤＲが連続的なポリペプチドの一部として同時翻訳される限り、インフレームで融合しているが、少なくとも１つの免疫グロブリンフレームワーク領域または付加的なＣＤＲ領域をコードするポリヌクレオチドによって分離していてもよい。
【０１５５】
本明細書で使用される「発現」という用語は、遺伝子が生化学物質、例えばＲＮＡまたはポリペプチドを生成するプロセスを指す。このプロセスには、遺伝子ノックダウン、ならびに一過性発現及び安定発現の両方を含むがこれらに限定されない、細胞における遺伝子の機能的存在の出現のすべてが含まれる。これには、メッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）、トランスファーＲＮＡ（ｔＲＮＡ）、低分子ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、低分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）、または任意の他のＲＮＡ産物への遺伝子の転写、及びポリペプチド（複数可）へのｍＲＮＡの翻訳が含まれるが、これらに限定されない。所望の最終産物が生化学物質である場合、発現には、その生化学物質及び任意の前駆体の作出が含まれる。遺伝子の発現は、「遺伝子産物」をもたらす。本明細書で使用される場合、遺伝子産物は、核酸、例えば、遺伝子の転写によって生成されたメッセンジャーＲＮＡ、または転写物から翻訳されたポリペプチドのいずれであってもよい。本明細書に記載される遺伝子産物は、転写後修飾、例えばポリアデニル化を伴う核酸、または翻訳後修飾、例えばメチル化、グリコシル化、脂質の付加、他のタンパク質サブユニットとの会合、タンパク質分解的切断などを伴うポリペプチドをさらに含む。
【０１５６】
本明細書で使用される場合、「試料」という用語は、対象または患者から得られた任意の生物学的材料を指す。一態様において、試料は、血液、腹水、ＣＳＦ、唾液、または尿を含み得る。他の態様では、試料は、全血、血漿、血清、血液試料から濃縮されたＢ細胞、及び培養細胞（例えば、対象のＢ細胞）を含み得る。試料には、生検または神経組織を含む組織試料も含まれ得る。さらに他の態様では、試料は、全細胞及び／または細胞の溶解物を含み得る。血液試料は、当該技術分野において公知の方法によって収集することができる。
【０１５７】
疾患：
特記なき限り、「障害」及び「疾患」という用語は、本明細書では同義に使用され、対

象、動物、単離された臓器、組織、または細胞／細胞培養物における望まれない生理学的変化のすべてを含む。

【０１５８】

前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）は、脳の前頭葉及び側頭葉の萎縮に関連する病因である。さらに、ＦＴＬＤ患者の５０％は、家族歴が陽性であることが示され、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）に匹敵した。すでに上述したように、病態形成の共通する根本的原因は、ＦＴＬＤ患者及びＡＬＳ患者のＣ９ＯＲＦ７２に位置するヘテロ接合性の伸長したヘキサヌクレオチドリピートであると思われる。特に、２つのアミノ酸の繰り返し単位（ジペプチドリピート、ＤＰＲ）をもたらすことが示された。

【０１５９】

しかしながら、２つのアミノ酸の繰り返し（ＤＰＲ）をもたらす伸長したヘキサヌクレオチドリピートは、いくつかの他の疾患及び／または障害でも報告されている。こうした疾患としては、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、ＦＴＬＤ－ＡＬＳ、及び／または脊髄小脳失調症３６型、ならびにこれらに関連する症状が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１６０】

本発明の一実施形態において、本発明の抗体、そのいずれか１つと実質的に同じ結合特異性を有する結合分子、本発明のポリヌクレオチド、ベクター、または細胞は、ＤＰＲに関連する疾患の予防的処置及び／または治療的処置のための医薬組成物もしくは診断用組成物の調製、疾患の進行及び／または処置への応答のモニタリング、ならびに前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、ＦＴＬＤ－ＡＬＳ、及び／または脊髄小脳失調症３６型を含むＤＰＲアミロイドーシスに関連する疾患の診断のために使用される。

【０１６１】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、ＦＴＬＤ患者の病的なＣ９ＯＲＦ７２ジペプチドリピートタンパク質またはその凝集形態に結合する。したがって、本発明の一実施形態において、本発明の抗体、そのいずれか１つと実質的に同じ結合特異性を有する結合分子、ポリヌクレオチド、ベクター、または細胞は、Ｃ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲに関連する疾患の予防的処置及び／または治療的処置のための医薬組成物もしくは診断用組成物の調製、疾患の進行及び／または処置への応答のモニタリング、ならびに前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、及び／またはＦＴＬＤ－ＡＬＳ、及びこれらに関連する症状を含むＣ９ＯＲＦ７２－ＤＰＲまたはその凝集形態に関連する疾患の診断のために使用される。

【０１６２】

処置：

本明細書で使用される場合、「処置する」または「処置」という用語は、治療的処置と、予防または防止のための措置との両方を指し、その目的は、例えば心臓の欠陥の発生といった望まれない生理学的変化または障害を防止または減速（緩和）することである。有益なまたは所望の臨床結果としては、検出できるか検出できないかにかかわらず、症状の軽快、疾患の範囲の減少、疾患の状態の安定化（すなわち、悪化しないこと）、疾患進行の遅延または減速、病状の改善または緩解、及び寛解（部分的か完全かを問わない）が挙げられるが、これらに限定されない。「処置」はまた、処置を受けない場合の予測生存期間と比較して生存期間を延長することも意味し得る。処置を必要とする者としては、病態もしくは障害をすでに有する者のほかに、病態もしくは障害を有する傾向にある者、または病態もしくは障害の出現を防止すべき者が挙げられる。

【０１６３】

特記なき限り、「薬物」、「薬」、または「医薬」という用語は、本明細書では同義に使用され、（Ａ）ヒトまたは他の動物のいずれかの疾患の診断、治癒、軽減、処置、または防止のために使用することを目的とした、内用または外用のための物品、薬、及び調製物、ならびに任意の物質または物質の混合物、ならびに（Ｂ）ヒトまたは他の動物の身体

の構造または任意の機能に影響を与えることを目的とした物品、薬、及び調製物（食物以外）、ならびに（Ｃ）（Ａ）及び（Ｂ）の項目に規定される任意の物品の成分として使用することを目的とした物品のすべてを含むものとするが、これらに限定されない。「薬物」、「薬」、または「医薬」という用語は、充填剤、崩壊剤、滑沢剤、流動促進剤、結合剤として、またいくつかの文脈では、ヒトまたは他の動物の体内の意図される標的位置、例えば、皮膚、胃、または腸における「薬物」、「薬」、または「医薬」の容易な輸送、崩壊、脱凝集、溶解、及び生物学的利用能を保証する、他の薬学的に不活性な賦形剤として、１つ以上の「薬剤」、「化合物」、「物質」、または「（化学的）組成物」を含む、ヒトまたは他の動物のいずれかに使用することを目的とした調製物の完全な処方を含むものとする。「薬剤」、「化合物」、または「物質」という用語は、本明細書では同義に使用され、より特定の文脈では、薬理学的に活性な薬剤、すなわち、所望の生物学的もしくは薬理学的効果を誘導するか、または本発明の方法によってそのような起こりうる薬理学的効果を誘導する能力について調査もしくは試験される薬剤のすべてを含むものとするが、これらに限定されない。

【０１６４】

「対象」または「個体」または「動物」または「患者」または「哺乳動物」とは、診断、予後判定、防止、または治療が望まれる任意の対象、特に哺乳動物対象、例えば、ヒト患者を意味する。

【０１６５】

薬学的担体：

薬学的に許容される担体及び投与経路は、当業者に知られている対応する文献から確認することができる。本発明の医薬組成物は、当該技術分野でよく知られる方法に従って処方することができる。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ（２０００）ｂｙ ｔｈｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｉｎ Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，ＩＳＢＮ ０－６８３－３０６４７２、Ｖａｃｃｉｎｅ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ２ｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ ｂｙ Ｒｏｂｉｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎｅｗ Ｊｅｒｓｅｙ，ＵＳＡ，２００３、Ｂａｎｇａ，Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｐｅｐｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ：Ｆｏｒｍｕｌａｔｉｏｎ，Ｐｒｏｃｅｓｓｉｎｇ，ａｎｄ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ．２ｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ ｂｙ Ｔａｙｌｏｒ ａｎｄ Ｆｒａｎｃｉｓ．（２００６），ＩＳＢＮ：０－８４９３－１６３０－８を参照されたい。好適な薬学的担体の例は当該技術分野でよく知られており、リン酸緩衝食塩水溶液、水、油／水エマルジョンなどのエマルジョン、様々なタイプの湿潤剤、滅菌溶液などを含む。そのような担体を含む組成物は、よく知られている従来の方法によって処方することができる。こうした医薬組成物は、好適な用量で対象に投与することができる。好適な組成物の投与は、様々な方法によって実施され得る。例には、経口、鼻腔内、直腸、局所、腹腔内、静脈内、筋肉内、皮下、真皮下、経皮、髄腔内、及び頭蓋内の方法を介して、薬学的に許容される担体を含む組成物を投与することが含まれる。鼻腔用スプレー製剤などのエアロゾル製剤は、活性剤の精製された水溶液または他の溶液を、防腐剤及び等張剤とともに含む。そのような製剤は、場合により、鼻粘膜に適合するｐＨ及び等張状態に調整される。単一ドメイン抗体分子（例えば、「ｎａｎｏｂｏｄｉｅｓ（商標）」）などといった経口投与用の医薬組成物もまた、本発明では想定される。そのような経口製剤は、錠剤、カプセル、粉末、液体、または半固体の形態であり得る。錠剤は、ゼラチンなどの固体担体またはアジュバントを含み得る。直腸投与または膣内投与用の製剤は、好適な担体を含む坐剤として供給されてもよい。Ｏ’Ｈａｇａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｒｅｖｉｅｗｓ，Ｄｒｕｇ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ ２（９）（２００３），７２７－７３５も参照されたい。様々なタイプの投与に好適な製剤に関するさらなる指針は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｍａｃｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，ＰＡ，１７ｔｈ ｅｄ．（１９８５）及び対応する改訂版で確認することができる。薬物送達のた

めの方法の簡潔な総説については、Ｌａｎｇｅｒ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９（１９９０），１５２７－１５３３を参照されたい。

【０１６６】

ＩＩ．本発明の抗体

本発明は、広く、抗ＤＰＲ抗体、場合により抗Ｃ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲ抗体及びＤＰＲ結合、すなわちＤＰＲ結合性断片、ならびにそれらの生物工学的バリアント及び誘導体に関するものであり、これらは場合により、本明細書に記載した、例えば実施例に示した、抗体について概説される、免疫学的結合特性及び／または生物学的特性を示す。いくつかの実施形態では、抗ＤＰＲ抗体は、ヒト抗体またはヒト由来抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＤＰＲ抗体は、ヒトモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗ＤＰＲ抗体は、ヒト由来モノクローナル抗体である。本発明によれば、ポリＧＡ ＤＰＲに特異的なヒトモノクローナル抗体は、健康なヒト対象のプールからクローニングされている。本発明に従って行われた実験の過程では、元の自己抗体に由来する組換えＩｇＧ抗体が、ＤＰＲ、及びウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）を含む他のタンパク質に結合する能力について評価された。実施例３～９及び図２～８を参照されたい。前述のように、対象抗体は、選択されたヒトＣ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ患者に由来する脳組織においてＤＰＲタンパク質またはその凝集形態に結合することが示され得る。実施例１１及び図１０を参照されたい。さらに、実施例９及び図８に示すように、凝集したＣ９ｏｒｆ７２ポリＧＡ ＤＰＲ$(GA)_{15}$（配列番号６６）への対象抗体の結合は、参照抗ポリＧＡ抗体（ＮＩ－ｍＡｂ参照物）が標的に先に結合してもブロックされない。このことは、ポリＧＡ ＤＰＲ凝集体の立体構造エピトープを認識する抗体の能力を示しており、このエピトープは、他のＤＰＲタンパク質及び／またはアミロイド形成タンパク質との共凝集体においても接触可能であり得る。

【０１６７】

さらに、抗ＤＰＲ抗体、そのＤＰＲ結合性断片、合成または生物工学的な誘導体またはバリアントは、向上した薬物動態、製造可能性、及び安定性特性を有するように最適化することができる。したがって、ＣＤＲまたは可変領域にある、グリコシル化、酸化、脱アミノ化、ペプチド結合切断、イソアスパラギン酸形成及び／または不対システインからなる群から選択される修飾を受けやすい少なくとも１つのアミノ酸を、そのような変化を欠く変異アミノ酸で置換するか、あるいは、少なくとも１つの炭水化物部分を、欠失させるか、または抗体に化学的もしくは酵素的に付加する。例えば、Ｌｉｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．９７（７）（２００８），２４２６－２４４７、Ｂｅｃｋ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１０（２０１０），３４５－３５２、Ｈａｂｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＭＡｂｓ．６（２０１４），３２７－３３９を参照されたい。

【０１６８】

親対象抗体の本質的な結合特性を維持しながら、元の抗体の安定性及び／または製造可能性を向上させる可能性があるアミノ酸置換を調査するために、ポリ$(GA)_{8}$ペプチド（配列番号８１）を含む対象ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体のＦａｂ断片を調製し、その結晶構造を分析した。実施例１２～１６ならびに図１１及び１２を参照されたい。元のＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の様々なバリアントの結合親和性をモニタリングするために、Ｆａｂ断片を生成し、多価相互作用による複雑化を伴わずに固有の一価親和性を定量化する試験を行った。修飾されたＦａｂ断片は親抗体のＦａｂ断片の親和性を実質的に保持したため、対応する完全ＩｇＧ抗体は、ポリ$(GA)_{15}$ペプチド（配列番号６６）に対して親抗体と実質的に同じ結合親和性を有すると予想される。項目［１４］及び付随する実施例を参照されたい。

【０１６９】

したがって、本発明は、広く、組換えヒト由来モノクローナル抗ＤＰＲ抗体ならびにそのＤＰＲ結合性断片、合成及び生物工学的な誘導体及びバリアントに関するものであり、この抗体またはそのＤＰＲ結合性断片は、次の６つの相補性決定領域（ＣＤＲ）：

（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＨ－ＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号４のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列または１つもしくは２つのアミノ酸置換を含むそのバリアントを含むＶＬ－ＣＤＲ３
を可変領域に含み、

抗体またはそのＤＰＲ結合は、対象ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体及びその特定のバリアントについて付随する実施例及び図に示される特性のうちのいずれか１つを示し、場合により、抗体またはそのＤＰＲ結合は、項目［１］～［３６］に要約されている特性のうちの１つ以上を、項目の相互依存関係によって示されるように場合により組み合わせて有する。例えば、一実施形態において、抗体またはそのＤＰＲ結合は、第９染色体オープンリーディングフレーム７２（Ｃ９ｏｒｆ７２）遺伝子から翻訳される少なくとも６リピートのポリグリシン－アラニン（ＧＡ）からなるジペプチドリピート（ＤＰＲ）の$(GA)_6$（配列番号８０）に結合することができる。対象ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の合成または生物工学的な誘導体またはバリアントは、本明細書で規定されるように、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのバリアントＣＤＲを含み得る。例えば、合成もしくは生物工学的な誘導体もしくはバリアント抗体またはそのＤＰＲ結合は、ＶＬ－ＣＤＲは未変化のまま、バリアントＶＨ－ＣＤＲを３つ、場合により２つ、もしくは場合により１つのみ含んでいてもよいし、または１つのＶＬ－ＣＤＲのみがバリアントに相当してもよく、その逆も同様である。さらに、または代替的には、本発明の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片は、
（ａ）配列番号２に示されるアミノ酸配列または１つ以上のアミノ酸置換を含むそのバリアントを含む可変重鎖（V_H）、及び
（ｂ）配列番号７に示されるアミノ酸配列または１つ以上のアミノ酸置換を含むそのバリアントを含む可変軽鎖（V_L）
を可変領域に含み、

場合により、V_H及びV_L鎖のアミノ酸配列は、それぞれ配列番号２及び７と少なくとも９０％同一である。置換に適切なアミノ酸及びＣＤＲ内の位置を選択するための好ましい基準を図１に示し、図１の図の説明文において説明する（上記参照）。

【０１７０】

実施例１２～１６に示すように、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０　ｈＩｇＧ１抗体の翻訳後修飾、すなわち軽鎖グリコシル化及び重鎖Ａｓｎ５４脱アミド化が同定され、対応するアミノ置換によって除去された。したがって、本発明の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片の一実施形態において、ＣＤＲは、脱アミド化易発性のアスパラギン（Ｎ）及び／またはグルタミン（Ｑ）を含まず、及び／または、V_H及び／またはV_L鎖のアミノ酸配列は、占有されているグリコシル化部位を含まない。一実施形態において、V_H及び／またはV_L鎖のアミノ酸配列における１つ以上のグリコシル化部位（複数可）は、占有されているグリコシル化部位になることができないように変異している。

【０１７１】

好ましい実施形態では、抗体またはそのＤＰＲ結合性断片における１つ、２つ、またはそれ以上のアミノ酸置換は、
（ａ）脱アミド化易発性のアスパラギン（Ｎ）またはグルタミン（Ｑ）の、脱アミド化非易発性アミノ酸による置換、

（ｂ）脱アミド化易発性ＮもしくはＱに直接隣接する、場合によりグリシン（Ｇ）である小さい柔軟なアミノ酸の、より大きなアミノ酸による置換、
（ｃ）グリコシル化部位の除去をもたらす、場合によりグリコシル化モチーフＮＸＳもしくはＮＸＴ内にある少なくとも１つのアミノ酸の置換、及び／または
（ｄ）保存的アミノ酸置換である１つ以上のアミノ酸の置換
から選択され、場合により、（ａ）及び（ｂ）のアミノ酸置換（複数可）はＶＨ－ＣＤＲ２に存在し、（ｃ）のアミノ酸置換（複数可）はV_L鎖に存在する。

【０１７２】

また、ここで、対象抗体及びそのＤＰＲ結合性断片の安定性及び製造可能性をそれぞれ向上させることを目指す場合、置換に使用されるアミノ酸は、場合により、上述の検討事項に従って選択される。場合により、実施例によると、ＶＨ－ＣＤＲ２において、配列番号２の５４位に対応するアスパラギン（Ｎ）及び／または５５位に対応するグリシン（Ｇ）は、別のアミノ酸で置換されており、場合により、このアスパラギン（Ｎ）はセリン（Ｓ）もしくはスレオニン（Ｔ）で置換されており、及び／またはこのグリシン（Ｇ）はセリン（Ｓ）もしくはスレオニン（Ｔ）で置換されており、及び／またはV_L鎖において、配列番号７の７５位に対応するアスパラギン（Ｎ）は、別のアミノ酸で置換されており、場合により、このアスパラギン（Ｎ）はアスパラギン酸（Ｄ）で置換されている。

【０１７３】

場合により、抗ＤＰＲ抗体、そのＤＰＲ結合性断片、または生物工学的誘導体もしくはバリアントは、ＩｇＧ、場合によりＩｇＧ１の形態で分析した場合、ＤＰＲタンパク質$(GA)_6$（配列番号８０）の結合については≦１５ｎＭのEC_{50}（半数効果濃度）値（実施例７参照）、及び／または、ＤＰＲタンパク質$(GA)_{10}$（配列番号７９）、$(GA)_{15}$（配列番号６６）及び／または$(GA)_{20}$（配列番号８２）の結合については≦５ｎＭ、場合により≦２ｎＭ、場合により≦１ｎＭ、もしくは場合により≦０．５ｎＭのEC_{50}値（実施例３、４及び７ならびに図２及び６参照）に対応する結合親和性を有する。一実施形態において、対象は、リピート数ｎが６以上の場合にのみポリＧＡペプチドに結合する。実施例７及び図６を参照されたい。さらに、または代替的には、抗体は、少なくともＩｇＧの形態において、バイオレイヤー干渉法によって決定した場合に（K_a＝０．５～５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$）の会合速度定数及び解離定数（K_d＝１～５×１０$^{-5}$ｓ$^{-1}$）で、約（０．５～２．０ｎＭ）の親和性ＫＤでポリ$(GA)_{15}$（配列番号６６）に結合し、場合により約（０．０５～０．５ｎＭ）のＫＤ、場合により約（０．１～０．２ｎＭ）のＫＤでポリ$(GA)_{15}$ペプチド（配列番号６６）に結合する。実施例８及び図７を参照されたい。

【０１７４】

したがって、高い親和性、ならびに言及したEC_{50}及びＫＤ値のためには、抗ＤＰＲ抗体、そのＤＰＲ結合性断片、または生物工学的誘導体もしくはバリアントは、場合により、ＣＤＲまたはV_H及びV_L鎖のアミノ酸配列に対して場合により異種であるポリペプチド配列をさらに含み、場合により、このポリペプチド配列は、ヒト定常ドメイン、場合によりＩｇＧタイプのヒト定常ドメイン、場合によりＩｇＧ１クラスまたはアイソタイプのヒト定常ドメインを含む。

【０１７５】

一方、対象ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体のＤＰＲ結合性断片、特にＦａｂ断片は、場合により、より小さなポリＧＡリピート、すなわち$(GA)_8$（配列番号８１）との関連において、合成及び生物工学的な誘導体またはバリアントを設計及び調査するために特に有用であることが証明される。実施例１３～１６ならびに図１１及び１２を参照されたい。したがって、別の実施形態では、本発明の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片は、ポリ$(GA)_8$（配列番号８１）ペプチドに対して、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって決定した場合に５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$未満のK_a（会合速度）及び１０×１０$^{-3}$ｓ$^{-1}$未満のK_d（解離速度）で３０ｎＭ未満のK_D（解離定数）に対応する結合親和性を有し、場合により、ＤＰＲ結合性断片は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって決定した場合

に１～５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$のＫ$_{a}$（会合速度）及び２．５～１０×１０$^{-3}$ｓ$^{-1}$のＫ$_{d}$（解離速度）で１０ｎＭ～３０ｎＭのＫ$_{D}$（解離定数）に対応する結合親和性を有する。さらに、または代替的には、抗体またはそのＤＰＲ結合性断片は、場合により、そのＦａｂ断片が、示差走査熱量測定（ＶＰ－ＤＳＣ）によって決定した場合に、それぞれ７８～８２℃の範囲内、場合により約７９～８１℃の範囲内の熱安定性及び融解温度Ｔ$_{m}$を有することを特徴とする。実施例１６を参照されたい。

【０１７６】

いくつかの抗体は、幅広い生体分子、例えばタンパク質に結合することができる。当業者は理解するであろうが、特異的という用語は、本明細書では、ＤＰＲ以外の生体分子が本発明の抗体に有意に結合しないことを示すために使用される。場合により、ＤＰＲ以外の生体分子への結合のレベルは、最大でもＤＰＲに対する親和性のせいぜい２０％以下、１０％以下、せいぜい５％以下、せいぜい２％以下、またはせいぜい１％以下（すなわち、少なくとも５分の１、１０分の１、２０分の１、５０分の１、もしくは１００分の１、またはこれより小さい値）である結合親和性をもたらす。特に、上述し、実施例及び図に示したように、本発明によれば、抗ＤＰＲ抗体またはそのＤＰＲ結合性断片、またはその生物工学的誘導体もしくはバリアントは、場合により、次の結合特性：（ｉ）ポリ（ＧＡ）$_{15}$ペプチド（配列番号６６）の立体構造エピトープを認識すること、すなわち、異なる抗ポリＧＡ　ＤＰＲ抗体が先に結合した後でもポリＧＡ　ＤＰＲ凝集体に結合できること（実施例９及び図８）、（ｉｉ）ＢＳＡ担体タンパク質にカップリングしたポリＧＡペプチドに、対応する疎水的にコーティングされたペプチドと実質的に同じ親和性で結合すること（実施例３及び４ならびに図２及び３）、（ｉｉｉ）無関係のアミロイド形成タンパク質（少なくとも実施例５で試験し図４に示すもの）に対する交差反応性が実質的にないか、またはごくわずかであること、（ｉｖ）Ｃ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ患者の小脳の顆粒細胞層においてＣ９ｏｒｆ７２遺伝子から翻訳されるＤＰＲ含有タンパク質を含む凝集体に結合できること（実施例１１及び図１０）のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、または５つすべてを示す。

【０１７７】

前述のように、脳の前頭葉及び側頭葉におけるＤＰＲタンパク質凝集体の蓄積は、神経変性障害ＦＴＬＤの特徴である。小脳の顆粒細胞層における神経細胞質内封入体、神経核内封入体、及び変性神経突起にＤＰＲ凝集体がある患者は、認知機能の変化を示すことが多い。特に、ＦＴＬＤ患者は、上述のように、前頭皮質及び側頭皮質の変性に起因する認知症、行動及び性格の変化、言語機能障害、及び／または精神病を示す。したがって、一実施形態において、本発明の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片は、ＤＰＲに関連する疾患及び／または障害の処置に有用である。好ましい実施形態では、本発明の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片は、ＦＴＬＤ及びその症状の処置に有用である。本発明の対象抗体またはそのＤＰＲ結合性断片の治療有用性は、背景技術のセクション（実施例１７も参照のこと）に記載したものなどの細胞アッセイで検証することができ、場合により、この抗体は、トランスジェニックＣ９ｏｒｆ７２マウスモデルに投与されると、ニューロンの喪失、行動異常、運動障害、及び生存期間の減少などのＣ９ｏｒｆ７２疾患の病理学的特徴のうち少なくとも１つの症状を改善することができる（実施例１８）。

【０１７８】

上記で同定した可変領域をコードする対応するヌクレオチド配列を、以下の表２に示す。Ｖ$_{H}$及びＶ$_{L}$鎖のアミノ酸配列のＣＤＲの例示的なセットは、図１Ａ～Ｆのいずれか１つに示してある。よって、本発明は、

（ｉ）次の６つのＣＤＲ：

（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）ＶＨ－ＣＤＲ１、

（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、

（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、

（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、

（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３、
（ｉｉ）次の６つのＣＤＲ：
（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）ＶＨ－ＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３、
（ｉｉｉ）次の６つのＣＤＲ：
（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）ＶＨ－ＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号１９のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３、または
（ｉｖ）次の６つのＣＤＲ：
（ａ）配列番号３のアミノ酸配列を含む（例えば、配列番号７８を含む）ＶＨ－ＣＤＲ１、
（ｂ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ２、
（ｃ）配列番号５のアミノ酸配列を含むＶＨ－ＣＤＲ３、
（ｄ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ１、
（ｅ）配列番号９のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ２、
（ｆ）配列番号１０のアミノ酸配列を含むＶＬ－ＣＤＲ３、
を可変領域に含む、抗体またはそのＤＰＲ結合性断片によって例示される、新規の抗ＤＰＲ抗体の一群を提供し、場合により、この抗体またはＤＰＲ結合性断片は、
（ｉ）配列番号２及び配列番号２４に示されるＶ$_{H}$及びＶ$_{L}$鎖のアミノ酸配列、
（ｉｉ）配列番号１２及び配列番号２４に示されるＶ$_{H}$及びＶ$_{L}$鎖のアミノ酸配列、
（ｉｉｉ）配列番号１５及び配列番号２４に示されるＶ$_{H}$及びＶ$_{L}$鎖のアミノ酸配列、
（ｉｖ）配列番号１８及び配列番号２４に示されるＶ$_{H}$及びＶ$_{L}$鎖のアミノ酸配列、
（ｖ）配列番号２１及び配列番号２４に示されるＶ$_{H}$及びＶ$_{L}$鎖のアミノ酸配列、
（ｖｉ）配列番号１２及び配列番号７に示されるＶ$_{H}$及びＶ$_{L}$鎖のアミノ酸配列、
（ｖｉｉ）配列番号１５及び配列番号７に示されるＶ$_{H}$及びＶ$_{L}$鎖のアミノ酸配列、
（ｖｉｉｉ）配列番号１８及び配列番号７に示されるＶ$_{H}$及びＶ$_{L}$鎖のアミノ酸配列、
（ｉｘ）配列番号２１及び配列番号７に示されるＶ$_{H}$及びＶ$_{L}$鎖のアミノ酸配列
を可変領域に含む。

【０１７９】

しかしながら、すでに上述したように、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３の場合、図１Ａ～Ｆのいずれか１つに示したものとアミノ酸１個分、２個分、またはそれ以上アミノ酸配列が異なるＣＤＲをさらに、または代替的に使用してもよいことを、当業者は十分承知している。したがって、一実施形態において、図１Ａ～Ｆのいずれか１つに示されるＣＤＲを可変領域に含む本発明の抗体、その生物工学的誘導体、及びバリアント抗ＤＰＲ抗体、及びＤＰＲ断片が提供され、そのもう１つの、場合により１つまたは２つ以下のＣＤＲは、１つ以上、場合により２つ以下のアミノ酸置換を含む。上記も参照されたい。

【０１８０】

実施例に示すように、ＶＨ－ＣＤＲ２における１つまたは２つのアミノ酸置換は、元の抗体の結合親和性及び特徴に影響を与えなかった。ＣＤＲならびに可変重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列それぞれにおける、さらなるまたは他のアミノ酸置換に関して、場合により、

例えば、Ｍｉｒｓｋｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｅｖｏｌ．３５（２０１４），８０６－８１９（Ｍｉｒｓｋｙ　ｅｔ　ａｌの８１３頁の図６を参照されたい）において分析及び記載されているように最も頻繁に交換されるアミノ酸に従って、保存的アミノ酸置換が行われる。これに関連して、同様の結合特性を有するものと、異なる結合特性を有するものとで、さらなるヒト由来抗ポリＧＡ　ＤＰＲ抗体のＣＤＲの予備分析を行ったところ、ＶＨ－ＣＤＲ２と同様に、抗体の固有の結合特性に影響を与えず同じ状態に保つことが期待され得る、対象抗体のＣＤＲ内のある特定の位置及びアミノ酸置換が明らかになった。図１には、ＣＤＲ内の好ましいアミノ酸置換の対応する位置が太字及びイタリック体で示されており、あわせて、ＶＨ－ＣＤＲ２において行ったものが太字のみで示されている。

【０１８１】

特に、ＶＨ－ＣＤＲ１内では、ＤをＳで置換してもよく、及び／またはＳをＴで置換してもよく、ＶＨ－ＣＤＲ３内では、ＶをＥで置換してもよく、ＴをＳで置換してもよく、及び／またはＭをＶで置換してもよく、ＶＬ－ＣＤＲ１内では、ＲをＫで置換してもよく、ＰをＳで置換してもよく、ＲをＥで置換してもよく、ＳをＧで置換してもよく、Ｔを置換してもよく、ＶＬ－ＣＤＲ２内では、ＳをＡで置換してもよく、及び／またはＡをＧで置換してもよく、ＶＬ－ＣＤＲ３内では、ＧをＡで置換してもよく、ＬをＩで置換してもよく、ＰをＳで置換してもよく、ＳをＰで置換してもよい。前述のように、場合によりアミノ酸置換は、上記のＭｉｒｓｋｙ　ｅｔ　ａｌ．（２０１４）の図６に示されているモデルＬＧ及びＡＢのいずれか、または場合により両方で同じカテゴリに属するものが選択される（アミノ酸の特性を保つ傾向のためにＬＧモデルが好ましい）。ここで、アミノ酸置換は、元のアミノ酸の生理化学的特性、すなわち疎水性、極性、もしくは荷電特性が実質的に維持されるように、または、例えば２つ以上のアミノ酸置換が行われる場合には、それらが互いを補って表面全体の生理化学的特性をもたらすように、場合により選択される。

【０１８２】

本明細書では、抗ＤＰＲ抗体またはその断片、例えば、ＤＰＲ　Ａｂ－１が提供される。ＤＰＲ　Ａｂ－１のアミノ酸配列情報を表１２に示す。いくつかの実施形態では、抗ＤＰＲ抗体またはその抗原結合性断片は、本明細書に記載されるＤＰＲ、例えば、第９染色体オープンリーディングフレーム７２（Ｃ９ｏｒｆ７２）ジペプチドリピート（ＤＰＲ）タンパク質に結合する。いくつかの実施形態では、ＤＰＲタンパク質は、ポリグリシン－アラニン（ＧＡ）リピート、例えば、ポリ（ＧＡ）ｎリピートを含み、ここで、ｎは、１、２、３、４、５、６、またはそれ以上（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、またはそれ以上）である。いくつかの実施形態では、ＤＰＲタンパク質は、ポリ（ＧＡ）ｎリピートを含み、ここで、ｎは、６～１５（６及び１５を含む）であり、例えば、ｎは１５である。諸実施形態において、抗ＤＰＲ抗体またはその断片は、ＤＰＲ　Ａｂ－１またはその断片（例えば、抗原結合性断片）を含む。いくつかの実施形態では、表１２のイタリック体のアスパラギン残基はグリコシル化されている。他の実施形態では、表１２のイタリック体のアスパラギン残基はグリコシル化されていない。

【表１２－１】
表１２。ＤＰＲ　Ａｂ－１のアミノ酸配列情報

	アミノ酸配列	配列番号
シグナルペプチドを含む重鎖アミノ酸配列（いくつかの実施形態では、イタリック体のアスパラギンはグリコシル化されている。他の実施形態では、イタリック体のアスパラギンはグリコシル化されていない）（ＣＤＲには下線が引かれている）	MGWSLILLFLVAVATRVLSQVQLVESGGG VVQPGRSLRLSCAAS<u>GFTFSNHAMH</u>WVR QAPGKGLEWVA<u>VISYDGENTYYADSIEG</u>R FTISRDNFKNTLFLQMYSLTADDTAMYFCA R<u>GGRRGHFTSYYLDY</u>WGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QY*N*STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	37
重鎖アミノ酸配列（成熟、シグナルペプチドなし）（ＣＤＲには下線が引かれている）	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS<u>GFT FSNHAMH</u>WVRQAPGKGLEWVA<u>VISYDGE NTYYADSIEG</u>RFTISRDNFKNTLFLQMYSL TADDTAMYFCAR<u>GGRRGHFTSYYLDY</u>WG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQY*N*STYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	38

【表１２－２】

重鎖定常ドメインアミノ酸配列	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG	39
重鎖可変領域アミノ酸配列（ＣＤＲには下線が引かれている）	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFT FSNHAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGE NTYYADSIEGRFTISRDNFKNTLFLQMYSL TADDTAMYFCARGGRRGHFTSYYLDYWG QGTLVTVSS	40
シグナルペプチドを含む軽鎖アミノ酸配列（ＣＤＲには下線が引かれている）	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQNIDKYLNW YQQIPGKAPKLLIYAASSLHSGVPSRFSGS GSGTDFSLTISSLQPEDFAIYYCQQSYSSF RTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC	41
軽鎖アミノ酸配列（成熟、シグナルペプチドなし）（ＣＤＲには下線が引かれている）	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNID KYLNWYQQIPGKAPKLLIYAASSLHSGVPS RFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDFAIYYCQQ SYSSFRTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	42
軽鎖定常ドメインアミノ酸配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	43
軽鎖可変領域アミノ酸配列（ＣＤＲには下線が引かれている）	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNID KYLNWYQQIPGKAPKLLIYAASSLHSGVPS RFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDFAIYYCQQ SYSSFRTFGQGTKLEIK	44
重鎖ＣＤＲ１	GFTFSNHAMH	45
重鎖ＣＤＲ２	VISYDGENTYYADSIEG	46
重鎖ＣＤＲ３	GGRRGHFTSYYLDY	47
軽鎖ＣＤＲ１	RASQNIDKYLN	48
軽鎖ＣＤＲ２	AASSLHS	49
軽鎖ＣＤＲ３	QQSYSSFRT	50

【０１８３】

表１２には、フレームワーク領域（ＦＲ）及び相補性決定領域（ＣＤＲ）が示され、ＣＤＲには下線が引かれている。Ｋａｂａｔ付番スキームを使用した（参照により本明細書に組み込まれる、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｂｉｏｉｎｆ．ｏｒｇ．ｕｋ／ａｂｓ／や、前掲のｗｅｂ参考文献において参照され、ＷＯ２０１６／０５０８２２Ａ２の３９頁及び４０頁の表１に示されるＫａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，“Ｓｅｑｕｅｎｃｅ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ”（１９８３）を参照のこと）。特記なき限り、本発明の抗体またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体における特定のアミノ酸残基の位置の付番への言及は、Ｋａｂａｔ付番システムに従うが、ただし、この付番は理論上のものであり、本発明の抗体すべてに等しく適用されない場合がある。例えば、第１のＣＤＲの位置に応じて、続くＣＤＲがいずれかの方向にシフトする可能性がある。したがって、表１２及び／または配列表におけるＣＤＲの表記に関して不注意による誤りや矛盾がある場合、本願の開示内容、すなわち抗体ＤＰＲ　Ａｂ－１の可変重鎖（ＶＨ）及び可変軽鎖（ＶＬ）のアミノ酸配列に基づき、Ｋａｂａｔに従って正しいＣＤＲ配列を決定することは、十分に当業者の裁量の範囲内にあり、この配列が特許請求される抗体及びそのＤＰＲ結合性断片を定義するために使用されるものとする。

【０１８４】

本明細書では、抗ＤＰＲ（例えば、抗Ｃ９ＯＲＦ７２　ＤＰＲ）抗体またはその断片（例えば、ポリ（ＧＡ）ｎリピート、例えば、本明細書に記載されるポリ（ＧＡ）ｎリピートに結合する、例えば、特異的に及び／または高い親和性で結合するもの）を含む組成物が提供され、ここで、抗ＤＰＲ抗体またはその断片は、

（ｉ）配列番号３７もしくは３８のアミノ酸配列（または配列番号３７もしくは３８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖

［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖は、１２３アミノ酸以下の長さである重鎖可変領域アミノ酸配列を含む］、

（ｉｉ）配列番号３９のアミノ酸配列（または配列番号３９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖定常ドメインを含む重鎖

［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖は、１２３アミノ酸以下の長さである重鎖可変領域アミノ酸配列を含む］、

（ｉｉｉ）配列番号４０（または配列番号４０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖可変領域を含む重鎖

［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖は、１２３アミノ酸以下の長さである重鎖可変領域アミノ酸配列を含む］、

（ｉｖ）配列番号４０（または配列番号４０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖可変領域アミノ酸配列

［場合により、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、

（ｖ）配列番号４１もしくは４２（または配列番号４１もしくは４２と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖

［場合により、軽鎖のアミノ酸配列（例えば、軽鎖の成熟配列）は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖は、１０７アミノ酸以下の長さである軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む］、
（ｖｉ）配列番号４３（または配列番号４３と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖定常ドメインを含む軽鎖
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列（例えば、軽鎖の成熟配列）は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖は、１０７アミノ酸以下の長さである軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む］、
（ｖｉｉ）配列番号４４（または配列番号４４と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖可変領域アミノ酸配列を含む軽鎖
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列（例えば、軽鎖の成熟配列）は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖｉｉｉ）配列番号４４（または配列番号４４と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖可変領域アミノ酸配列
［場合により、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｘ）配列番号４５のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４５と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４６のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４６と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４７のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号４７と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む重鎖可変領域を含む重鎖
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｘ）配列番号４５のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４５と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４６のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４６と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４７のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号４７と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む重鎖可変領域
［場合により、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｘｉ）配列番号４８のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４９のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号５０のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号５０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む軽鎖可変領域を含む軽鎖
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列（例えば、軽鎖の成熟配列）は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｘｉｉ）配列番号４８のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ

酸配列）と、配列番号４９のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号５０のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号５０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む軽鎖可変領域
［場合により、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、及び／または
（ｘｉｉｉ）重鎖及び軽鎖
［軽鎖は、配列番号４８のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４９のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号５０のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号５０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む軽鎖可変領域を含み、
場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖は、１２３アミノ酸以下の長さである可変領域アミノ酸配列を含み、及び／または、場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］を含む。

【０１８５】

一実施形態において、本明細書では、異種核酸に場合により連結しているポリヌクレオチドが提供され、（ｉ）このポリヌクレオチドは、本明細書に記載されるＶＨ－ＣＤＲを含む免疫グロブリン可変重鎖をコードし、免疫グロブリン可変重鎖は、表１２に示されるアミノ酸配列を含む免疫グロブリン可変軽鎖と対になると、本明細書に記載されるＤＰＲ（例えば、ポリ（ＧＡ）ｎ）に（例えば、特異的に及び／または高い親和性で）結合することができる、及び／または、（ｉｉ）このポリヌクレオチドは、本明細書に記載されるＶＬ－ＣＤＲを含む免疫グロブリン可変軽鎖をコードし、免疫グロブリン可変軽鎖は、表１２に示されるアミノ酸配列を含む免疫グロブリン可変重鎖と対になると、本明細書に記載されるＤＰＲ（例えば、ポリ（ＧＡ）ｎ）に（例えば、特異的に及び／または高い親和性で）結合することができる。

【０１８６】

いくつかの態様において、本明細書では、Ｎ末端にシグナルペプチドを含む抗体またはその断片が提供される。いくつかの実施形態では、シグナルペプチドは、アミノ酸配列ＭＧＷＳＬＩＬＬＦＬＶＡＶＡＴＲＶＬＳ（配列番号５９）、または配列番号５９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、シグナルペプチドは、アミノ酸配列ＭＤＭＲＶＰＡＱＬＬＧＬＬＬＬＷＦＰＧＳＲＣ（配列番号６０）、または配列番号６０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列を含む。

【０１８７】

諸実施形態において、その重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まない。諸実施形態において、その重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有する。

【０１８８】

諸実施形態において、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さである（例えば、４５２アミノ酸の長さである）。諸実施形態において、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まない。諸実施形態において、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有する。諸実施形態において、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである（例えば、１２３アミノ酸の長さであ

る）。諸実施形態において、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さである（例えば、２１４アミノ酸の長さである）。諸実施形態において、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである（例えば、１０７アミノ酸の長さである）。

【０１８９】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその断片は、ＩｇＧ１アイソタイプ、例えば、ヒトＩｇＧ１（ｈＩｇＧ１）アイソタイプを有する重鎖を含む。諸実施形態において、重鎖は、アロタイプＧ１ｍ１，１７を含む。

【０１９０】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその断片は、カッパアイソタイプ、例えば、ヒトカッパアイソタイプを有する軽鎖を含む。諸実施形態において、軽鎖は、アロタイプＫｍ３を含む。

【０１９１】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその断片は、薬物に結合しているか、あるいは標識、例えば、酵素、放射性同位元素、フルオロフォア、タグ、重金属、及び／またはフラッグで検出可能に標識されている。

【０１９２】

本発明の抗体は、特に治療用途の場合、ヒト由来であり得る。代替的には、本発明の抗体は、齧歯類抗体、齧歯類化抗体、またはキメラ齧歯類ヒト抗体、場合により、診断方法及び動物での研究において特に有用であるマウス抗体、マウス化抗体、もしくはキメラマウスヒト抗体、またはラット抗体、ラット化抗体、もしくはキメララットヒト抗体である。一実施形態において、本発明の抗体は、キメラ齧歯類ヒト抗体または齧歯類化抗体である。

【０１９３】

上述のように、本発明の抗体は、完全抗体に加えて、例えばＦｖ、Ｆａｂ及びＦ（ａｂ）$_2$、ならびに一本鎖を含む様々な形態で存在することができる。例えば、国際出願第ＷＯ８８／０９３４４号を参照されたい。したがって、一実施形態において、一本鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）、Ｆ（ａｂ’）断片、Ｆ（ａｂ）断片、及びＦ（ａｂ’）$_2$断片からなる群から選択される本発明の抗体が提供される。

【０１９４】

本発明の抗体またはそれらの対応する免疫グロブリン鎖（複数可）は、当該技術分野において公知の従来の技術を使用して、例えば、アミノ酸の欠失（複数可）、挿入（複数可）、置換（複数可）、付加（複数可）、及び／または組換え（複数可）及び／または当該技術分野において公知である任意の他の修飾（複数可）を、単独で、あるいは組み合わせて使用することにより、さらに修飾することができる。このような修飾を、免疫グロブリン鎖のアミノ酸配列の基礎となるＤＮＡ配列に導入するための方法は、当業者にはよく知られている。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ（１９８９）Ｎ．Ｙ．及びＡｕｓｕｂｅｌ，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，Ｎ．Ｙ．（１９９４）を参照されたい。本発明の抗体の修飾には、アセチル化、ヒドロキシル化、メチル化、アミド化、及び炭水化物または脂質部分、補因子などの結合といった、側鎖修飾、骨格修飾、ならびにＮ末端及びＣ末端の修飾を含む、１つ以上の構成アミノ酸における化学的及び／または酵素的誘導体化が含まれる。同様に、本発明は、カルボキシル末端で免疫刺激性リガンドなどの異種分子に融合した、記載される抗体またはその何らかの断片をアミノ末端に含む、キメラタンパク質の生成を包含する。対応する技術的詳細については、例えば、国際出願第ＷＯ００／３０６８０号を参照されたい。

【０１９５】

本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、合成もしくは生物工学的なバリアント、もしくは誘導体は、当業者には分かるように、１つ以上のエフェクター機能を媒介する定

常領域を含むことができる。例えば、抗体定常領域に補体のＣ１成分が結合すると、補体系が活性化し得る。補体の活性化は、細胞病原体のオプソニン作用及び溶解において重要である。補体の活性化はまた、炎症反応も刺激し、自己免疫過敏症にも関与し得る。さらに、抗体は、Ｆｃ領域を介して様々な細胞の受容体に結合し、抗体Ｆｃ領域のＦｃ受容体結合部位は、細胞のＦｃ受容体（ＦｃＲ）に結合する。ＩｇＧ（ガンマ受容体）、ＩｇＥ（イプシロン受容体）、ＩｇＡ（アルファ受容体）、及びＩｇＭ（ミュー受容体）を含め、異なるクラスの抗体に特異的ないくつかのＦｃ受容体が存在する。細胞表面上のＦｃ受容体に抗体が結合すると、抗体被覆粒子の貪食及び破壊、免疫複合体のクリアランス、キラー細胞による抗体被覆標的細胞の溶解（抗体依存性細胞媒介性細胞傷害、またはＡＤＣＣと呼ばれる）、炎症性メディエーターの放出、免疫グロブリンの胎盤通過及び産生制御を含む、いくつかの重要かつ多様な生物学的応答が誘発される。

【０１９６】

したがって、本発明のある特定の実施形態には、免疫原性がほぼ同じ変化していない全抗体と比較した場合に、エフェクター機能の低下、非共有結合的に二量体化する能力、ＤＰＲタンパク質凝集及び沈着の部位に局在する能力の増大、血清半減期の減少、または血清半減期の増大といった所望の生化学的特性をもたらすように、定常領域ドメインのうちの１つ以上の少なくとも一部が欠失しているか、または別様に変化している抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体が含まれる。例えば、本明細書に記載される診断及び処置の方法で使用するための、ある特定の抗体は、免疫グロブリン重鎖と同様のポリペプチド鎖を含むが、１つ以上の重鎖ドメインの少なくとも一部を欠いている、ドメイン欠失抗体である。例えば、ある特定の抗体では、修飾抗体の定常領域の１つのドメイン全体が欠失する。例えば、ＣＨ２ドメインの全部または一部が欠失する。他の実施形態では、本明細書に記載される診断及び処置の方法で使用するための、ある特定の抗体は、グリコシル化を消失させるように変化している定常領域、例えば、ＩｇＧ重鎖定常領域を有し、これを、本明細書の他の箇所ではアグリコシル化（ａｇｌｙｃｏｓｙｌａｔｅｄ）抗体または「アグリ（ａｇｌｙ）」抗体という。このような「アグリ」抗体は、酵素的に調製することも、定常領域のコンセンサスグリコシル化部位（複数可）を工学操作することによって調製することもできる。理論に束縛されるものではないが、「アグリ」抗体は、インビボで向上した安全性及び安定性プロファイルを有し得ると考えられている。所望のエフェクター機能を有するアグリコシル化抗体を生成する方法は、例えば、全体が参照により本明細書に組み込まれる国際出願第ＷＯ２００５／０１８５７２号に記載されている。

【０１９７】

本明細書に記載される、ある特定の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体では、当該技術分野において公知の技術を使用して、エフェクター機能が低下するようにＦｃ部分を変異させてもよい。例えば、定常領域ドメインの欠失または不活性化（点変異または他の手段による）は、循環する修飾抗体のＦｃ受容体結合を低減させ、それによってＤＰＲタンパク質の局在化を増大させ得る。他の場合には、本発明に係る定常領域修飾が補体結合を加減することにより、コンジュゲートされた細胞毒の血清半減期及び非特異的な会合が低減する可能性がある。抗原の特異性または抗体の柔軟性の増大に起因して局在化の増強を可能にする、さらに他の定常領域修飾を使用して、ジスルフィド結合またはオリゴ糖部分を修飾してもよい。修飾の結果として生じる生理学的プロファイル、バイオアベイラビリティ、及び他の生化学的効果、例えばＤＰＲタンパク質の局在化、体内分布、及び血清半減期などは、過度の実験を行うことなく、よく知られている免疫学的技術を使用して容易に測定及び定量化することができる。

【０１９８】

本明細書に記載される、ある特定の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体では、例えば、Ｆｃγ受容体、ＬＲＰ、もしくはＴｈｙ１受容体を介した抗体の受容体介在性エンドサイトーシスを増強することにより、または、生細胞を害することなく抗体を生細胞にシャトリングすることを可能にするといわれる（Ｅｘｐｅｒｔ

Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｌ．Ｔｈｅｒ．（２００５），２３７－２４１）「ＳｕｐｅｒＡｎｔｉｂｏｄｙ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ」により、抗体の細胞内取り込みを増大させるように、Ｆｃ部分を変異させるか、または代替的なタンパク質配列に交換してもよい。例えば、抗体結合性領域と細胞表面受容体の同族タンパク質リガンドとの融合タンパク質、またはＤＰＲならびに細胞表面受容体に結合する特異的配列を有する二重特異性抗体もしくは多重特異性抗体の生成は、当該技術分野において公知の技術を使用して工学操作することができる。

【０１９９】

本明細書に記載される、ある特定の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体では、Ｆｃ部分を変異させるか、もしくは代替的なタンパク質配列に交換してもよいし、または抗体の血液脳関門の通過性が高まるように抗体を化学的に修飾してもよい。

【０２００】

修飾型の本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、当該技術分野において公知の技術を使用して、全前駆体抗体または親抗体から作製することができる。例示的な技術は、本明細書にさらに詳細に記述される。本発明の抗体、またはその抗原結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、当該技術分野において公知である技術を使用して作製または製造することができる。ある特定の実施形態では、抗体分子またはその断片は、「組換え生成される」、すなわち、組換えＤＮＡ技術を使用して生成される。抗体分子またはその断片を作製するための例示的な技術は、本明細書の他の箇所でさらに詳細に記述される。

【０２０１】

本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、生物工学的バリアント、もしくは誘導体には、例えば、抗体が同族のエピトープに特異的に結合することを共有結合が妨げないような、任意のタイプの分子と抗体の共有結合によって修飾された誘導体も含まれる。限定するものではないが、例えば、抗体誘導体には、例えば、既知の保護基／ブロッキング基によるグリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、誘導体化、タンパク質分解的切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への結合などによって修飾されている抗体が含まれる。多数の化学修飾のうちのいずれも、特異的化学切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成などを含むがこれらに限定されない公知の技術によって実施され得る。さらに、誘導体は、１つ以上の非古典的アミノ酸を含んでいてもよい。

【０２０２】

特定のエピトープを認識する抗体断片を、公知の技術によって生成することができる。例えば、Ｆａｂ断片及びＦ（ａｂ’）$_2$断片は、組換え生成することもできるし、または、パパイン（Ｆａｂ断片を生成する場合）もしくはペプシン（Ｆ（ａｂ’）$_2$断片を生成する場合）などの酵素を使用した免疫グロブリン分子のタンパク質分解的切断によって生成することもできる。Ｆ（ａｂ’）$_2$断片は、可変領域、軽鎖定常領域、及び重鎖のＣＨ１ドメインを含む。このような断片は、例えば、免疫グロブリンの免疫特異的部分を放射性同位元素などの検出試薬にカップリングすることを含む免疫診断の手法で使用するのに十分である。

【０２０３】

本発明の抗体は、当該技術分野において公知の任意の抗体合成方法によって、特に化学合成によって、または場合により本明細書に記載される組換え発現技術によって、生成することができる。

【０２０４】

一実施形態において、本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、１つ以上のドメインが部分的または全体的に欠失している合成定常領域を含む（「ドメイン欠失抗体」）。ある特定の実施形態において、適合性のある修飾抗体は、ＣＨ２ドメイン全体が除去されているドメイン欠失構築物またはバリアント（ΔＣＨ２構築物）を含む。他の実施形態では、可変領域に柔軟性及び動きの自由を与えるように、

短い連結ペプチドで欠失ドメインを置換してもよい。このような構築物が、抗体の異化速度に対するＣＨ２ドメインの調節特性のために特に好ましいことは、当業者には理解されよう。ドメイン欠失構築物は、ＩｇＧ$_1$ヒト定常ドメインをコードするベクターを使用して得ることができる。例えば、国際出願第ＷＯ０２／０６０９５５号及び同第ＷＯ０２／０９６９４８号Ａ２を参照されたい。このベクターは、ＣＨ２ドメインが欠失し、ドメイン欠失ＩｇＧ$_1$定常領域を発現する合成ベクターがもたらされるように工学操作されている。

【０２０５】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、ミニボディである。ミニボディは、当該技術分野で説明されている方法を使用して作製することができる。例えば、米国特許第５，８３７，８２１号または国際出願第ＷＯ９４／０９８１７号を参照されたい。

【０２０６】

一実施形態において、本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、単量体サブユニット間の会合が可能である限り、数個またはさらには単一のアミノ酸の欠失または置換を有する免疫グロブリン重鎖を含む。例えば、Ｆｃ結合を実質的に低減させ、それによってＤＰＲタンパク質の局在化を増大させるには、ＣＨ２ドメインの選択された領域に、単一のアミノ酸の変異があれば十分であり得る。同様に、調節しようとするエフェクター機能（例えば、補体結合）を制御する１つ以上の定常領域ドメインの該当部分を単に欠失させることが望ましい場合がある。そのような定常領域の部分的欠失は、対象の定常領域ドメインに関連する他の望ましい機能には影響を与えずに、抗体の選択された特性（血清半減期）を向上させ得る。さらに、上記について示唆されるように、本開示の抗体の定常領域は、結果として得られる構築物のプロファイルを増強する１つ以上のアミノ酸の変異または置換によって合成的であってもよい。この点に関して、修飾抗体の構成及び免疫原性プロファイルを実質的に維持しながら、保存された結合部位によってもたらされる活性（例えば、Ｆｃ結合）を妨げることが可能であり得る。さらに他の実施形態は、エフェクター機能などの望ましい特性を増強するため、またはより多くの細胞毒もしくは炭水化物の結合をもたらすために、１つ以上のアミノ酸を定常領域に付加することを含む。そのような実施形態では、選択された定常領域ドメインに由来する特定の配列を挿入または複製することが望ましい場合がある。

【０２０７】

ＩＩＩ．本発明の抗体をコードするポリヌクレオチド

本発明は、上記のセクションＩＩに記載した抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体のうちのいずれか１つをコードする、１つ以上のポリヌクレオチド（複数可）にも関する。抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドは、修飾されていないＲＮＡまたはＤＮＡであっても、修飾されたＲＮＡまたはＤＮＡであってもよい、任意のポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドから構成されていてよい。例えば、抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドは、一重鎖ＤＮＡ及び二重鎖ＤＮＡ、一重鎖領域と二重鎖領域との混合物であるＤＮＡ、一重鎖ＲＮＡ及び二重鎖ＲＮＡ、ならびに一重鎖領域と二重鎖領域との混合物であるＲＮＡや、一重鎖、またはより典型的には二重鎖、または一重鎖領域と二重鎖領域との混合物であってもよいＤＮＡ及びＲＮＡを含むハイブリッド分子から構成されていてもよい。さらに、抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドは、ＲＮＡもしくはＤＮＡ、またはＲＮＡとＤＮＡの両方を含む三重鎖領域から構成されていてもよい。抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドは、安定性または他の理由のために修飾された、１つ以上の修飾された塩基またはＤＮＡもしくはＲＮＡ骨格を含んでいてもよい。「修飾された」塩基には、例えば、トリチル化された塩基及びイノシンなどの異常な塩基が含まれる。ＤＮＡ及びＲＮＡには様々な修飾を行うことができる。したがって、「ポリヌクレオチド」には、

化学的、酵素的、または代謝的に修飾された形態が包含される。

【０２０８】

コードされるタンパク質に１つ以上のアミノ酸の置換、付加、または欠失が導入されるように、１つ以上のヌクレオチドの置換、付加、または欠失を免疫グロブリンのヌクレオチド配列に導入することにより、免疫グロブリン（例えば、免疫グロブリンの重鎖部分または軽鎖部分）に由来するポリペプチドの非天然バリアントをコードする単離されたポリヌクレオチドを作出することができる。変異は、部位特異的変異誘発及びＰＣＲによる変異誘発などの標準的な技術によって導入され得る。場合により、１つ以上の非必須アミノ酸残基において、保存的アミノ酸置換が行われる。

【０２０９】

よく知られているように、ＲＮＡは、標準的な技術、例えば、イソチオシアン酸グアニジンによる抽出及び沈殿の後に遠心分離またはクロマトグラフィを行うことにより、元のＢ細胞、ハイブリドーマ細胞、または他の形質転換細胞から単離することができる。必要に応じて、オリゴｄＴセルロースでのクロマトグラフィなどの標準的な技術により、全ＲＮＡからｍＲＮＡを単離してもよい。好適な技術は当該技術分野でよく知られている。一実施形態において、抗体の軽鎖及び重鎖をコードするｃＤＮＡは、よく知られている方法に従って逆転写酵素及びＤＮＡポリメラーゼを使用することで、同時あるいは別々に作製され得る。ＰＣＲは、コンセンサス定常領域プライマーによって、または公開されている重鎖及び軽鎖のＤＮＡ及びアミノ酸配列に基づいたより特異的なプライマーによって開始され得る。上述のように、抗体の軽鎖及び重鎖をコードするＤＮＡクローンを単離するためにＰＣＲを使用することもできる。この場合、コンセンサスプライマー、またはヒト定常領域プローブなどのより大きな相同プローブによって、ライブラリをスクリーニングしてもよい。

【０２１０】

ＤＮＡ、典型的にはプラスミドＤＮＡは、当該技術分野において公知の技術を使用して細胞から単離され、例えば、組換えＤＮＡ技術に関する前述の参考文献に詳細に示されている、標準的なよく知られている技術に従って、制限マッピングされ、シーケンシングされ得る。当然ながら、ＤＮＡは、単離プロセスまたはその後の分析中のいずれの時点でも、本発明によれば合成的であってもよい。これに関連して、本発明は、本発明の抗体の免疫グロブリン鎖の少なくとも結合性ドメインまたは可変領域をコードするポリヌクレオチドにも関する。

【０２１１】

本発明の好ましい実施形態において、ポリヌクレオチドは、表２に示される抗ＤＰＲ抗体のV_HまたはV_L領域のポリヌクレオチド配列を有する核酸を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。この点に関して、軽鎖及び／または重鎖の少なくとも可変ドメインをコードするポリヌクレオチドが、免疫グロブリン鎖の両方または一方のみの可変ドメインをコードしてもよいことは、当業者には容易に理解されよう。したがって、一実施形態では、ポリヌクレオチドは、表２に示される抗ＤＰＲ抗体及び／またはその断片のV_H及びV_L領域のポリヌクレオチド配列を有する核酸を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる。

【表２－１】

表２：ポリＧＡ　ＤＰＲ、場合によりＣ９ｏｒｆ７２－（ポリＧＡ）－ＤＰＲを認識する抗体及び抗体バリアントのV_H及びV_L領域のヌクレオチド配列。

抗体	可変重鎖（V_H）及び可変軽鎖（V_L）のヌクレオチド配列
NI-308.5J10 V_H	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCT CACTTACACTGTCTTAGGTGGCTCCGTCAGTGATTACTACTGGAGCTGCATCCGGCAGC CCGCCGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCGAACATATACTAACGGGAAGACCACTTAC ACTTACAACCCCTCCCTCGAGAGTCGACTCAGTTTGTCTATAGACACGTCCATGAACCA ATTCTCCCTGAAGTTGACCTCTGTGACGGCCGCGGACACGGCCGTCTATTACTGCGCGA GATGGGGGGCGGTGACTGGTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCCAGGCACC CTGGTCACCGTCTCCTCG 配列番号 1
NI-308.5J10 V_K	GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGTCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTC CATCTCCTGCAGGTCTCCTCGGAGCCTTCTACATACTAATGGATATACATATTTGGACT GGTACCTACAAAGGCCAGGGCAGTCTCCACAACTCCTGATCTTTTTGGCTTCTAATCGG GCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGCGGATCAGGCACAAATTTTACACTGAG AATCAGCGGAGTGGAGGCTGACGATGTTGGAGTTTATTACTGCATGCAAGGTCTACAAC CTTCGTGGACGTTCGGCCAGGGGACCAAGGTGGAAATCAAA 配列番号 6
NI-308.5J10 V_H -N54S	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCT CACTTACACTGTCTTAGGTGGCTCCGTCAGTGATTACTACTGGAGCTGCATCCGGCAGC CCGCCGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCGAACATATACTAGCGGGAAGACCACTTAC ACTTACAACCCCTCCCTCGAGAGTCGACTCAGTTTGTCTATAGACACGTCCATGAACCA ATTCTCCCTGAAGTTGACCTCTGTGACGGCCGCGGACACGGCCGTCTATTACTGCGCGA GATGGGGGGCGGTGACTGGTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCCAGGCACC CTGGTCACCGTCTCCTCG 配列番号 11

【表２－２】

NI-308.5J10 V_H - N54T	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCT CACTTACACTGTCTTAGGTGGCTCCGTCAGTGATTACTACTGGAGCTGCATCCGGCAGC CCGCCGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCGAACATATACTACCGGGAAGACCACTTAC ACTTACAACCCCTCCCTCGAGAGTCGACTCAGTTTGTCTATAGACACGTCCATGAACCA ATTCTCCCTGAAGTTGACCTCTGTGACGGCCGCGGACACGGCCGTCTATTACTGCGCGA GATGGGGGGCGGTGACTGGTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCCAGGCACC CTGGTCACCGTCTCCTCG 配列番号 14
NI-308.5J10 V_H -G55S	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCT CACTTACACTGTCTTAGGTGGCTCCGTCAGTGATTACTACTGGAGCTGCATCCGGCAGC CCGCCGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCGAACATATACTAACAGCAAGACCACTTAC ACTTACAACCCCTCCCTCGAGAGTCGACTCAGTTTGTCTATAGACACGTCCATGAACCA ATTCTCCCTGAAGTTGACCTCTGTGACGGCCGCGGACACGGCCGTCTATTACTGCGCGA GATGGGGGGCGGTGACTGGTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCCAGGCACC CTGGTCACCGTCTCCTCG 配列番号 17
NI-308.5J10 V_H -G55T	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCT CACTTACACTGTCTTAGGTGGCTCCGTCAGTGATTACTACTGGAGCTGCATCCGGCAGC CCGCCGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGCGAACATATACTAACACCAAGACCACTTAC ACTTACAACCCCTCCCTCGAGAGTCGACTCAGTTTGTCTATAGACACGTCCATGAACCA ATTCTCCCTGAAGTTGACCTCTGTGACGGCCGCGGACACGGCCGTCTATTACTGCGCGA GATGGGGGGCGGTGACTGGTGACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCCAGGCACC CTGGTCACCGTCTCCTCG 配列番号 20
NI-308.5J10 V_K -N75D	GAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGTCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTC CATCTCCTGCAGGTCTCCTCGGAGCCTTCTACATACTAATGGATATACATATTTGGACT GGTACCTACAAAGGCCAGGGCAGTCTCCACAACTCCTGATCTTTTTGGCTTCTAATCGG GCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGCGGATCAGGCACAGACTTTACACTGAG AATCAGCGGAGTGGAGGCTGACGATGTTGGAGTTTATTACTGCATGCAAGGTCTACAAC CTTCGTGGACGTTCGGCCAGGGGACCAAGGTGGAAATCAAA 配列番号 23

【０２１２】

ＤＰＲ　Ａｂ－１抗体またはその断片のアミノ酸配列は、様々なヌクレオチド配列によってコードされ得る。例えば、ポリペプチド（複数可）の発現を最大化するようにコドンを最適化することができる。ＤＰＲ　Ａｂ－１をコードするヌクレオチド配列の例示的なセットを以下の表１３に示す。

【表１３－１】
表１３。ＤＰＲ　Ａｂ－１をコードするヌクレオチド配列

	ヌクレオチド配列	配列番号
シグナルペプチドを含む重鎖ヌクレオチド配列	ATGGGTTGGAGCCTCATCTTGCTGTTTCTTGTCG CTGTTGCTACGCGTGTCCTGTCGCAGGTGCAGCT GGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTAGTCCAGCCTGGG AGGTCCCTGAGACTGTCCTGTGCAGCCTCTGGAT TCACCTTCAGTAATCATGCTATGCACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCA GTTATATCATATGATGGCGAGAACACATATTATG CAGACTCCATTGAGGGCCGATTCACCATTTCCAG AGACAATTTCAAGAACACACTCTTTCTACAAATG TACAGCCTGACAGCTGATGACACGGCTATGTACT TCTGTGCGAGAGGGGGCCGTCGGGGGCACTTCAC CTCATACTACCTTGACTACTGGGGCCAGGGAACC CTGGTCACCGTCTCCTCGGCTAGTACCAAGGGCC	51

【表１３－２】

	CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAG CACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTG GTCAAGGACTACTTCCCCGAACCCGTGACGGTGT CGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTC TACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCA GCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAGACTCACA CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGG GGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCC AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGA CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTTTCCAACAAAG CCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAA AGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTAC ACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGA ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT CTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGC CTCCCGTGTTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCT CTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGC ATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAAAAAAG CCTCTCCCTGTCTCCCGGTTGA	
重鎖ヌクレオチド配列（成熟、シグナルペプチドなし）	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTAG TCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTGTCCTGTGC AGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAATCATGCTATG CACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGG AGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGCGAGAA CACATATTATGCAGACTCCATTGAGGGCCGATTC ACCATTTCCAGAGACAATTTCAAGAACACACTCT TTCTACAAATGTACAGCCTGACAGCTGATGACAC GGCTATGTACTTCTGTGCGAGAGGGGGCCGTCGG GGGCACTTCACCTCATACTACCTTGACTACTGGG GCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCGGCTAG TACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCC TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACC	52

【表１３－３】

	CGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACC AGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGT CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTAC ATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCA AGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGA CAAGACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCT GAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCC CCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCG GACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGAC AAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT TTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAC CACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGA GCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGG AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTA CAAGACCACGCCTCCCGTGTTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA AGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAAAAAAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGTTGA	
重鎖定常ドメインヌクレオチド配列	GCTAGTACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGG CACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCCGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCC TGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTG GTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAA CACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCT TGTGACAAGACTCACACATGCCCACCGTGCCCAG CACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCT CTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCA CGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCA	53

【表１３－４】

	CCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTTTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCG AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCG AGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG GATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCT GCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTTGGACTCCG ACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACC ACTACACGCAAAAAAGCCTCTCCCTGTCTCCCGG TTGA	
重鎖可変領域ヌクレオチド配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTAG TCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTGTCCTGTGC AGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAATCATGCTATG CACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGG AGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGCGAGAA CACATATTATGCAGACTCCATTGAGGGCCGATTC ACCATTTCCAGAGACAATTTCAAGAACACACTCT TTCTACAAATGTACAGCCTGACAGCTGATGACAC GGCTATGTACTTCTGTGCGAGAGGGGGCCGTCGG GGGCACTTCACCTCATACTACCTTGACTACTGGG GCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCG	54
シグナルペプチドを含む軽鎖ヌクレオチド配列	ATGGACATGCGGGTGCCCGCCCAGCTGCTGGGCC TGCTGCTGCTGTGGTTCCCCGGCTCTAGATGCGA CATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCAAGCCAGAACATAGACAAGTACTTAAATTG GTATCAGCAGATACCGGGGAAAGCCCCTAAGCTC CTGATCTATGCTGCATCGAGTTTGCACAGTGGGG TCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGAC AGATTTCTCTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT GAAGATTTTGCAATTTACTACTGTCAACAGAGTT ACAGTTCCTTCCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAA GCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCT GTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGA AATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGG AAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCC AGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAG CACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGC AAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCT	55

【表１３－５】

	GCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGTTCGCCCGT CACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA	
軽鎖ヌクレオチド配列（成熟、シグナルペプチドなし）	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGCCAGAACATAGACAAGTACTTAAAT TGGTATCAGCAGATACCGGGGAAAGCCCCTAAGC TCCTGATCTATGCTGCATCGAGTTTGCACAGTGG GGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGG ACAGATTTCTCTCTCACCATCAGCAGTCTGCAAC CTGAAGATTTTGCAATTTACTACTGTCAACAGAG TTACAGTTCCTTCCGGACGTTCGGCCAAGGGACC AAGCTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCAT CTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT GAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTG AATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTC CCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGAC AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGA GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGC CTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGTTCGCCC GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTGA	56
軽鎖定常ドメインヌクレオチド配列	CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCC CGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGC CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCC AGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACG CCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC AGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACG AGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCA TCAGGGCCTGAGTTCGCCCGTCACAAAGAGCTTC AACAGGGGAGAGTGTTGA	57
軽鎖可変領域ヌクレオチド配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGCCAGAACATAGACAAGTACTTAAAT TGGTATCAGCAGATACCGGGGAAAGCCCCTAAGC TCCTGATCTATGCTGCATCGAGTTTGCACAGTGG GGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGG ACAGATTTCTCTCTCACCATCAGCAGTCTGCAAC CTGAAGATTTTGCAATTTACTACTGTCAACAGAG TTACAGTTCCTTCCGGACGTTCGGCCAAGGGACC AAGCTGGAGATCAAA	58

【０２１３】

他の箇所に記載されるように、本発明には、本発明のポリヌクレオチドの断片も含まれ

る。さらに、本明細書に記載される融合ポリヌクレオチド、Ｆａｂ断片、及び他の生物工学的誘導体をコードするポリヌクレオチドも、本発明では想定される。

【０２１４】

一実施形態において、本発明は、異種核酸に場合により連結しているポリヌクレオチドに関し、（ｉ）このポリヌクレオチドは、前述の項目［１］～［１０］のいずれか１つにおいて定義されたＶＨ－ＣＤＲを含む免疫グロブリン可変重鎖をコードし、免疫グロブリン可変重鎖は、配列番号７または２４に示されるアミノ酸配列を含む免疫グロブリン可変軽鎖と対になると、実施例に示され、前述の項目［１］～［３６］のいずれか１つに挙げられた対象抗体の結合特性を示す、及び／または、（ｉｉ）このポリヌクレオチドは、前述の項目［１］～［１０］のいずれか１つにおいて定義されたＶＬ－ＣＤＲを含む免疫グロブリン可変軽鎖をコードし、免疫グロブリン可変軽鎖は、配列番号２、１２、１５、１８または２１のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含む免疫グロブリン可変重鎖と対になると、実施例に示され、前述の項目［１］～［３６］のいずれか１つに挙げられた対象抗体の結合特性を示す。

【０２１５】

さらに、本発明は、これらのポリヌクレオチドのうちの１つ以上を含む１つ以上のベクターに関し、場合によりこのベクターは発現ベクターであり、１つ以上のポリヌクレオチドは、発現制御配列に作動可能に連結している。さらに、本発明は、本発明の１つ以上のポリヌクレオチドまたは１つ以上のベクターを含む宿主細胞、ならびに抗ポリ（ＧＡ）－ＤＰＲ抗体またはそのＤＰＲ結合性断片を生成する方法に関し、該方法は、抗ＤＰＲ抗体またはそのＤＰＲ結合性断片の発現を可能にする条件下で本発明の宿主細胞を培養することと、該抗ＤＰＲ抗体またはそのＤＰＲ結合性断片を培養物から単離することとを含む。

【０２１６】

ポリヌクレオチドは、当該技術分野において公知である任意の方法によって生成または製造され得る。例えば、抗体のヌクレオチド配列が既知であれば、抗体をコードするポリヌクレオチドを、化学合成されたオリゴヌクレオチドから、例えば、Ｋｕｔｍｅｉｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１７（１９９４），２４２に記載されているように構築することができる。これには、手短に述べると、抗体をコードする配列の部分を含む重複オリゴヌクレオチドを合成し、これらのオリゴヌクレオチドのアニーリング及びライゲーションを行い、次いでライゲートされたオリゴヌクレオチドをＰＣＲによって増幅することを含む。

【０２１７】

代替的には、抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体をコードするポリヌクレオチドは、好適な起源をもつ核酸から生成され得る。特定の抗体をコードする核酸を含むクローンは利用できないが、抗体分子の配列が既知である場合は、該抗体をコードする核酸を、好適な起源（例えば、抗体ｃＤＮＡライブラリ、あるいは、ＤＰＲ特異的抗体を発現する任意の組織もしくは細胞、例えば抗体を発現するように選択されたＢ細胞から生成されたｃＤＮＡライブラリ、または該組織もしくは細胞から単離された核酸、場合によりポリＡ$^{+}$ＲＮＡ）から化学合成するか、または、配列の３’末端及び５’末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用したＰＣＲ増幅、もしくは、例えば、該抗体をコードするｃＤＮＡライブラリから得られるｃＤＮＡクローンを同定するために特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用するクローニングによって得ることができる。次いで、ＰＣＲによって生成された増幅された核酸は、当該技術分野でよく知られている任意の方法を使用して、複製可能なクローニングベクターにクローニングされ得る。

【０２１８】

抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体のヌクレオチド配列及び対応するアミノ酸配列が決定されたら、そのヌクレオチド配列を、当該技術分野でよく知られているヌクレオチド配列の操作のための方法、例えば、組換えＤＮＡ技術、部位特異的変異誘発、ＰＣＲなど（例えば、いずれも全体が参照により本明細書に組み込まれ

るＳａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，２ｄ Ｅｄ．，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．（１９９０）及びＡｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，ＮＹ（１９９８）に記載されている技術を参照されたい）を使用して操作して、異なるアミノ酸配列を有する抗体を生成すること、例えばアミノ酸置換、欠失、及び／または挿入を作出することができる。

【０２１９】

ＩＶ．本発明の抗体ポリペプチドの発現

本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体をもたらすように、単離された遺伝子材料を操作した後、抗体をコードするポリヌクレオチドは、典型的には、所望の量の抗体を生成するために使用され得る宿主細胞に導入するための発現ベクターに挿入される。抗体、またはその断片、誘導体、もしくは類似体、例えば、標的分子に結合する抗体の重鎖または軽鎖の組換え発現が本明細書に記載される。本発明の抗体分子または抗体の重鎖もしくは軽鎖、またはその一部（場合により重鎖もしくは軽鎖可変ドメインを含む）をコードするポリヌクレオチドが得られたら、抗体分子を生成するためのベクターが、当該技術分野でよく知られている技術を使用した組換えＤＮＡ技術によって生成され得る。したがって、抗体をコードするヌクレオチド配列を含む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調製する方法が本明細書に記載される。当業者によく知られている方法を使用して、抗体コード配列ならびに適切な転写制御シグナル及び翻訳制御シグナルを含む発現ベクターを構築することができる。これらの方法としては、例えば、インビトロ組換えＤＮＡ技術、合成技術、及びインビボ遺伝子組換えが挙げられる。したがって、本発明は、プロモーターに作動可能に連結した、本発明の抗体分子、またはその重鎖もしくは軽鎖、または重鎖もしくは軽鎖可変ドメインをコードするヌクレオチド配列を含む、複製可能なベクターを提供する。かかるベクターは、抗体分子の定常領域をコードするヌクレオチド配列を含み得（例えば、国際出願第ＷＯ８６／０５８０７号及び同第ＷＯ８９／０１０３６号、ならびに米国特許第５，１２２，４６４号を参照されたい）、抗体の可変ドメインは、重鎖または軽鎖全体の発現のためにかかるベクターにクローニングされ得る。

【０２２０】

「ベクター」または「発現ベクター」という用語は、本明細書では、所望の遺伝子を宿主細胞に導入して発現させるためのビヒクルとして本発明に従って使用されるベクターを意味するために使用される。当業者に公知であるように、かかるベクターは、プラスミド、ファージ、ウイルス、及びレトロウイルスからなる群から容易に選択され得る。概して、本発明と適合するベクターは、選択マーカー、所望の遺伝子のクローニングを容易にする適切な制限部位、ならびに真核細胞もしくは原核細胞に侵入する及び／または該細胞中で複製する能力を含む。本発明においては、多数の発現ベクター系を用いてもよい。例えば、あるクラスのベクターは、ウシパピローマウイルス、ポリオーマウイルス、アデノウイルス、ワクシニアウイルス、バキュロウイルス、レトロウイルス（ＲＳＶ、ＭＭＴＶもしくはＭＯＭＬＶ）、またはＳＶ４０ウイルスなどの動物ウイルスに由来するＤＮＡエレメントを利用する。その他のベクターは、内部リボソーム結合部位を有するポリシストロニック系の使用を伴う。さらに、ＤＮＡが染色体に組み込まれた細胞は、トランスフェクトされた宿主細胞の選択を可能にする１つ以上のマーカーを導入することによって選択され得る。このマーカーは、栄養要求性宿主に対する原栄養性、殺生物剤（例えば、抗生物質）耐性、または銅などの重金属に対する耐性をもたらし得る。選択可能なマーカーの遺伝子は、発現させるＤＮＡ配列に直接連結していてもよいし、または同時形質転換によって同じ細胞に導入してもよい。ｍＲＮＡの最適な合成のためには、さらなるエレメントが必要とされる場合もある。こうしたエレメントには、シグナル配列、スプライスシグナル、ならびに転写プロモーター、エンハンサー、及び終結シグナルが含まれ得る。

【０２２１】
特に好ましい実施形態では、クローニングされた可変領域遺伝子は、上述のような重鎖及び軽鎖の定常領域遺伝子（場合によりヒト）とともに発現ベクターに挿入される。一実施形態において、これは、Ｂｉｏｇｅｎｓ，Ｉｎｃ．が知的財産権を所有し、米国特許第６，１５９，７３０号に開示されているＮＥＯＳＰＬＡという発現ベクターを使用して達成される。このベクターは、サイトメガロウイルスプロモーター／エンハンサー、マウスベータグロビン主要プロモーター、ＳＶ４０複製起点、ウシ成長ホルモンポリアデニル化配列、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼエキソン１及びエキソン２、ジヒドロ葉酸レダクターゼ遺伝子、ならびにリーダー配列を含む。このベクターは、可変領域遺伝子及び定常領域遺伝子の組み込み、ＣＨＯ細胞へのトランスフェクションの後に、Ｇ４１８含有培地での選択及びメトトレキサートによる増幅を行うと、非常に高いレベルの抗体発現をもたらすことが分かっている。当然ながら、本発明では、真核細胞における発現を誘発することができる任意の発現ベクターが使用され得る。好適なベクターの例としては、プラスミドｐｃＤＮＡ３、ｐＨＣＭＶ／Ｚｅｏ、ｐＣＲ３．１、ｐＥＦ１／Ｈｉｓ、ｐＩＮＤ／ＧＳ、ｐＲｃ／ＨＣＭＶ２、ｐＳＶ４０／Ｚｅｏ２、ｐＴＲＡＣＥＲ－ＨＣＭＶ、ｐＵＢ６／Ｖ５－Ｈｉｓ、ｐＶＡＸ１、及びｐＺｅｏＳＶ２（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡから入手可能）、ならびにプラスミドｐＣＩ（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩから入手可能）が挙げられるが、これらに限定されない。一般に、好適に高いレベルの免疫グロブリンの重鎖及び軽鎖を発現するものについて多数の形質転換細胞をスクリーニングすることは、定法による実験であり、例えば、ロボットシステムによって実施することができる。ベクター系は、米国特許第５，７３６，１３７号及び同第５，６５８，５７０号においても教示されており、これらは各々、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。この系は、高い発現レベル、例えば、＞３０ｐｇ／細胞／日をもたらす。他の例示的なベクター系は、例えば、米国特許第６，４１３，７７７号に開示されている。

【０２２２】
他の好ましい実施形態では、本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、ポリシストロニック構築物、例えば米国特許出願公開第２００３－０１５７６４１号Ａ１に開示され、全体が本明細書に組み込まれるものを使用して発現され得る。これらの発現系では、抗体の重鎖及び軽鎖など、目的の複数の遺伝子産物が、単一のポリシストロニック構築物から生成され得る。これらの系は、比較的高いレベルの抗体をもたらすために内部リボソーム侵入部位（ＩＲＥＳ）を有利に使用する。適合性のあるＩＲＥＳ配列は、米国特許第６，１９３，９８０号に開示されており、これも本明細書に組み込まれる。当業者には、このような発現系が、本願において開示される抗体の全種類を効果的に生成するために使用され得ることが理解されよう。したがって一実施形態では、本発明は、抗体の免疫グロブリン鎖の少なくとも結合性ドメインまたは可変領域をコードするポリヌクレオチドを、該結合分子の他の免疫グロブリン鎖の可変領域をコードするポリヌクレオチドと場合により組み合わせて含む、ベクターを提供する。

【０２２３】
より一般的には、抗体の単量体サブユニットをコードするベクターまたはＤＮＡ配列が調製されたら、発現ベクターは、適切な宿主細胞に導入され得る。宿主細胞へのプラスミドの導入は、当業者によく知られている様々な技術によって達成することができる。その技術には、例えば、Ｆｕｇｅｎｅ（登録商標）またはリポフェクタミンを使用したリポトランスフェクションを含むトランスフェクション、プロトプラスト融合、リン酸カルシウム沈殿法、エンベロープＤＮＡとの細胞融合、マイクロインジェクション、及びインタクトウイルスによる感染が含まれるが、これらに限定されない。典型的には、宿主へのプラスミドの導入は、標準的なリン酸カルシウム共沈法によって行われる。発現構築物を保有する宿主細胞を、軽鎖及び重鎖の産生に適切な条件下で増殖させ、重鎖及び／または軽鎖のタンパク質合成についてアッセイする。例示的なアッセイ技術としては、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、または蛍光活性化セル

ソーター分析（ＦＡＣＳ）、免疫組織化学などが挙げられる。

【０２２４】

発現ベクターを従来の技術によって宿主細胞に移し、次いでトランスフェクト細胞を従来の技術によって培養して、本明細書に記載される方法で使用するための抗体を生成する。したがって、本発明には、本発明の抗体、またはその重鎖もしくは軽鎖、またはその免疫グロブリンの少なくとも結合性ドメインもしくは可変領域をコードし、場合により異種プロモーターに作動可能に連結しているポリヌクレオチドを含む、宿主細胞が含まれる。さらに、または代替的に、本発明には、抗体の免疫グロブリン鎖の少なくとも結合性ドメインまたは可変領域をコードするポリヌクレオチドを、該結合分子の他の免疫グロブリン鎖の可変領域をコードするポリヌクレオチドと場合により組み合わせて含む、上文で定義したベクターを含む、宿主細胞も含まれる。二本鎖抗体の発現に関して好ましい実施形態では、以下に詳述するように、重鎖及び軽鎖の両方をコードする単一のベクターまたは複数のベクターを、免疫グロブリン分子全体の発現のために宿主細胞で同時発現させてもよい。

【０２２５】

宿主細胞には、重鎖由来ポリペプチドをコードする第１のベクターと、軽鎖由来ポリペプチドをコードする第２のベクターという、２つの本発明の発現ベクターをコトランスフェクトしてもよい。２つのベクターは、重鎖及び軽鎖ポリペプチドの等しい発現を可能にする同一の選択可能マーカーを含んでいてもよい。代替的には、重鎖ポリペプチドと軽鎖ポリペプチドの両方をコードする単一のベクターを使用してもよい。このような状況では、過剰な毒性のある遊離重鎖を避けるために、軽鎖を重鎖の前に配置するのが有利である。Ｐｒｏｕｄｆｏｏｔ，Ｎａｔｕｒｅ ３２２（１９８６），５２、Ｋｏｈｌｅｒ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７（１９８０），２１９７を参照されたい。重鎖及び軽鎖のコード配列は、ｃＤＮＡまたはゲノムＤＮＡを含んでいてもよい。

【０２２６】

本明細書で使用される場合、「宿主細胞」とは、組換えＤＮＡ技術を使用して構築され、少なくとも１つの異種遺伝子をコードするベクターを保有する細胞を指す。組換え宿主から抗体を単離するプロセスの説明においては、「細胞」及び「細胞培養物」という用語は、別段に明記しない限り、抗体の起源を示す目的で同義に使用される。言い換えれば、「細胞」からのポリペプチドの回収とは、スピンダウンした全細胞、または培地と懸濁細胞の両方を含む細胞培養物のいずれかからの回収を意味し得る。

【０２２７】

本明細書に記載される方法で使用するための抗体分子を発現させるには、様々な宿主発現ベクター系を利用することができる。そのような宿主発現系は、目的のコード配列を生成し、その後精製することができるビヒクルのことを表すが、適切なヌクレオチドコード配列で形質転換するか、またはこれをトランスフェクトした場合に、本発明の抗体分子をインサイチュで発現し得る細胞のことも表す。これらには、抗体コード配列を含む組換えバクテリオファージＤＮＡ、プラスミドＤＮＡ、もしくはコスミドＤＮＡ発現ベクターで形質転換した細菌（例えば、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ、Ｂａｃｉｌｌｕｓ ｓｕｂｔｉｌｉｓ）などの微生物；抗体コード配列を含む組換え酵母発現ベクターで形質転換した酵母（例えば、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｐｉｃｈｉａ）；抗体コード配列を含む組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系；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）に感染した、もしくは抗体コード配列を含む組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Ｔｉプラスミド）で形質転換した植物細胞系；または哺乳動物細胞のゲノムに由来するプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）もしくは哺乳動物ウイルスに由来するプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス７．５Ｋプロモーター）を含む組換え発現構築物を保有する哺乳動物細胞系（例えば、ＣＯＳ、ＣＨＯ、ＮＳＯ、ＢＬＫ、２９３、３Ｔ３細胞）が含まれるが、これらに限定されない。場合により、Ｅ．ｃｏｌｉなどの細菌細胞、または場合に

より、特に組換え抗体分子全体の発現の場合、真核細胞が、組換え抗体分子の発現のために使用される。例えば、ヒトサイトメガロウイルス由来の主要中間初期遺伝子プロモーターエレメントなどのベクターと合わせた、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞などの哺乳動物細胞は、抗体の効果的な発現系である。例えば、Ｆｏｅｃｋｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ ４５（１９８６），１０１、Ｃｏｃｋｅｔｔ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ８（１９９０），２を参照されたい。

【０２２８】

タンパク質発現に使用される宿主細胞株は、多くの場合、哺乳動物に由来するものである。当業者には、所望の遺伝子産物を発現させるのに最も適している特定の宿主細胞株を優先的に決定する能力があると考えられる。例示的な宿主細胞株としては、ＣＨＯ（チャイニーズハムスター卵巣）、ＤＧ４４及びＤＵＸＢ１１（チャイニーズハムスター卵巣株、ＤＨＦＲマイナス）、ＨＥＬＡ（ヒト子宮頸癌）、ＣＶＩ（サル腎臓株）、ＣＯＳ（ＳＶ４０ Ｔ抗原を有するＣＶＩの誘導体）、ＶＥＲＹ、ＢＨＫ（ベビーハムスター腎臓）、ＭＤＣＫ、ＷＩ３８、Ｒ１６１０（チャイニーズハムスター線維芽細胞）ＢＡＬＢＣ／３Ｔ３（マウス線維芽細胞）、ＨＡＫ（ハムスター腎臓株）、ＳＰ２／Ｏ（マウス骨髄腫）、Ｐ３ｘ６３－Ａｇ３．６５３（マウス骨髄腫）、ＢＦＡ－１ｃ１ＢＰＴ（ウシ内皮細胞）、ＲＡＪＩ（ヒトリンパ球）、ならびに２９３（ヒト腎臓）が挙げられるが、これらに限定されない。ＣＨＯ細胞及び２９３細胞が特に好ましい。宿主細胞株は、典型的には、商業的サービス、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ、または公開文献から入手可能である。

【０２２９】

さらに、挿入された配列の発現を調節するか、または所望される特定の様式で遺伝子産物を修飾及びプロセシングする宿主細胞株を選択してもよい。タンパク質産物のそのような修飾（例えば、グリコシル化）及びプロセシング（例えば、切断）は、タンパク質の機能にとって重要であり得る。異なる宿主細胞は、タンパク質及び遺伝子産物の翻訳後プロセシング及び修飾のための特徴的かつ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修飾及びプロセシングが正しいことを確実にするために適切な細胞株または宿主系が選択され得る。この目的のためには、一次転写物の適切なプロセシング、遺伝子産物のグリコシル化、及びリン酸化のための細胞機構を有する真核宿主細胞を使用してもよい。

【０２３０】

組換えタンパク質の長期にわたる高収率の産生のためには、安定した発現が好ましい。例えば、抗体分子を安定に発現する細胞株を工学操作してもよい。ウイルス複製起点を含む発現ベクターを使用するのではなく、適切な発現制御エレメント（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）によって制御されるＤＮＡ、及び選択可能マーカーで宿主細胞を形質転換してもよい。外来ＤＮＡの導入に続いて、工学操作された細胞を濃縮培地にて１～２日間増殖させてもよく、次いで選択的培地に切り替える。組換えプラスミド中の選択可能マーカーは、選択に対する耐性をもたらし、細胞が染色体にプラスミドを安定に組み込み、増殖してフォーカスを形成することを可能にし、これを次にクローニングして細胞株に拡大することができる。この方法は、抗体分子を安定に発現する細胞株を工学操作するために有利に使用され得る。

【０２３１】

限定するものではないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Ｗｉｇｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ １１（１９７７），２２３）、ヒポキサンチン－グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Ｓｚｙｂａｌｓｋａ ａｎｄ Ｓｚｙｂａｌｓｋｉ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ４８（１９９２），２０２）、及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（Ｌｏｗｙ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ ２２（１９８０），８１７）の各遺伝子を含むいくつかの選択系を、それぞれｔｋ細胞、ｈｇｐｒｔ細胞、またはａｐｒｔ細胞において使用してもよい。また、代謝拮抗物質耐性を次の遺伝子の選択の基礎として使用してもよい：メトトレキサートへの耐性を与えるｄｈｆｒ（Ｗｉｇｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７（１９８０），

３５７、O’Ｈａｒｅ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７８（１９８１），１５２７）；ミコフェノール酸への耐性を与えるｇｐｔ（Ｍｕｌｌｉｇａｎ ａｎｄ Ｂｅｒｇ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７８（１９８１），２０７２）；アミノグリコシドＧ－４１８への耐性を与えるｎｅｏ（Ｇｏｌｄｓｐｉｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｙ １２（１９９３），４８８－５０５、Ｗｕ ａｎｄ Ｗｕ，Ｂｉｏｔｈｅｒａｐｙ ３（１９９１），８７－９５、Ｔｏｌｓｔｏｓｈｅｖ，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｔｏｘｉｃｏｌ．３２（１９９３），５７３－５９６、Ｍｕｌｌｉｇａｎ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２６０（１９９３），９２６－９３２、及びＭｏｒｇａｎ ａｎｄ Ａｎｄｅｒｓｏｎ，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．６２（１９９３），１９１－２１７、ＴＩＢ ＴＥＣＨ １１（１９９３），１５５－２１５）、及びハイグロマイシンへの耐性を与えるｈｙｇｒｏ（Ｓａｎｔｅｒｒｅ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ ３０（１９８４），１４７）。使用することのできる、当該技術分野において広く知られる組換えＤＮＡ技術の方法は、全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，ＮＹ（１９９３）、Ｋｒｉｅｇｌｅｒ，Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ ａｎｄ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ（１９９０）、ならびにＤｒａｃｏｐｏｌｉ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ），Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，ＮＹ（１９９４）の第１２章及び第１３章、Ｃｏｌｂｅｒｒｅ－Ｇａｒａｐｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５０：１（１９８１）に記載されている。抗体分子の発現レベルは、ベクター増幅によって上昇し得る。総説については、Ｂｅｂｂｉｎｇｔｏｎ ａｎｄ Ｈｅｎｔｓｃｈｅｌ，Ｔｈｅ ｕｓｅ ｏｆ ｖｅｃｔｏｒｓ ｂａｓｅｄ ｏｎ ｇｅｎｅ ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｆｏｒ ｔｈｅ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ｃｌｏｎｅｄ ｇｅｎｅｓ ｉｎ ｍａｍｍａｌｉａｎ ｃｅｌｌｓ ｉｎ ＤＮＡ ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｖｏｌ．３．（１９８７）を参照されたい。抗体を発現するベクター系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阻害剤のレベルが上昇すると、マーカー遺伝子のコピー数が増加する。増幅される領域は抗体遺伝子に関連しているため、抗体の産生も増大する。Ｃｒｏｕｓｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．３（１９８３），２５７を参照されたい。

【０２３２】

インビトロ産生により、スケールアップして所望の抗体を大量に得ることが可能になる。組織培養条件下で哺乳動物細胞を培養するための技術は、当該技術分野において公知であり、例えばエアリフトリアクターもしくは連続撹拌リアクターにおける均質懸濁培養、または例えば中空繊維、マイクロカプセル、アガロースマイクロビーズ、もしくはセラミックカートリッジでの固定化細胞もしくは捕捉細胞の培養を含む。必要及び／または所望の場合、例えば、合成ヒンジ領域ポリペプチドを優先的に生合成した後、または本明細書に記載されるＨＩＣクロマトグラフィステップの前もしくは後に、通例のクロマトグラフィ法、例えばゲル濾過、イオン交換クロマトグラフィ、ＤＥＡＥ－セルロースでのクロマトグラフィまたは（免疫）アフィニティクロマトグラフィにより、ポリペプチドの溶液を精製してもよい。

【０２３３】

本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体をコードする遺伝子は、細菌または昆虫または酵母または植物の細胞といった非哺乳動物細胞で発現することもできる。核酸を容易に取り込む細菌としては、腸内細菌科のメンバー、例えばＥ．ｃｏｌｉ株またはＳａｌｍｏｎｅｌｌａ株、バチルス科、例えばＢ．ｓｕｂｔｉｌｉｓ、Ｐｎｅｕｍｏｃｏｃｃｕｓ、Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ、及びＨａｅｍｏｐｈｉｌｕｓ ｉｎｆｌｕｅｎｚａｅが挙げられる。さらに、異種ポリペプチドは、細菌で発現する場合、典型的には封入体の一部になることが理解されよう。こうした異種ポリペプチド

は、単離し、精製し、次いで集合させて機能性分子にする必要がある。四価形態の抗体が望まれる場合、これらのサブユニットが次いで自己集合して四価抗体になる。例えば、国際出願第ＷＯ０２／０９６９４８号を参照されたい。

【０２３４】

細菌系では、発現させる抗体分子の使用目的に応じて、いくつかの発現ベクターを有利に選択することができる。例えば、抗体分子の医薬組成物を生成するために、そのようなタンパク質を大量に生成する場合、容易に精製される融合タンパク質産物の高レベル発現を指示するベクターが望ましい場合がある。かかるベクターとしては、Ｅ．ｃｏｌｉ発現ベクターｐＵＲ２７８（Ｒｕｔｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．２（１９８３），１７９１）（このベクターでは、融合タンパク質が生成されるように、抗体コード配列がｌａｃＺコード領域とインフレームでベクター中に個別にライゲートされ得る）、ｐＩＮベクター（Ｉｎｏｕｙｅ ａｎｄ Ｉｎｏｕｙｅ，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１３（１９８５），３１０１－３１０９、Ｖａｎ Ｈｅｅｋｅ ａｎｄ Ｓｃｈｕｓｔｅｒ，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２４（１９８９），５５０３－５５０９）などが挙げられるが、これらに限定されない。ｐＧＥＸベクターを使用して、グルタチオンＳ－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させることもできる。一般に、かかる融合タンパク質は可溶性であり、グルタチオン－アガロースビーズの基剤に吸着及び結合させた後、遊離グルタチオンの存在下で溶出させることにより、溶解した細胞から容易に精製することができる。ｐＧＥＸベクターは、クローニングされた標的遺伝子産物がＧＳＴ部分から放出され得るように、トロンビンまたは第Ｘａ因子プロテアーゼ切断部位を含むように設計されている。

【０２３５】

原核生物に加えて、真核微生物を使用することもできる。Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ、または一般的なパン酵母は、真核微生物の中で最も一般的に使用されているが、いくつかの他の菌株、例えばＰｉｃｈｉａ ｐａｓｔｏｒｉｓも一般的に利用可能である。Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓでの発現の場合、例えば、プラスミドＹＲｐ７（Ｓｔｉｎｃｈｃｏｍｂ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ２８２（１９７９），３９、Ｋｉｎｇｓｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ ７（１９７９），１４１、Ｔｓｃｈｅｍｐｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ １０（１９８０），１５７）が一般的に使用される。このプラスミドには、トリプトファン中で増殖する能力を欠く酵母の変異菌株、例えばＡＴＣＣ番号４４０７６またはＰＥＰ４－１（Ｊｏｎｅｓ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ８５（１９７７），１２）に対する選択マーカーとなる、ＴＲＰ１遺伝子がすでに含まれている。酵母宿主細胞ゲノムの特徴としてｔｒｐｌ障害が存在することで、トリプトファンの非存在下での増殖によって形質転換を検出するのに効果的な環境がもたらされる。

【０２３６】

昆虫系では、通常、Ａｕｔｏｇｒａｐｈａ ｃａｌｉｆｏｒｎｉｃａ核多角体病ウイルス（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る。このウイルスは、Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ細胞で増殖する。抗体コード配列を、ウイルスの非必須領域（例えばポリヘドリン遺伝子）に個別にクローニングし、ＡｃＮＰＶプロモーター（例えばポリヘドリンプロモーター）の制御下に置いてもよい。

【０２３７】

本発明の抗体分子が組換え発現されたら、本発明の全抗体、その二量体、個々の軽鎖及び重鎖、または他の免疫グロブリン形態を、例えばクロマトグラフィ（例えば、イオン交換クロマトグラフィ、アフィニティクロマトグラフィ、特にプロテインＡ後の特定の抗原に対する親和性によるもの、及びサイズ排除カラムクロマトグラフィ）、遠心分離、溶解度差、例えば硫酸アンモニウム沈殿法、またはタンパク質を精製するための任意の他の標準的技術によるものを含む、当該技術分野の標準的手法に従って精製することができる。例えば、Ｓｃｏｐｅｓ，“Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ”，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ，Ｎ．Ｙ．（１９８２）を参照されたい。代替的には、本発明の抗体の親和性を高めるための好ましい方法が、米国特許公開第２００２－０１２３０５７号Ａ

１に開示されている。したがって、一実施形態では、本発明は、抗ＤＰＲ抗体、または変異及び／または凝集したＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲ種を認識する抗体、及び／またはその断片、またはその免疫グロブリン鎖（複数可）を調製する方法であって、
（ａ）上文で定義したポリヌクレオチドまたはベクターを含む、上文で定義した宿主細胞を培養することと、
（ｂ）該抗体またはその免疫グロブリン鎖（複数可）を培養物から単離することと
を含む、方法を提供する。
【０２３８】
さらに、本発明は、上文で定義したポリヌクレオチドによってコードされるか、あるいは、抗ＤＰＲ抗体、または変異及び／または凝集したＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲ種を認識する抗体、及び／またはその断片、またはその免疫グロブリン鎖（複数可）を調製する前記方法によって得られる、抗体またはその免疫グロブリン鎖（複数可）にも関する。
【０２３９】
Ｖ．本発明の融合タンパク質及びコンジュゲート
ある特定の実施形態では、抗体ポリペプチドは、抗体と通常は関連しないアミノ酸配列または１つ以上の部分を含む。例示的な修飾について、以下にさらに詳細に記載する。例えば、本発明の一本鎖Ｆｖ抗体断片は、可動性リンカー配列を含んでもよいし、または機能的部分（例えば、ＰＥＧ、薬物、毒素、または蛍光、放射性、酵素、核磁気、重金属などの標識）を付加するように修飾されていてもよい。
【０２４０】
本発明の抗体ポリペプチドは、融合タンパク質を含むか、それから本質的になるか、またはそれからなっていてもよい。融合タンパク質とは、例えば、少なくとも１つの標的結合部位を有する免疫グロブリンＤＰＲ結合性ドメインと、少なくとも１つの異種部分、すなわち、自然には本質的に連結しない部分とを含むキメラ分子である。アミノ酸配列は、通常、融合ポリペプチドにおいてひとつになる別々のタンパク質に存在する場合もあれば、同じタンパク質に通常存在するが、融合ポリペプチドにおいて新たな構成で配置される場合もある。融合タンパク質は、例えば、化学合成によって、またはペプチド領域が所望の関係でコードされているポリヌクレオチドを作出し翻訳することによって、作出され得る。
【０２４１】
ポリヌクレオチドまたはポリペプチドに適用される「異種」という用語は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドが、比較されている実体の残りとは異なる実体に由来することを意味する。例えば、本明細書で使用される場合、抗体、またはその抗原結合性断片、バリアント、もしくは類似体に融合する「異種ポリペプチド」は、同じ種の非免疫グロブリンポリペプチド、または異なる種の免疫グロブリンもしくは非免疫グロブリンポリペプチドに由来する。
【０２４２】
本明細書の他の箇所にさらに詳細に記述するように、本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、さらに、Ｎ末端もしくはＣ末端で異種ポリペプチドに組換え的に融合していてもよいし、またはポリペプチドもしくは他の組成物に化学的にコンジュゲートしていてもよい（共有結合及び非共有結合によるコンジュゲーションを含む）。例えば、抗体は、検出アッセイにおける標識として有用な分子、及び異種ポリペプチド、薬物、放射性核種、または毒素などのエフェクター分子に組換え的に融合またはコンジュゲートしていてもよい。例えば、国際出願第ＷＯ９２／０８４９５号、同第ＷＯ９１／１４４３８号、同第ＷＯ８９／１２６２４号、米国特許第５，３１４，９９５号、及び欧州特許出願第ＥＰ０３９６３８７号を参照されたい。
【０２４３】
本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、ペプチド結合または修飾されたペプチド結合、すなわちペプチドアイソスターによって互いに結合したアミノ酸から構成されていてもよく、遺伝子がコードする２０種のアミノ酸以外の

アミノ酸を含んでいてもよい。抗体は、翻訳後プロセシングなどの天然のプロセスによって、または当該技術分野でよく知られている化学修飾技術によって修飾されてもよい。かかる修飾については、基本的な教本及びさらに詳細な研究書、ならびに膨大な研究文献に十分に記載されている。修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖及びアミノ末端もしくはカルボキシル末端、または炭水化物などの部分を含め、抗体のどこでも発生し得る。所与の抗体のいくつかの部位において、同じタイプの修飾が同じ程度に存在してもよいし、異なる程度に存在してもよいことは理解されよう。また、所与の抗体は、多くのタイプの修飾を含んでいてもよい。抗体は、例えばユビキチン化の結果として分岐していてもよいし、または分岐の有無にかかわらず環状であってもよい。環状抗体、分岐抗体、及び分岐環状抗体は、翻訳後の天然のプロセスから生じる場合もあれば、または合成法によって作製される場合もある。修飾には、アセチル化、アシル化、ＡＤＰ－リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドもしくはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質もしくは脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、共有結合架橋の形成、システインの形成、ピログルタミン酸の形成、ホルミル化、ガンマカルボキシル化、グリコシル化、ＧＰＩアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、ペグ化、タンパク質分解性プロセシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、タンパク質へのアミノ酸のトランスファーＲＮＡ介在性付加、例えばアルギニル化、及びユビキチン化が含まれる。例えば、Ｐｒｏｔｅｉｎｓ－Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ Ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ，Ｔ．Ｅ．Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ ２ｎｄ Ｅｄ．，（１９９３）、Ｐｏｓｔｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ Ｃｏｖａｌｅｎｔ Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎ Ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，Ｂ．Ｃ．Ｊｏｈｎｓｏｎ，Ｅｄ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，（１９８３）１－１２、Ｓｅｉｆｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１８２（１９９０），６２６－６４６、Ｒａｔｔａｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．ＮＹ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．６６３（１９９２），４８－６２）を参照されたい。

【０２４４】

本明細書の他の箇所に記述するように、本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、ポリペプチドのインビボ半減期を増大させるために、または当該技術分野において公知の方法を使用したイムノアッセイで使用するために、異種ポリペプチドと融合していてもよい。例えば、一実施形態において、ＰＥＧを本発明の抗体にコンジュゲートして、それらのインビボでの半減期を増大させることができる。例えば、Ｌｅｏｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｃｙｔｏｋｉｎｅ １６（２００１），１０６－１１９、Ａｄｖ．ｉｎ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ．Ｒｅｖ．５４（２００２），５３１、またはＷｅｉｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓａｃｔｉｏｎｓ ３０（２００２），５１２を参照されたい。

【０２４５】

さらに、本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、合成バリアント、もしくは生物工学的誘導体は、それらの精製または検出を容易にするために、ペプチドなどのマーカー配列に融合していてもよい。好ましい実施形態では、マーカーアミノ酸配列は、多くのものが市販されているが、数ある中でもとりわけ、ｐＱＥベクター（ＱＩＡＧＥＮ，Ｉｎｃ．，９２５９ Ｅｔｏｎ Ａｖｅｎｕｅ，Ｃｈａｔｓｗｏｒｔｈ，Ｃａｌｉｆ．，９１３１１）に設けられたタグのような、ヘキサヒスチジンペプチド（ＨＩＳ）（配列番号８４）である。例えば、Ｇｅｎｔｚ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６（１９８９），８２１－８２４に記載されているように、ヘキサヒスチジンは、融合タンパク質の精製を簡便にする。精製に有用な他のペプチドタグとしては、インフルエンザ赤血球凝集素タンパク質に由来するエピトープに対応する「ＨＡ」タグ（Ｗｉｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ ３７（１９８４），７６７）、ＧＳＴ、ｃ－ｍｙｃ及び「フラッグ」タグが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、エピトープタ

グ付け技術の総説については、Ｂｉｌｌ　Ｂｒｉｚｚａｒｄ，ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　４４（２００８）６９３－６９５を、また本発明において使用可能な最も一般的なエピトープタグのリストについては同文献の６９４頁の表１を参照されたい。同文献の主題は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【０２４６】

融合タンパク質は、当該技術分野でよく知られている方法を使用して調製することができる。例えば、米国特許第５，１１６，９６４号及び同第５，２２５，５３８号を参照されたい。融合が行われる厳密な部位は、融合タンパク質の分泌または結合特性を最適化するように経験的に選択され得る。次いで、融合タンパク質をコードするＤＮＡを、発現のために宿主細胞にトランスフェクトする。これは、上文に記載したように行われる。

【０２４７】

本発明の抗体は、コンジュゲートしていない形態で使用してもよいし、または例えば、分子の治療特性を向上させるため、標的の検出を容易にするため、または患者の造影もしくは治療のために、様々な分子のうちの少なくとも１つにコンジュゲートしていてもよい。精製を行う場合、本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、精製の前または後に標識またはコンジュゲートしてもよい。特に、本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、治療剤、プロドラッグ、ペプチド、タンパク質、酵素、ウイルス、脂質、生物学的応答調節物質、医薬品、またはＰＥＧにコンジュゲートしていてもよい。

【０２４８】

コンジュゲートするために選択される薬剤に応じて様々な技術を使用してコンジュゲートを構築してもよいことは、当業者には理解されよう。例えば、ビオチンとのコンジュゲートは、例えば、ＤＰＲ結合ポリペプチドを、ビオチンＮ－ヒドロキシスクシンイミドエステルなどのビオチンの活性化エステルと反応させることによって調製される。同様に、蛍光マーカーとのコンジュゲートは、例えば本明細書に記載するもののようなカップリング剤の存在下で、またはイソチオシアネート、場合によりフルオレセイン－イソチオシアネートとの反応によって調製することができる。本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体のコンジュゲートは、同様の様式で調製される。

【０２４９】

本発明はさらに、診断剤もしくは治療剤にコンジュゲートされた本発明の抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体を包含する。この抗体は、例えば、ＤＰＲの存在を示すことで、ＤＰＲに関連する、場合によりＤＰＲを形成する変異型Ｃ９ｏｒｆ７２、すなわちＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲに関連する疾患または障害に罹るリスクを示したり、かかる疾患、すなわちＤＰＲもしくはその凝集形態の発生を示す、もしくはそれらに関連する疾患の発症もしくは進行をモニタリングしたりするために、診断的に使用することもできるし、あるいは、例えば所与の処置及び／または防止レジメンの効力を決定するために、臨床試験手順の一環として使用することもできる。したがって、一実施形態では、本発明は、検出可能に標識されている抗体に関する。さらに、一実施形態において、本発明は、薬物に結合している抗体に関する。抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体を、検出可能な物質にカップリングすることにより、検出を容易にすることができる。検出可能な物質または標識は、一般に、酵素、重金属、場合により金、色素、場合により蛍光色素もしくは発光色素、または放射性標識であり得る。検出可能な物質の例としては、様々な酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、生物発光物質、放射性物質、様々な陽電子放出断層撮影を使用する陽電子放出金属、及び非放射性常磁性金属イオンが挙げられる。本発明に係る診断薬として使用される抗体にコンジュゲートすることができる金属イオンについては、例えば、米国特許第４，７４１，９００号を参照されたい。好適な酵素の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ベータガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが挙げられ、好適な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン／ビオチン及びアビジン／ビオチンが挙げられ、好適な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フ

ルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリド、またはフィコエリトリンが挙げられ、発光物質の例としては、ルミノールが挙げられ、生物発光物質の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、及びエクオリンが挙げられ、好適な放射性物質の例としては、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{111}Ｉｎ、または^{99}Ｔｃが挙げられる。したがって、一実施形態では、本発明は、検出可能に標識された抗体を提供し、検出可能な標識は、酵素、放射性同位元素、フルオロフォア、及び重金属からなる群から選択される。

【０２５０】

抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、化学発光化合物にカップリングすることで検出可能に標識することもできる。次いで、化学反応の過程で生じる発光の存在を検出することにより、化学発光タグ付き抗体の存在が決定される。特に有用な化学発光標識化合物の例は、ルミノール、イソルミノール、テロマティック（ｔｈｅｒｏｍａｔｉｃ）アクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩、及びシュウ酸エステルである。

【０２５１】

抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体を検出可能に標識することができる方法のうちの１つは、それを酵素に結合させ、結合した生成物を酵素イムノアッセイ（ＥＩＡ）で使用することによる（Ｖｏｌｌｅｒ，Ａ．，“Ｔｈｅ Ｅｎｚｙｍｅ Ｌｉｎｋｅｄ Ｉｍｍｕｎｏｓｏｒｂｅｎｔ Ａｓｓａｙ（ＥＬＩＳＡ）”Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ Ｑｕａｒｔｅｒｌｙ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ，Ｗａｌｋｅｒｓｖｉｌｌｅ，Ｍｄ．，Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃ Ｈｏｒｉｚｏｎｓ ２（１９７８），１－７）、Ｖｏｌｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｐａｔｈｏｌ．３１（１９７８），５０７－５２０、Ｂｕｔｌｅｒ，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．７３（１９８１），４８２－５２３、Ｍａｇｇｉｏ，（ｅｄ．），Ｅｎｚｙｍｅ Ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，Ｆｌａ．，（１９８０）、Ｉｓｈｉｋａｗａ，ｅｔ ａｌ．，（ｅｄｓ．），Ｅｎｚｙｍｅ Ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ，Ｋｇａｋｕ Ｓｈｏｉｎ，Ｔｏｋｙｏ（１９８１）。抗体に結合している酵素は、例えば分光光度法、蛍光定量法、または視覚的手段によって検出され得る化学部分を生成するように、適切な基質、場合により発色性基質と反応する。抗体を検出可能に標識するために使用できる酵素としては、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、デルター５－ステロイドイソメラーゼ、酵母アルコールデヒドロゲナーゼ、アルファグリセロリン酸デヒドロゲナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、ベータガラクトシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ、グルコアミラーゼ、及びアセチルコリンエステラーゼが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、検出は、酵素の発色性基質を用いる比色法によって達成することができる。検出は、基質の酵素反応の程度を同様に調製された標品と比べて視覚的に比較することによって達成することもできる。

【０２５２】

検出は、様々な他のイムノアッセイのいずれかを使用して達成することもできる。例えば、抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体を放射性標識することにより、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）の使用によって抗体を検出することが可能である（例えば、参照により本明細書に組み込まれるＷｅｉｎｔｒａｕｂ，Ｂ．，Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ｏｆ Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙｓ，Ｓｅｖｅｎｔｈ Ｔｒａｉｎｉｎｇ Ｃｏｕｒｓｅ ｏｎ Ｒａｄｉｏｌｉｇａｎｄ Ａｓｓａｙ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ，Ｔｈｅ Ｅｎｄｏｃｒｉｎｅ Ｓｏｃｉｅｔｙ，（Ｍａｒｃｈ，１９８６））を参照されたい）。放射性同位元素は、ガンマカウンター、シンチレーションカウンター、またはオートラジオグラフィーを含むがこれらに限定されない手段によって検出することができる。

【０２５３】

抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体は、^{152}Ｅｕ、またはランタニド系列の他のもののような蛍光放出金属を使用して検出可能に標識することもできる。これらの金属は、ジエチレントリアミン五酢酸（ＤＴＰＡ）またはエチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）などの金属キレート基を使用して抗体に結合させることができる。

【０２５４】

抗体、またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは誘導体に様々な部分をコンジュゲートするための技術はよく知られている。例えば、Ａｒｎｏｎ ｅｔ ａｌ．，“Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｉｍｍｕｎｏｔａｒｇｅｔｉｎｇ Ｏｆ Ｄｒｕｇｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ”，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｒｅｉｓｆｅｌｄ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐｐ．２４３－５６（Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．（１９８５）、Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍ ｅｔ ａｌ．，“Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ”，ｉｎ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ（２ｎｄ Ｅｄ．），Ｒｏｂｉｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，（１９８７）６２３－５３、Ｔｈｏｒｐｅ，“Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｃａｒｒｉｅｒｓ Ｏｆ Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ａｇｅｎｔｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ：Ａ Ｒｅｖｉｅｗ”，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ’８４：Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｐｉｎｃｈｅｒａ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），（１９８５）４７５－５０６、“Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｒｅｓｕｌｔｓ，Ａｎｄ Ｆｕｔｕｒｅ Ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ Ｏｆ Ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｕｓｅ Ｏｆ Ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ”，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ Ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｂａｌｄｗｉｎ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ（１９８５）３０３－１６、及びＴｈｏｒｐｅ ｅｔ ａｌ．，“Ｔｈｅ Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ Ａｎｄ Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ Ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ｔｏｘｉｎ Ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ”，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｒｅｖ．６２（１９８２），１１９－１５８を参照されたい。

【０２５５】

前述のように、ある特定の実施形態では、結合分子、例えば、結合ポリペプチド、例えば、抗体またはその免疫特異的断片の安定性または効力を増強する部分をコンジュゲートしてもよい。例えば、一実施形態において、ＰＥＧを本発明の結合分子にコンジュゲートして、インビボでのそれらの半減期を増加させることができる。Ｌｅｏｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｃｙｔｏｋｉｎｅ １６（２００１），１０６、Ａｄｖ．ｉｎ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ．Ｒｅｖ．５４（２００２），５３１、またはＷｅｉｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓａｃｔｉｏｎｓ ３０（２００２），５１２。

【０２５６】

ＶＩ．本発明の組成物及び使用方法

本発明は、前述の本発明のＤＰＲ結合分子、例えば、抗体またはそのＤＰＲ結合性断片、バリアント、もしくは生物工学的誘導体、または上文で定義した本発明のポリヌクレオチド（複数可）、ベクター（複数可）、もしくは細胞を含む、組成物に関する。一実施形態において、本発明の組成物は医薬組成物であり、薬学的に許容される担体をさらに含む。さらに、本発明の医薬組成物は、医薬組成物の使用目的に応じて、インターロイキンまたはインターフェロンなどのさらなる薬剤を含んでいてもよい。ＤＰＲもしくはその凝集形態、特にＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲの発生を示すか、またはそれらに関連する、ＦＴＬＤなどの疾患または障害の処置において使用する場合、さらなる薬剤は、小有機分子、抗ＤＰＲ抗体、及びそれらの組み合わせからなる群から選択され得る。よって、特定の好ましい実施形態において、本発明は、ＤＰＲタンパク質に関連する疾患もしくは障害の予防的処置及び治療的処置のための医薬組成物もしくは診断用組成物の調製、ＤＰＲタンパク質

及び／または凝集したＣ９ｏｒｆ７２に関連する疾患もしくは障害の進行または対象のＤＰＲ処置に対する応答のモニタリング、あるいはＤＰＲタンパク質及び／または凝集したＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲに関連する疾患もしくは障害を発症する対象のリスクの決定のための、本発明のＤＰＲ結合分子、例えば、抗体もしくはそのＤＰＲ結合性断片、またはそのいずれか１つと実質的に同じ結合特異性を有する結合分子、本発明のポリヌクレオチド、ベクター、または細胞の使用に関する。

【０２５７】

よって、一実施形態において、本発明は、Ｃ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲによる凝縮したＣ９ｏｒｆ７２などのＤＰＲ及びＤＰＲタンパク質の異常な蓄積及び／または沈着を特徴とする疾患または障害を処置する方法に関し、この方法は、それを必要とする対象に、前述の本発明のＤＰＲ結合分子、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、または細胞のいずれか１つを治療有効量で投与することを含む。

【０２５８】

本発明の治療アプローチの特定の利点は、本発明の組換え抗体が、ＤＰＲもしくはその凝集形態の発生を示すか、またはそれらに関連する疾患の徴候または症状を示さない、例えば無症候性変異（単数）及び／または変異（複数）を有する健康なヒト対象のＢ細胞またはメモリーＢ細胞に由来し、したがって、ある程度の確率で、ＤＰＲ、例えば、Ｃ９ｏｒｆ７２タンパク質におけるジペプチドリピート（ＤＰＲ）の形成をもたらす伸長したヘキサヌクレオチドリピートを伴う変異型Ｃ９ｏｒｆ７２、及びＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲによる凝集したＣ９ｏｒｆ７２に関連する臨床的に明確な疾患を防止すること、または臨床的に明確な疾患もしくは障害が発生するリスクを減少させること、または臨床的に明確な疾患もしくは障害の発症もしくは進行を遅延させることができるという事実にある。また、典型的に、本発明の抗体では、体細胞の成熟、すなわち、抗体の可変領域の体細胞変異による、標的ＤＰＲ分子への高親和性結合における選択性及び有効性に関する最適化が、すでに首尾よく起こっている。

【０２５９】

そのような細胞が、インビボで、例えばヒトで、関連タンパク質もしくは他の生理学的タンパク質または細胞構造により、自己免疫反応またはアレルギー反応という意味で活性化されていないという知識は、臨床試験段階を通過するのに成功する可能性が大幅に増加することを意味するので、これもまた大きな医学的重要性をもつ。あえて言えば、効率、受容性、及び忍容性は、予防的または治療的な抗体の前臨床開発及び臨床開発の前に、少なくとも１名のヒト対象においてすでに実証されている。したがって、本発明のヒト由来抗ＤＰＲ抗体は、治療剤として標的構造に特異的な親和性が高いことと、副作用の確率が低いことの両方により、臨床成功の確率を著しく高めることが期待できる。

【０２６０】

本発明はまた、上述の成分、例えば本発明の抗ＤＰＲ抗体、その結合性断片、生物工学的誘導体、もしくはバリアント、ポリヌクレオチド、ベクター、または細胞のうちの１つ以上が充填された１つ以上の容器を含む、それぞれ薬学的及び診断用のパックまたはキットを提供する。かかる容器（複数可）には、医薬品もしくは生物学的製品の製造、使用、または販売を規制する政府機関が定めた形式の注意書きが付属していてもよく、この注意書きは、政府機関がヒトへの投与のための製造、使用、または販売を承認したことを反映するものである。さらに、または代替的に、キットは、適切な診断アッセイで使用される試薬及び／または説明書を含む。本発明の組成物、例えばキットは、当然ながら、ＤＰＲの存在を伴う疾患または障害のリスク評価、診断、防止、及び処置に特に好適であり、特に、ＤＰＲの存在を一般的な特徴とする障害の処置に適用可能である。特に、この組成物は、ＤＰＲ凝集、例えば、Ｃ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲによる凝集したＣ９ｏｒｆ７２の形成をもたらす伸長したヘキサヌクレオチドリピートを伴う変異型Ｃ９ｏｒｆ７２に関連する障害の処置に有用である。ＤＰＲに関連する疾患及び／または障害は、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、ＦＴＬＤ－ＡＬＳ、及び／または脊髄小脳失調症３６型を含むが、これらに限定されない。

【０２６１】
本発明の医薬組成物は、当該技術分野でよく知られている方法に従って処方することができる。例えば、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｉｎ ＰｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａによるＲｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ（２０００）、ＩＳＢＮ ０－６８３－３０６４７２を参照されたい。好適な薬学的担体の例は当該技術分野でよく知られており、リン酸緩衝食塩水溶液、水、油／水エマルジョンなどのエマルジョン、様々なタイプの湿潤剤、滅菌溶液などを含む。そのような担体を含む組成物は、よく知られている従来の方法によって処方することができる。こうした医薬組成物は、好適な用量で対象に投与することができる。好適な組成物の投与は、様々な方法によって、例えば、静脈内投与、腹腔内投与、皮下投与、筋肉内投与、鼻腔内投与、局所投与、もしくは皮内投与、または脊髄もしくは脳への送達によって実施することができる。鼻腔用スプレー製剤などのエアロゾル製剤は、活性剤の精製された水溶液または他の溶液を、防腐剤及び等張剤とともに含む。そのような製剤は、場合により、鼻粘膜に適合するｐＨ及び等張状態に調整される。直腸投与または膣内投与用の製剤は、好適な担体を含む坐剤として供給されてもよい。

【０２６２】
投与レジメンは、主治医及び臨床的要因によって決定される。医学分野でよく知られているように、任意の患者１名に対する投与量は、患者のサイズ、体表面積、年齢、投与される特定の化合物、性別、投与の時間及び経路、全体的な健康、ならびに同時に投与される他の薬物など、多くの要因に左右される。典型的な用量は、例えば、０．００１～１０００μｇの範囲（またはこの範囲内の発現もしくは発現阻害のための核酸）であり得る。しかしながら、特に前述の要因を考慮すると、この例示的な範囲より下または上の用量が想定される。一般に、投与量は、宿主の体重に対して、例えば、約０．０００１～１００ｍｇ／ｋｇ、より通常には０．０１～５ｍｇ／ｋｇの範囲（例えば、０．０２ｍｇ／ｋｇ、０．２５ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／ｋｇ、０．７５ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇなど）であり得る。例えば、投与量は、１ｍｇ／ｋｇ体重もしくは１０ｍｇ／ｋｇ体重、または１～１０ｍｇ／ｋｇの範囲内、場合により少なくとも３、１０、または３０ｍｇ／ｋｇであり得る。上記範囲の中間の用量もまた、本発明の範囲内にあることが意図される。対象には、かかる用量を毎日、隔日で、毎週、または経験的分析によって決定された任意の他のスケジュールに従って投与することができる。例示的な処置は、例えば少なくとも６か月の長期間にわたる、複数の投与量での投与を伴う。さらなる例示的な処置レジメンは、２週間毎に１回、または１か月に１回、または３～６か月毎に１回の投与を伴う。例示的な投与スケジュールは、連日もしくは隔日で１～１０ｍｇ／ｋｇもしくは１５ｍｇ／ｋｇ、または毎週３０ｍｇ／ｋｇを含む。実施例１８も参照されたい。いくつかの方法では、結合特異性の異なる２つ以上のモノクローナル抗体が同時に投与され、この場合、投与される各抗体の投与量は、指示される範囲内に含まれる。進捗は定期的な評価によってモニタリングすることができる。非経口投与用の調製物は、滅菌された水性または非水性の溶液、懸濁液、及びエマルジョンを含む。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油などの植物油、及びオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルである。水性担体としては、水、アルコール溶液／水溶液、エマルジョン、または懸濁液が挙げられ、食塩水、及び緩衝媒体を含む。非経口ビヒクルとしては、塩化ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロース及び塩化ナトリウム、乳酸リンゲル液、または固定油が挙げられる。静脈内ビヒクルとしては、流体及び栄養補充薬、電解質補充薬（例えばリンゲルデキストロースに基づくもの）などが挙げられる。例えば抗菌剤、抗酸化剤、キレート剤、及び不活性ガスなどの防腐剤及び他の添加剤が存在してもよい。さらに、本発明の医薬組成物は、医薬組成物の使用目的に応じて、ドパミンまたは精神薬理学的薬物などのさらなる薬剤を含んでいてもよい。

【０２６３】
さらに、本発明の好ましい実施形態において、本発明の医薬組成物が受動免疫のために抗ＤＰＲ抗体またはそのＤＰＲ結合性断片、または合成もしくは生物工学的なバリアント

もしくは誘導体を含む場合、医薬組成物は、例えば、ワクチンとして処方されてもよい。背景技術のセクションに記載したように、凝集したＤＰＲ種は、ＦＴＬＤ及びＡＬＳなどの疾患及び／または障害の主要な誘因である。したがって、本発明のヒト由来抗ＤＰＲ抗体及び同等のＤＰＲ結合分子による受動免疫が、能動免疫療法の概念のいくつかの悪影響を回避するのに役立ち、ＤＰＲの凝集の低減につながることを期待するのは堅実である。したがって、本発明の抗ＤＰＲ抗体及びそれらの同等物は、ＤＰＲもしくはその凝集形態、特にＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲの存在を示すか、またはそれらに起因する、ＦＴＬＤなどの疾患または障害を防止または改善するためのワクチンとして、特に有用である。

【０２６４】

一実施形態において、細胞膜を比較的容易に透過し得る本発明の抗体の組換えＦａｂ（ｒＦａｂ）及び一本鎖断片（ｓｃＦｖ）を使用することが有益であり得る。例えば、先にオンラインで公開されたＲｏｂｅｒｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．Ｄｅｓ．Ｓｅｌ．（２００８）；Ｓ１７４１－０１３４は、ＡｂｅｔａのＮ末端領域にあるエピトープを認識するモノクローナル抗体ＷＯ－２のキメラ組換えＦａｂ（ｒＦａｂ）及び一本鎖断片（ｓｃＦｖ）の使用について説明している。工学操作された断片は、（ｉ）アミロイド線維化を防止すること、（ｉｉ）事前に形成されたＡｂｅｔａ１－４２原線維を脱凝集させること、及び（ｉｉｉ）Ａｂｅｔａ１－４２オリゴマーによる神経毒性をインビトロで全ＩｇＧ分子と同程度に効率的に阻害することができた。エフェクター機能を欠く小さなＦａｂ及びｓｃＦｖの工学操作された抗体フォーマットを使用することに認められる利点としては、血液脳関門をより効率的に通過すること、及び炎症性副反応を誘発するリスクを最小限に抑えることが挙げられる。さらに、ｓｃＦｖ及び単一ドメイン抗体は、完全長抗体の結合特異性を保持するだけでなく、単一遺伝子として、また哺乳動物細胞では細胞内抗体として細胞内に発現することができ、フォールディング、相互作用、修飾、または標的の細胞下局在化を変化させる可能性がある。総説については、例えば、Ｍｉｌｌｅｒ　ａｎｄ　Ｍｅｓｓｅｒ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　１２（２００５），３９４－４０１を参照されたい。

【０２６５】

異なるアプローチでは、Ｍｕｌｌｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｅｘｐｅｒｔ　Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｌ．Ｔｈｅｒ．（２００５），２３７－２４１は、生細胞を害することなく抗体を生細胞にシャトリングすることを可能にするといわれる、いわゆる「ＳｕｐｅｒＡｎｔｉｂｏｄｙ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ」という技術プラットフォームについて記載している。このような細胞透過性抗体は、新たな診断及び治療の機会を拓く。「ＴｒａｎｓＭａｂｓ」という用語は、これらの抗体を指す造語である。

【０２６６】

さらなる実施形態において、ＤＰＲ、特にＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲなどの凝集したＤＰＲの発生に関連する疾患、障害、または症状を処置するのに有用な他の抗体の同時投与または連続投与が望ましい場合がある。一実施形態において、さらなる抗体は、本発明の医薬組成物に含まれている。対象を処置するために使用することのできる抗体の例としては、ＣＤ３３、ＳＧＬＴ２、ＩＬ－６、及びＩＬ－１を標的とする抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２６７】

さらなる実施形態において、ＤＰＲ、特に変異型Ｃ９ｏｒｆ７２などの凝集したＤＰＲ、すなわちＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲに関連する疾患、障害、または症状を処置するのに有用な他の薬剤の同時投与または連続投与が望ましい場合がある。一実施形態において、さらなる薬剤は、本発明の医薬組成物に含まれている。対象を処置するために使用することのできる薬剤の例としては、筋肉の不随意運動を標的とするＶＭＡＴ２阻害剤、例えばジフルシナル（ｄｉｆｌｕｓｉｎａｌ）、コルチコステロイド、２－（２，６－ジクロラニリノ）フェニル酢酸（ジクロフェナク）、イソブチル－プロパン－フェノール酸（イブプロフェン）などの抗炎症剤；利尿薬、没食子酸エピガロカテキン、塩酸メルファラン、デキサメタゾン、ボルテゾミブ、ボルテゾミブ－メルファラン、ボルテゾミブ－デキサメタ

ゾン、メルファラン－デキサメタゾン、ボルテゾミブ－メルファラン－デキサメタゾン；抗うつ薬、統合失調症治療薬、神経遮断薬、抗認知症薬（例えば、ＮＭＤＡ受容体拮抗薬のメマンチン）、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤（例えばドネペジル、ＨＣＩ、リバスチグミン、ガランタミン）、グルタミン酸拮抗薬、及び他の向知性薬や血圧の薬（例えばジヒドララジン、メチルドパ）、細胞分裂阻害薬、糖質コルチコイド、アンジオテンシン変換酵素（ＡＣＥ）阻害剤；抗炎症剤、またはそれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２６８】

治療有効用量または治療有効量とは、症状または状態を改善するのに十分な有効成分の量を指す。そのような化合物の治療有効性及び毒性は、細胞培養物または実験動物において標準的な薬学的手法、例えば、ED_{50}（集団の５０％に治療上有効な用量）及びLD_{50}（集団の５０％に致死的な用量）によって決定することができる。治療効果と毒性効果との間の用量比が治療指数であり、これは、LD_{50}／ED_{50}の比として表すことができる。

【０２６９】

前述のことから、本発明が、上述の抗体及びそのバリアントの少なくともＣＤＲを含むＤＰＲ結合分子の任意の使用、特に、ＤＰＲ、特にＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲなどの凝集したＤＰＲ種に関連する、ＦＴＬＤなどの疾患または障害の診断及び／または処置のための使用を包含することは明らかである。場合により、該結合分子は、本発明の抗体またはその生物工学的誘導体である。

【０２７０】

別の実施形態において、本発明は、上述の本発明のＤＰＲ結合分子、抗体、ＤＰＲ結合性断片、ポリヌクレオチド、ベクター、または細胞のいずれか１つと、場合により、免疫または核酸に基づく診断方法において従来使用されている試薬などの好適な検出手段とを含む、診断用組成物に関する。本発明の抗体は、例えば、イムノアッセイで使用するのに適しており、イムノアッセイでは、本発明の抗体を液相で利用することも、または固相担体に結合させることもできる。本発明の抗体を利用することができるイムノアッセイの例は、直接または間接のいずれかのフォーマットにおける競合的及び非競合的なイムノアッセイである。そのようなイムノアッセイの例は、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、サンドイッチ（イムノメトリックアッセイ）、フローサイトメトリ、及びウエスタンブロットアッセイである。本発明の抗体は、多くの異なる担体に結合させて、これに特異的に結合した細胞を単離するために使用することができる。よく知られている担体の例としては、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカーボネート、デキストラン、ナイロン、アミロース、天然セルロース及び修飾セルロース、ポリアクリルアミド、アガロース、ならびにマグネタイトが挙げられる。本発明において、担体の性質は、可溶性であっても不溶性であってもよい。多くの異なる標識及び標識方法が当業者に知られている。本発明で使用することのできるタイプの標識の例としては、酵素、放射性同位元素、コロイド金属、蛍光化合物、化学発光化合物、及び生物発光化合物が挙げられる。上文に記述した実施形態も参照されたい。

【０２７１】

さらなる実施形態によっては、本発明のＤＰＲ結合分子、特に抗体は、被験個体から、血液試料、血漿試料、血清試料、リンパ試料、または唾液もしくは尿試料などの任意の他の体液試料であり得る体液試料を得ることと、抗体－抗原複合体の形成を可能にする条件下で該体液試料を本発明の抗体に接触させることにより、個体の疾患または障害を診断する方法において、使用されてもよい。次いで、そのような複合体のレベルが、当該技術分野において公知の方法によって決定され、対照試料において生じたレベルよりも有意に高いレベルは、被験個体に疾患または障害があることを示す。同様に、本発明の抗体が結合する特定の抗原を使用することもできる。したがって、本発明は、本発明の結合分子、例えば、抗体またはそのＤＰＲ結合性断片を含む、インビトロイムノアッセイに関する。

【０２７２】

本発明のさらなる実施形態において、本発明のＤＰＲ結合分子、特に抗体は、被験個体から生検を得ることによって個体の疾患または障害を診断する方法において使用することもできる。これに関連して、本発明は、この目的のために特別に設計された手段にも関する。例えば、抗体ベースのアレイで、例えばＤＰＲを特異的に認識する本発明の抗体または同等のＤＰＲ結合分子がロードされたものを使用してもよい。マイクロアレイイムノアッセイの設計は、Ｋｕｓｎｅｚｏｗ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｐｒｏｔｅｏｍｉｃｓ　５（２００６），１６８１－１６９６に要約されている。したがって、本発明は、本発明のＤＰＲ結合分子がロードされたマイクロアレイにも関する。

【０２７３】

一実施形態において、本発明は、対象における、ＤＰＲ、特にＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲなどの凝集したＤＰＲ種に関連する疾患または障害を診断する方法に関し、この方法は、少なくとも１つの本発明の抗体、そのＤＰＲ結合性断片、またはそのいずれか１つと実質的に同じ結合特異性を有するＤＰＲ結合分子を用いて、診断される対象から得た試料中のＤＰＲ及び凝集したＤＰＲのそれぞれの存在を決定することを含み、ここで、ＤＰＲまたはその病理学的に凝集した形態、場合によりＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲの存在は、ＦＴＬＤ及び／またはＡＬＳを示し、生理学的Ｃ９ｏｒｆ７２、すなわちリピート領域のＤＰＲタンパク質への翻訳を示さないＣ９ｏｒｆ７２のレベルと比較した、ＤＰＲもしくはその病理学的に凝集した形態、特にＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲのレベルの上昇は、該対象のＦＴＬＤ及び／またはＡＬＳの進行を示す。

【０２７４】

診断される対象は、無症候性または疾患発症前であり得る。場合により、対照対象は、ＤＰＲ、凝集したＤＰＲ、及び／または場合によりＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲに関連する疾患、例えば上述のＦＴＬＤ、ＡＬＳ、及びＦＴＬＤ－ＡＬＳなどを有し、ＤＰＲ、例えば凝集したＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲのレベルと参照標準との類似性は、診断される対象がＦＴＬＤ、ＡＬＳ及び／またはＦＴＬＤ－ＡＬＳを有するか、またはＤＰＲ凝集に関連する疾患及び／または障害を発症するリスクがあることを示す。代替的に、またはさらに、第２の対照として、対照対象はＤＰＲ凝集を有さず、生理学的Ｃ９ｏｒｆ７２あるいは変異型Ｃ９ｏｒｆ７２遺伝子及び／または凝集したＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲのように遺伝子の変異によってＤＰＲが挿入されやすい別のタンパク質のレベルと、参照標準との間の差は、診断される対象が、ＤＰＲに関連する、ＦＴＬＤ、ＡＬＳ及び／またはＦＴＬＤ－ＡＬＳなどの疾患及び／または障害を有するか、またはＤＰＲに関連する疾患及び／または障害を発症するリスクがあることを示す。場合により、診断される対象と対照対象（複数可）とは同年齢である。分析される試料は、凝集したＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲなどの病理学的ＤＰＲタンパク質を含むことが疑われる任意の体液、例えば血液、血漿、血清、尿、腹水、唾液、または脳脊髄液（ＣＳＦ）であり得る。

【０２７５】

生理学的Ｃ９ｏｒｆ７２もしくは同様のタンパク質及び／またはＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲなどの凝集したＤＰＲのレベルは、例えば、ＤＰＲ及び／またはＣ９ｏｒｆ７２などのＤＰＲを組み込んだタンパク質を、ウエスタンブロット、免疫沈降、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、蛍光活性化セルソーティング（ＦＡＣＳ）、二次元ゲル電気泳動、マススペクトロメトリー（ＭＳ）、マトリックス支援レーザー脱離／イオン化飛行時間型ＭＳ（ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ）、表面エンハンス型レーザー脱離イオン化飛行時間（ＳＥＬＤＩ－ＴＯＦ）、高速液体クロマトグラフィ（ＨＰＬＣ）、高速タンパク質液体クロマトグラフィ（ＦＰＬＣ）、多次元液体クロマトグラフィ（ＬＣ）に続くタンデムマススペクトロメトリー（ＭＳ／ＭＳ）、及びレーザー濃度測定から選択される１つ以上の技術によって分析することを含む、当該技術分野において公知の任意の好適な方法によって評価することができる。場合により、このＤＰＲのインビボ造影は、シンチグラフィー、ポジトロン放出断層撮影（ＰＥＴ）、単一光子放出断層撮影（ＳＰＥＣＴ）、近赤外（ＮＩＲ）光学造影、または磁気共鳴造影（ＭＲＩ）を含む。

【０２７６】

したがって、一実施形態では、上文で定義した本発明の抗体、ポリヌクレオチド（複数可）、ベクター（複数可）、もしくは細胞、またはそれらのいずれか１つを含む医薬組成物もしくは診断用組成物は、ＤＰＲタンパク質もしくはその凝集形態に関連する疾患もしくは障害の予防的処置、治療的処置、及び／またはその進行もしくは処置への応答のモニタリングにおいて使用するために提供される。したがって、本発明は、対象におけるＤＰＲタンパク質に関連する疾患もしくは障害（例えばＦＴＬＤ及びＡＬＳ）を診断する、またはその進行をモニタリングする方法にも関し、この方法は、少なくとも１つの本発明の抗体、またはそのいずれか１つと実質的に同じ結合特異性を有するＤＰＲ結合分子を用いて、診断される対象から得た試料中のＤＰＲタンパク質の存在を決定することを含み、ここで、変異型Ｃ９ｏｒｆ７２及び凝集したＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲ種におけるようなＤＰＲの存在は、疾患または障害を示す。一実施形態では、対象におけるＤＰＲ関連疾患及び／または障害を診断する、またはその進行をモニタリングする該方法が提供され、この方法は、少なくとも１つの本発明の抗体を用いて、診断される対象から得た試料中の変異型Ｃ９ｏｒｆ７２及びその凝集形態におけるようなＤＰＲの存在を決定することを含み、ここで、変異型Ｃ９ｏｒｆ７２及び／または凝集したＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲなどのＤＰＲの存在は、ＤＰＲに関連する発症前、前駆期、もしくは臨床期の疾患及び／または障害を示し、ＤＰＲを伴わない生理学的Ｃ９ｏｒｆ７２のレベルと比較した、または健康な対照対象に由来する参照試料もしくは同じ対象に由来する対照試料と比較した、ＤＰＲ凝集体、特にＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲのレベルの上昇は、ＤＰＲに関連する発症前、前駆期、もしくは既存の疾患及び／または障害、例えばＦＴＬＤ及びＡＬＳの進行を示す。一実施形態において、該方法が、上文で定義したように、ＤＰＲ及びＤＰＲを含むタンパク質にそれぞれ関連する障害の群に含まれる任意の他の疾患もしくは障害を診断すること、またはその進行をモニタリングすることにも使用されることは、当業者には理解されよう。

【０２７７】

上記のように、本発明の抗体は、インビトロだけでなくインビボでも使用することができ、診断に加えて、治療用途も探究され得る。したがって、一実施形態では、本発明は、ヒトもしくは動物の体内における、ＤＰＲ、場合によりＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲのインビボ検出、あるいはＤＰＲ、場合によりＣ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲへの治療剤及び／または診断剤の標的化のための組成物を調製するための、本発明の抗体のＣＤＲを含むＤＰＲ結合分子にも関する。考えられる治療剤及び／または診断剤は、上文に示した、ＤＰＲに関連する疾患及び／または障害の処置に有用な治療剤、ならびに考えられる標識の非網羅的な列挙から選択することができる。インビボ造影に関して、好ましい一実施形態において、本発明は、本発明の抗体のＣＤＲを含む該ＤＰＲ結合分子を提供し、該インビボ造影は、シンチグラフィー、ポジトロン放出断層撮影（ＰＥＴ）、単一光子放出断層撮影（ＳＰＥＣＴ）、近赤外（ＮＩＲ）光学造影、または磁気共鳴造影（ＭＲＩ）を含む。さらなる実施形態において、本発明はまた、上文で定義したような、対象におけるＤＰＲタンパク質に関連する疾患もしくは障害を診断する、またはその進行をモニタリングする方法において使用するための、本発明の抗体のＣＤＲを含む該ＤＰＲ結合分子、または上記に規定したインビボ造影法のための組成物の調製のための該分子を提供する。

【０２７８】

これに関連して、本発明は、ＤＰＲ及びＤＰＲ含有タンパク質に関連する疾患及び／または障害の診断、またはその進行のモニタリングにおいて有用なキットにも関し、該キットは、それぞれ上文で定義した少なくとも１つの本発明の抗体、またはそのいずれか１つと実質的に同じ結合特異性を有するＤＰＲ結合分子、ポリヌクレオチド、ベクター、または細胞及び／またはペプチドを、場合により試薬及び／または使用説明書とともに含む。

【０２７９】

本明細書では、以下の付番されたパラグラフで説明されている組成物、方法、及び／または使用が提供される。

【０２８０】

１。抗ＤＰＲ抗体またはその断片であって、

（ｉ）配列番号３８のアミノ酸配列（または配列番号３８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を有する重鎖、及び
（ｉｉ）配列番号４２のアミノ酸配列（または配列番号４２と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を有する軽鎖
を含む、前記抗ＤＰＲ抗体またはその断片。
【０２８１】
１ａ。抗ＤＰＲ抗体またはその断片（例えば、ポリ（ＧＡ）ｎリピート、例えば、本明細書に記載されるポリ（ＧＡ）ｎリピート、例えば、ポリ（ＧＡ）$_{6-15}$に結合する、例えば、特異的に及び／または高い親和性で結合するもの）（配列番号８３）であって、
（ｉ）配列番号３７もしくは３８のアミノ酸配列（または配列番号３７もしくは３８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｉ）配列番号３９のアミノ酸配列（または配列番号３９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖定常ドメイン
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｉｉ）配列番号４０（または配列番号４０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖可変領域アミノ酸配列
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｖ）配列番号４１もしくは４２（または配列番号４１もしくは４２と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖のアミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖ）配列番号４３（または配列番号４３と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖定常ドメインアミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖｉ）配列番号４４（または配列番号４４と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖可変領域アミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖｉｉ）配列番号４５のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４５と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４６のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４６と少なくとも９

５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４７のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号４７と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む重鎖可変領域
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
及び／または
（ｖｉｉｉ）配列番号４８のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４９のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号５０のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号５０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む軽鎖可変領域
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さであり、及び／または、場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］
を含む、前記抗ＤＰＲ抗体またはその断片。
【０２８２】
１ｂ。パラグラフ１～１ｅのいずれかに記載の抗ＤＰＲ抗体またはその断片であって、例えば、重鎖、軽鎖、重鎖可変領域、重鎖定常ドメイン、軽鎖可変領域、軽鎖定常ドメイン、可変重鎖ＣＤＲ、及び／または可変軽鎖ＣＤＲに対して異種である異種配列を含む、前記抗ＤＰＲ抗体またはその断片。
【０２８３】
１ｃ。前記異種配列が、免疫グロブリン重鎖定常領域、免疫グロブリン軽鎖定常領域、または異種哺乳動物分泌シグナルペプチドを含む、パラグラフ１ｂに記載の抗ＤＰＲ抗体またはその断片。
【０２８４】
１ｄ。ポリエチレングリコールまたは検出可能な標識、例えば、酵素、放射性同位元素、蛍光化合物、化学発光化合物、生物発光化合物、または重金属を含む、パラグラフ１～１ｃのいずれかに記載の抗ＤＰＲ抗体またはその断片。
【０２８５】
１ｅ。前記抗体またはその断片が、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、$F(ab')_2$、Ｆｃ、Ｆｖ、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、一本鎖抗体、及びジスルフィド結合Ｆｖ（ｓｄＦｖ）からなる群から選択される、パラグラフ１～１ｄのいずれかに記載の抗ＤＰＲ抗体またはその断片。
【０２８６】
２。
（ｉ）配列番号３８のアミノ酸配列（または配列番号３８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を有する抗ＤＰＲ抗体の重鎖をコードする核酸配列、及び／または
（ｉｉ）配列番号４２のアミノ酸配列（または配列番号４２と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を有する抗ＤＰＲ抗体の軽鎖をコードする核酸配列
を含み、場合により、前記核酸配列（ｉ）及び（ｉｉ）が、同じ核酸分子または別個の核

酸分子上に配置されている、核酸分子。
【０２８７】
２ａ。前記核酸分子が、ｃＤＮＡを含み、及び／または、異種核酸、例えば、異種シグナルペプチド（例えば、分泌シグナルペプチド、例えば、哺乳動物分泌シグナルペプチド、例えば、本明細書に記載される分泌シグナルペプチド）もしくは異種調節エレメント（例えば、異種エンハンサー、リボソーム結合部位、転写ターミネーター、もしくは異種プロモーター（例えば、サイトメガロウイルス、サルウイルス４０、もしくはレトロウイルスプロモーター））に作動可能に連結している、パラグラフ２に記載の核酸分子。
【０２８８】
２ｂ。以下の（ｉ）～（ｖｉｉｉ）：
（ｉ）配列番号３７もしくは３８のアミノ酸配列（または配列番号３７もしくは３８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｉ）配列番号３９のアミノ酸配列（または配列番号３９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖定常ドメイン
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｉｉ）配列番号４０（または配列番号４０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖可変領域アミノ酸配列
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｖ）配列番号４１もしくは４２（または配列番号４１もしくは４２と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖のアミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖ）配列番号４３（または配列番号４３と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖定常ドメインアミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖｉ）配列番号４４（または配列番号４４と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖可変領域アミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖｉｉ）配列番号４５のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４５と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４６のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４６と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミ

ノ酸配列）と、配列番号４７のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号４７と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む重鎖可変領域
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
及び／または
（ｖｉｉｉ）配列番号４８のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４９のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号５０のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号５０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む軽鎖可変領域
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さであり、及び／または、場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］
のうちの１つ以上をコードする核酸分子。
【０２８９】
３。配列番号５１～５８（または配列番号５１～５８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）のヌクレオチド配列のうちの１つ以上を含む核酸分子。
【０２９０】
３ａ。パラグラフ１～１ｅのいずれかに記載の抗体またはその断片をコードする１つ以上の核酸分子。
【０２９１】
３ｂ。パラグラフ２～３ａのいずれかに記載の核酸分子（複数可）を含むｃＤＮＡ。
【０２９２】
３ｃ。
（ｉ）配列番号３７もしくは３８のアミノ酸配列（または配列番号３７もしくは３８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｉ）配列番号３９のアミノ酸配列（または配列番号３９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖定常ドメイン
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｉｉ）配列番号４０（または配列番号４０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖可変領域アミノ酸配列

［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｖ）配列番号４１もしくは４２（または配列番号４１もしくは４２と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖のアミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖ）配列番号４３（または配列番号４３と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖定常ドメインアミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖｉ）配列番号４４（または配列番号４４と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖可変領域アミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖｉｉ）配列番号４５のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４５と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４６のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４６と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４７のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号４７と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む重鎖可変領域
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
及び／または
（ｖｉｉｉ）配列番号４８のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４９のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号５０のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号５０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む軽鎖可変領域
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さであり、及び／または、場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、及び／または
（ｉｘ）配列番号３８のアミノ酸配列（または配列番号３８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を有する重鎖、及び／または
（ｘ）配列番号４２のアミノ酸配列（または配列番号４２と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を有する軽鎖

をコードするポリヌクレオチドを含むｃＤＮＡ。
【０２９３】
４。パラグラフ２～３ａのいずれかに記載の核酸分子（複数可）またはパラグラフ３ｂ～３ｃのいずれかに記載のｃＤＮＡを含むベクター。
【０２９４】
４ａ。前記ベクターが、ポリヌクレオチドに作動可能に連結した発現ベクターであり、前記ポリヌクレオチドが、
（ｉ）配列番号３７もしくは３８のアミノ酸配列（または配列番号３７もしくは３８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｉ）配列番号３９のアミノ酸配列（または配列番号３９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖定常ドメイン
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｉｉ）配列番号４０（または配列番号４０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる重鎖可変領域アミノ酸配列
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
（ｉｖ）配列番号４１もしくは４２（または配列番号４１もしくは４２と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖のアミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖ）配列番号４３（または配列番号４３と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖定常ドメインアミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖｉ）配列番号４４（または配列番号４４と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を含む、それからなる、またはそれから本質的になる軽鎖可変領域アミノ酸配列
［場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、
（ｖｉｉ）配列番号４５のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４５と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４６のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４６と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４７のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号４７と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む重鎖可変領域

［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さである］、
及び／または
（ｖｉｉｉ）配列番号４８のＣＤＲ１アミノ酸配列（または配列番号４８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号４９のＣＤＲ２アミノ酸配列（または配列番号４９と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）と、配列番号５０のＣＤＲ３アミノ酸配列（または配列番号５０と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）とを含む軽鎖可変領域
［場合により、重鎖のアミノ酸配列（例えば、重鎖の成熟配列）は、４５２アミノ酸以下の長さであり、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にリジン残基を含まず、及び／または、重鎖は、そのアミノ酸配列のＣ末端にグリシンを有し、及び／または、重鎖可変領域アミノ酸配列は、１２３アミノ酸以下の長さであり、及び／または、場合により、軽鎖のアミノ酸配列は、２１４アミノ酸以下の長さであり、及び／または、軽鎖可変領域アミノ酸配列は、１０７アミノ酸以下の長さである］、及び／または
（ｉｘ）配列番号３８のアミノ酸配列（または配列番号３８と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を有する重鎖、及び／または
（ｘ）配列番号４２のアミノ酸配列（または配列番号４２と少なくとも９５％、例えば、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくは１００％同一のアミノ酸配列）を有する軽鎖
のうちの１つ以上をコードする、パラグラフ４に記載のベクター。

【０２９５】

４ｂ。パラグラフ３ｂ～３ｃのいずれかに記載のｃＤＮＡを含む、パラグラフ４～４ａのいずれかに記載のベクター。

【０２９６】

４ｃ。プロモーター（例えば、異種プロモーター、例えば、サイトメガロウイルス（例えば、サイトメガロウイルス前初期プロモーター）、サルウイルス４０、またはレトロウイルスプロモーター）を含む、パラグラフ４～４ｂのいずれかに記載のベクター。

【０２９７】

５。（ｉ）パラグラフ２～３ａのいずれかに記載の核酸分子（複数可）、（ｉｉ）パラグラフ３ｂ～３ｃのいずれかに記載のｃＤＮＡ、または（ｉｉｉ）パラグラフ４～４ｃのいずれかに記載のベクターを含む宿主細胞であって、
場合により、哺乳動物宿主細胞（例えば、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ＨＥＫ２９３細胞、またはＮＳ０細胞）である、前記宿主細胞。

【０２９８】

６。抗ＤＰＲ抗体またはその断片の生成のための、パラグラフ２～３ａのいずれかに記載の核酸分子、パラグラフ３ｂ～３ｃのいずれかに記載のｃＤＮＡ、パラグラフ４～４ｃのいずれかに記載のベクター、またはパラグラフ５に記載の宿主細胞の使用。

【０２９９】

７。抗ＤＰＲ抗体またはその断片を生成する方法であって、（ｉ）パラグラフ５に記載の宿主細胞を培養することと、（ｉｉ）前記抗体またはその断片を前記培養物から単離することとを含む、前記方法。

【０３００】

８。パラグラフ１～１ｅのいずれかに記載の抗ＤＰＲ抗体またはその断片、パラグラフ２～３ａのいずれかに記載の核酸分子（複数可）、パラグラフ３ｂ～３ｃのいずれかに記載のｃＤＮＡ、パラグラフ４～４ｃのいずれかに記載のベクター、またはパラグラフ５に

記載の宿主細胞を含む組成物、例えば、医薬組成物であって、
場合により、前記医薬組成物が、薬学的に許容される担体を含み、
場合により、前記医薬組成物が、髄腔内投与に好適である、前記組成物。
【０３０１】
９。処置を必要とする対象の、ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する障害（例えば、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、前頭側頭葉変性症（ＦＴＬＤ）、またはＦＴＬＤ－ＡＬＳ）を処置する方法であって、本明細書に記載される抗ＤＰＲ抗体またはその断片（例えば、パラグラフ１～１ｅのいずれかに記載の抗ＤＰＲ抗体またはその断片）を前記対象に投与することにより、前記対象の障害（例えば、ＡＬＳ、ＦＴＬＤ、またはＦＴＬＤ－ＡＬＳ）を処置することを含む、前記方法。
【０３０２】
１０。ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する障害（例えば、ＡＬＳ、ＦＴＬＤ、またはＦＴＬＤ－ＡＬＳ）の処置に使用するための医薬組成物を調製する方法であって、（ｉ）パラグラフ５に記載の宿主細胞を培養することと、（ｉｉ）抗体またはその断片を前記培養物から医薬品グレードまで単離及び／または精製することと、（ｉｉｉ）前記抗体またはその断片を薬学的に許容される担体と混合することとを含む、前記方法。
【０３０３】
１１。ＤＰＲ含有タンパク質またはその凝集形態に関連または起因する障害（例えば、ＡＬＳ、ＦＴＬＤ、またはＦＴＬＤ－ＡＬＳ）を処置する（例えば、予防的及び／または治療的に処置する）のに使用するための、パラグラフ１～１ｅのいずれかに記載の抗ＤＰＲ抗体またはその断片、パラグラフ２～３ａのいずれかに記載の核酸分子（複数可）、パラグラフ３ｂ～３ｃのいずれかに記載のｃＤＮＡ、パラグラフ４～４ｃのいずれかに記載のベクター、またはパラグラフ５に記載の宿主細胞。
【０３０４】
１２。脳内のＤＰＲ（例えば、ポリＧＡ　ＤＰＲ）沈着物のインビボ検出のための方法であって、
対象（例えば、ヒト対象）に、パラグラフ１～１ｅのいずれかに記載の抗ＤＰＲ抗体またはその断片を投与することと（ここで、前記抗体またはその断片は、検出可能な標識（例えば、酵素、放射性同位元素、フルオロフォア、及び／または重金属）に結合している）、
前記対象の脳内の前記検出可能な標識を検出することにより、前記対象の脳内の前記ＤＰＲ沈着物を検出することと（場合により、前記ＤＰＲ沈着物は、ポジトロン放出断層撮影（ＰＥＴ）、単一光子放出断層撮影（ＳＰＥＣＴ）、近赤外（ＮＩＲ）、光学造影、または磁気共鳴造影（ＭＲＩ）によって検出される）
を含む、前記方法。
【０３０５】
配列

【表１４－１】
表１４。配列の選択

配列番号	説明	配列
3	NI-308.5J10 VH-CDR1	DYYWS
4	NI-308.5J10 VH-CDR2	RTYTNGKTTYTYNPSLES
5	NI-308.5J10 VH-CDR3	WGAVTGDYYYGMDV
8	NI-308.5J10 VL-CDR1	RSPRSLLHTNGYTYLD
9	NI-308.5J10 VL-CDR2	LASNRAS

【表１４－２】

配列番号	説明	配列
10	NI-308.5J10 VL-CDR3	MQGLQPSWT
13	NI-308.5J10 VH-CDR2 配列 - N54S 変異	RTYTSGKTTYTYNPSLES
14 (核酸)	NI-308.5J10 可変重鎖(VH) 配列 - N54T 変異	caggtgcagctgcaggagtcgggcccaggactggtgaagccttcgg agaccctgtccctcacttacactgtcttaggtggctccgtcagtga ttactactggagctgcatccggcagcccgccgggaagggactggag tggattgggcgaacatatactaccgggaagaccacttacacttaca acccctccctcgagagtcgactcagtttgtctatagacacgtccat gaaccaattctccctgaagttgacctctgtgacggccgcggacacg gccgtctattactgcgcgagatgggggggcggtgactggtgactact actacggtatggacgtctggggcccaggcaccctggtcaccgtctc ctcg
14 (アミノ酸)	NI-308.5J10 可変重鎖(VH) 配列 - N54T 変異	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTTGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSS
16	NI-308.5J10 VH-CDR2 配列 - N54T 変異	RTYTTGKTTYTYNPSLES
19	NI-308.5J10 VH-CDR2 配列 - G55S 変異	RTYTNSKTTYTYNPSLES
22	NI-308.5J10 VH-CDR2 配列 - G55T 変異	RTYTNTKTTYTYNPSLES
25	NI-308.5J10 可変軽鎖(VK) プラスミド (SDD 152)	EIVLTQSPLSLSVTPGEPASISCRSPRSLLHTNGYTYLDWYLQRPG QSPQLLIFLASNRASGVPDRFSGSGSGTNFTLRISGVEADDVGVYY CMQGLQPSWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
26	NI-308.5J10-hIgG1 可変重鎖(VH)プラスミド(SDD 151)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTNGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

【表１４－３】

配列番号	説明	配列
27	NI-308.5J10 可変軽鎖(VK)プラスミド(SDD 177)-N75D 変異	EIVLTQSPLSLSVTPGEPASISCRSPRSLLHTNGYTYLDWYLQRPG QSPQLLIFLASNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLRISGVEADDVGVYY CMQGLQPSWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
28	NI-308.5J10-hIgG1 可変重鎖(VH)プラスミド(SDD 173)- N54S 変異	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTSGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
29	NI-308.5J10-hIgG1 可変重鎖(VH)プラスミド(SDD 174)- N54T 変異	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTTGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	NI-308.5J10-hIgG1 可変重鎖(VH)プラスミド(SDD 175)- G55S 変異	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTNSKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
31	NI-308.5J10-hIgG1 可変重鎖(VH)プラスミド(SDD 176)- G55T 変異	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTNTKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN

【表１４－４】

配列番号	説明	配列
		GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
32	NI-308.5J10-Fab-6His 可変重鎖(VH)プラスミド(SDD178)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTNGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHH HHH
33	NI-308.5J10-Fab-6His 可変重鎖(VH)プラスミド(SDD179)- N54S 変異	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTSGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHH HHH
34	NI-308.5J10-Fab-6His 可変重鎖(VH)プラスミド(SDD180)- N54T 変異	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTTGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHH HHH
35	NI-308.5J10-Fab-6His 可変重鎖(VH)プラスミド(SDD181)- G55S 変異	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTNSKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHH HHH
36	NI-308.5J10-Fab-6His 可変重鎖(VH)プラスミド(SDD182)- G55T 変異	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQPAGKGLE WIGRTYTNTKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMNQFSLKLTSVTAADT AVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHH HHH
61	合成されたジペプチドリピートタンパク質(GA)15	CHHHHHHGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA

【表１４－５】

配列番号	説明	配列
62	合成されたジペプチドリピートタンパク質(GP)15	CGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGP
63	合成されたジペプチドリピートタンパク質(GR)15	CGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGR
64	合成されたジペプチドリピートタンパク質(PA)15	CPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPA
65	合成されたジペプチドリピートタンパク質(PR)15	CPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPR
66	ジペプチドリピートタンパク質ペプチドGA	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA
67	ジペプチドリピートタンパク質ペプチドGP	GPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGPGP
68	ジペプチドリピートタンパク質ペプチドGR	GRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGRGR
69	ジペプチドリピートタンパク質ペプチドPA	PAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPAPA
70	ジペプチドリピートタンパク質ペプチドPR	PRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPRPR
71	合成されたジペプチドリピートタンパク質(GA)20	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAHHHHHH
72	合成されたジペプチドリピ	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAHHHHHH

【表１４－６】

配列番号	説明	配列
	ートタンパク質(GA)10	
73	合成されたジペプチドリピートタンパク質(GA)6	GAGAGAGAGAGAHHHHHH
74	合成されたジペプチドリピートタンパク質(GA)5	GAGAGAGAGAHHHHHH
75	合成されたジペプチドリピートタンパク質(GA)4	GAGAGAGAHHHHHH
76	合成されたジペプチドリピートタンパク質(GA)3	GAGAGAHHHHHH
77	合成されたジペプチドリピートタンパク質(GA)2	GAGAHHHHHH

【０３０６】

上記の開示内容は、本発明を大まかに説明するものである。特記なき限り、本明細書で使用される用語には、Ｏｘｆｏｒｄ Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ，１９９７、２０００年改訂及び２００３年再版、ＩＳＢＮ ０１９ ８５０６７３ ２に提示されている定義が与えられる。本明細書の文章全体にわたり、いくつかの文書が引用されている。完全な書誌引用は、本明細書の最後において、特許請求の範囲の直前で確認することができる。引用されたすべての参考文献の内容（背景技術のセクションを含め本願の随所で引用される参考文献、交付済み特許、公開特許出願、及びメーカーの仕様、説明などを含む）は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる。しかしながら、引用されたいかなる文書も、実際に本発明に関する先行技術であると認めるものではない。

【０３０７】

より全面的な理解は、以下の特定の実施例を参照することによって得ることができる。実施例は、例示のみを目的として本明細書に提示されるものであり、本発明の範囲を限定することを意図するものではない。

【実施例】

【０３０８】

実施例１：抗（ポリＧＡ）ジペプチドリピート（ＤＰＲ）タンパク質抗体の単離及び同定

ポリＧＡジペプチドリピート（ＤＰＲ）タンパク質、その断片、Ｃ９ｏｒｆ７２－ＤＰＲ、及び／またはその断片を標的とするヒト由来抗体を、開示内容が参照により本明細書

に組み込まれる国際出願第ＷＯ２０１６／０５０８２２号Ａ２に記載されている方法に基づいて同定した。特に、ポリＧＡジペプチドリピートタンパク質（GA_{15}：Ｈ－ＣＨＨＨＨＨ（ＧＡ）$_{15}$－ＯＨ）（配列番号６１）は、Ｓｃｈａｆｅｒ－Ｎ（Ｃｏｐｅｎｈａｇｅｎ，Ｄｅｎｍａｒｋ）によって合成及び精製された。次いで、ポリＧＡジペプチドリピートタンパク質を、二機能性リンカー（ＳＭＣＣ）を介してウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）にコンジュゲートした。その後、コンジュゲートしていないポリＧＡジペプチドリピートタンパク質もしくはＢＳＡにコンジュゲートしたポリＧＡジペプチドリピートタンパク質、またはＢＳＡ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）のいずれかを５μｇ／ｍｌの濃度で含むコーティングバッファー（１５ｍＭ Na_2CO_3、３５ｍＭ $NaHCO_3$、ｐＨ９．４２）をコーティングした９６ウェルマイクロプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）を使用し、直接ＥＬＩＳＡを行った。２％ ＢＳＡを含むＰＢＳ／０．１％ Ｔｗｅｅｎ（登録商標）－２０（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を用い、非特異的結合部位を１時間室温でブロッキングした。Ｂ細胞馴化培地をメモリーＢ細胞培養プレートからＥＬＩＳＡプレートに移し、室温で１時間インキュベートした後、ＨＲＰにコンジュゲートされたロバ抗ヒトＩｇＧ Ｆｃγ特異的抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｗｅｓｔ Ｇｒｏｖｅ，ＵＳＡ）及びＨＲＰにコンジュゲートされたヤギ抗ヒトＩｇＡ特異的抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｗｅｓｔ Ｇｒｏｖｅ，ＵＳＡ）とともにインキュベートした。標準的な比色分析でＨＲＰ活性を測定することにより、結合を決定した。培地に含まれる抗体のポリＧＡ ＤＰＲへの結合を示したがＢＳＡへの結合は示さなかったＢ細胞培養物のみを、抗体クローニングに供した。

【０３０９】

実施例２：抗体配列の決定

上記で同定した抗（ポリＧＡ）ＤＰＲ抗体の可変領域のアミノ酸配列を、それらのｍＲＮＡ配列に基づいて決定した。図１Ａ～Ｆを参照されたい。簡潔に述べると、選択された不死化されていないメモリーＢ細胞培養物から生きたＢ細胞を採取した。その後、選択された抗（ポリＧＡ）ＤＰＲ抗体を産生する細胞からｍＲＮＡを抽出し、ｃＤＮＡに変換し、抗体の可変領域をコードする配列をＰＣＲによって増幅し、プラスミドベクターにクローニングし、シーケンシングした。簡潔に述べると、ヒト免疫グロブリン生殖系列レパートリーのすべての配列ファミリーを表すプライマーの組み合わせを、リーダーペプチド、Ｖセグメント、及びＪセグメントの増幅に使用した。１回目の増幅は、５’末端のリーダーペプチド特異的プライマー、及び３’末端の定常領域特異的プライマーを使用して行った（Ｓｍｉｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｐｒｏｔｏｃ．４（２００９），３７２－３８４）。重鎖及びカッパ軽鎖については、５’末端のＶセグメント特異的プライマー、及び３’末端のＪセグメント特異的プライマーを使用して、２回目の増幅を行った。ラムダ軽鎖については、５’末端のＶセグメント特異的プライマー、及び３’末端のＣ領域特異的プライマーを使用して、２回目の増幅を行った（Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２（１９９１），５８１－５９７、ｄｅ Ｈａａｒｄ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６（１９９９），１８２１８－１８２３０）。

【０３１０】

完全抗体の組換え発現の際にＥＬＩＳＡで再スクリーニングすることにより、所望の特異性を有する抗体クローンの同定を行った。可変領域配列の５’末端にリーダーペプチドをコードする配列を補い、３’末端に適切な定常ドメイン（複数可）をコードする配列を補う発現ベクターに、可変重鎖及び軽鎖配列を「正しいリーディングフレーム内」で挿入すると、完全ヒトＩｇＧ１抗体の組換え発現が達成された。この目的のために、プライマーは、抗体発現ベクターへの可変重鎖及び軽鎖配列のクローニングを容易にするように設計された制限部位を含んでいた。重鎖免疫グロブリンは、シグナルペプチド及びヒトまたはマウスの免疫グロブリンガンマ１の定常ドメインを有する重鎖発現ベクターにインフレームで免疫グロブリン重鎖ＲＴ－ＰＣＲ産物を挿入することによって発現させた。カッパ

軽鎖免疫グロブリンは、シグナルペプチド及びヒトカッパ軽鎖免疫グロブリンの定常ドメインを提供する軽鎖発現ベクターにインフレームでカッパ軽鎖ＲＴ－ＰＣＲ産物を挿入することによって発現させた。ラムダ軽鎖免疫グロブリンは、シグナルペプチド及びヒトまたはマウスのラムダ軽鎖免疫グロブリンの定常ドメインを提供するラムダ軽鎖発現ベクターにインフレームでラムダ軽鎖ＲＴ－ＰＣＲ産物を挿入することによって発現させた。

【０３１１】

Ｉｇ重鎖発現ベクターと、カッパまたはラムダＩｇ軽鎖発現ベクターとを、ＨＥＫ２９３細胞またはＣＨＯ細胞（またはヒトもしくはマウス由来の任意の他の適切なレシピエント細胞株）にコトランスフェクトすると、機能的な組換えモノクローナル抗体が得られた。その後、標準的なプロテインＡカラム精製を使用して、馴化培地から組換えヒトモノクローナル抗体を精製した。組換えヒトモノクローナル抗体は、一過性にトランスフェクトした細胞または安定にトランスフェクトした細胞のいずれかを使用して、無制限の量で産生することができる。組換えヒトモノクローナル抗体を産生する細胞株は、Ｉｇ発現ベクターを直接使用すること、またはＩｇ可変領域を異なる発現ベクターに再クローニングすることによって確立することができる。Ｆ（ａｂ）、Ｆ（ａｂ）２、及びｓｃＦｖなどの誘導体もこれらのＩｇ可変領域から生成することができる。

【０３１２】

フレームワーク及び相補性決定領域を、Ａｂｙｓｉｓ（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｂｉｏｉｎｆ．ｏｒｇ．ｕｋ／ａｂｙｓｉｓ／）などのデータベースで利用可能な参照抗体配列との比較によって決定し、Ｋａｂａｔ付番スキーム（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｂｉｏｉｎｆ．ｏｒｇ．ｕｋ／ａｂｓ／）を使用してアノテートした。

【０３１３】

実施例３：Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質のＥＬＩＳＡによるEC_{50}分析

Ｃ９ｏｒｆ７２ポリＧＡ　ＤＰＲに対する組換えヒト由来Ｃ９ｏｒｆ７２抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合特異性及び半数効果濃度（EC_{50}）を決定するため、ＥＬＩＳＡによるEC_{50}分析を行った。簡潔に述べると、Ｓｃｈａｆｅｒ－Ｎ（Ｃｏｐｅｎｈａｇｅｎ，Ｄｅｎｍａｒｋ）により、次のジペプチドリピートタンパク質が合成及び精製された：（ＧＡ）１５：Ｈ－ＣＨＨＨＨＨＨ（ＧＡ）$_{15}$－ＯＨ（配列番号６１）；（ＧＰ）$_{15}$：Ｈ－Ｃ（ＧＰ）$_{15}$－ＯＨ（配列番号６２）；（ＧＲ）$_{15}$：Ｈ－Ｃ（ＧＲ）$_{15}$－ＯＨ（配列番号６３）；（ＰＡ）$_{15}$：Ｈ－Ｃ（ＰＡ）$_{15}$－ＯＨ（配列番号６４）；（ＰＲ）$_{15}$：Ｈ－Ｃ（ＰＲ）$_{15}$－ＯＨ（配列番号６５）。ジペプチドリピートタンパク質ペプチドを５μｇ／ｍｌまたは２０μｇ／ｍｌのいずれかの濃度で含むコーティングバッファー（１５ｍＭ　Na_2CO_3、３５ｍＭ　$NaHCO_3$、ｐＨ９．４２）を、９６ウェルマイクロプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ　Ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｅｄ，Ｃｏｒｎｉｎｇ，ＵＳＡ）にコーティングした。２％　ＢＳＡを含むＰＢＳ／０．１％　Ｔｗｅｅｎ（登録商標）－２０（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を用い、非特異的結合部位を１時間室温でブロッキングした。ＮＩ－３０８．５Ｊ１０を指定の濃度に希釈し、１時間室温でインキュベートした後、ＨＲＰにコンジュゲートされたロバ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃγ特異的抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｗｅｓｔ　Ｇｒｏｖｅ，ＵＳＡ）とともにインキュベートした。標準的な比色分析でＨＲＰ活性を測定することにより、結合を決定した。

【０３１４】

ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェア（Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＵＳＡ）を使用した非線形回帰によってEC_{50}値を推定した。Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチド（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）、（ＧＰ）$_{15}$（配列番号６７）、（ＧＲ）$_{15}$（配列番号６８）、（ＰＡ）$_{15}$（配列番号６９）、及び（ＰＲ）$_{15}$（配列番号７０）に対するヒト由来抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合特異性及びEC_{50}を、間接ＥＬＩＳＡによって決定した。抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、ナノモル以下の範囲内の結

合親和性でポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質を特異的に認識した（表３、図２）。結論として、ＲＴＭ（商標）スクリーニングによる健康な高齢のヒトドナー集団の免疫レパートリーのハイスループット分析は、Ｃ９ｏｒｆ７２ヘキサヌクレオチド伸長に関連するポリＧＡＤＰＲを高い親和性で特異的に標的とするヒトモノクローナル抗体のクローニング及び組換え生成の成功につながる。

【表３】

	EC_{50}［nM］				
抗体	$(GA)_{15}$（配列番号66）	$(GP)_{15}$（配列番号67）	$(GR)_{15}$（配列番号68）	$(PR)_{15}$（配列番号70）	$(PA)_{15}$（配列番号69）
NI-308.5J10	0.26	-	-	-	-

表３：５つのＣ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲタンパク質に対するヒト由来抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０のＥＣ$_{50}$分析。

【０３１５】

実施例４：ＢＳＡにカップリングしたＤＰＲペプチドへの結合親和性

ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）にカップリングしたポリＧＡ　Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチドに対する組換えヒト由来ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の半数効果濃度（ＥＣ$_{50}$）を決定するため、ＥＬＩＳＡによるＥＣ$_{50}$分析を行った。簡潔に述べると、Ｓｃｈａｆｅｒ－Ｎ（Ｃｏｐｅｎｈａｇｅｎ，Ｄｅｎｍａｒｋ）により、次のポリＧＡジペプチドリピートタンパク質が合成及び精製された：（ＧＡ）$_{15}$：Ｈ－ＣＨＨＨＨＨＨ（ＧＡ）$_{15}$－ＯＨ（配列番号６１）。次いで、ポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質ペプチドを、二機能性リンカー（ＳＭＣＣ）を介してウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）にコンジュゲートした。ＢＳＡにカップリングしたポリＧＡジペプチドリピートタンパク質ペプチドまたはカップリングしていないポリＧＡジペプチドリピートタンパク質ペプチドを５μｇ／ｍｌの濃度で含むコーティングバッファー（１５ｍＭ　Na_2CO_3、３５ｍＭ　$NaHCO_3$、ｐＨ９．４２）を、９６ウェルマイクロプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ　Ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｅｄ，Ｃｏｒｎｉｎｇ，ＵＳＡ）にコーティングした。２％　ＢＳＡを含むＰＢＳ／０．１％　Ｔｗｅｅｎ（登録商標）－２０（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を用い、非特異的結合部位を１時間室温でブロッキングした。ＮＩ－３０８．５Ｊ１０を指定の濃度に希釈し、１時間室温でインキュベートした後、ＨＲＰにコンジュゲートされたロバ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃγ特異的抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｗｅｓｔ　Ｇｒｏｖｅ，ＵＳＡ）とともにインキュベートした。標準的な比色分析でＨＲＰ活性を測定することにより、結合を決定した。

【０３１６】

ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェア（Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＵＳＡ）を使用した非線形回帰によってＥＣ$_{50}$値を推定した。ＢＳＡにカップリングしたポリＧＡ　ＤＰＲと、カップリングしていないポリＧＡ　ＤＰＲとで同等な抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合親和性が決定された（表４、図３）。結論として、抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、これらの実験条件下で疎水的にコーティングされたペプチドと同等の親和性で、ＢＳＡ担体タンパク質にカップリングしたポリＧＡ　ＤＰＲペプチドを認識する。

【表４】

		EC_{50} [nM]	
抗体	ペプチド	BSAにカップリングしたペプチド	カップリングしていないペプチド
NI-308.5J10	$(GA)_{15}$(配列番号 66)	0.16	0.23

表４：ＢＳＡにカップリングしたＣ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲペプチド及びカップリングしていないＣ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲペプチドへの結合親和性。

【０３１７】

実施例５：無関係のアミロイド形成タンパク質への結合特異性の分析

ＮＩ－３０８．５Ｊ１０組換え抗体の標的特異性を決定するため、間接ＥＬＩＳＡを次のように行った。$(GA)_{15}$（配列番号６６）、$(GP)_{15}$（配列番号６７）、$(GR)_{15}$（配列番号６８）、$(PA)_{15}$（配列番号６９）、もしくは$(PR)_{15}$（配列番号７０）の各ペプチドを各ペプチド５μｇ／ｍｌで、または無関係の標的タンパク質を５～１０μｇ／ｍｌの濃度で含むコーティングバッファー（１５ｍＭ　Na_2CO_3、３５ｍＭ　$NaHCO_3$、ｐＨ９．４２）を、９６ウェルマイクロプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ　Ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｅｄ，Ｃｏｒｎｉｎｇ，ＵＳＡ）にコーティングした。２％ＢＳＡを含むＰＢＳ／０．１％　Ｔｗｅｅｎ（登録商標）－２０（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を用い、非特異的結合部位を１時間室温でブロッキングした。ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体を４ｎＭ濃度に希釈し、１時間室温でインキュベートした。ＨＲＰにコンジュゲートされたロバ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃｇ特異的抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｗｅｓｔ　Ｇｒｏｖｅ，ＵＳＡ）を使用した後、標準的な比色分析でＨＲＰ活性を測定することにより、結合を決定した。標的タンパク質のシグナルは、中央値を超える増加倍率として計算した。間接ＥＬＩＳＡによるＮＩ－３０８．５Ｊ１０ヒト由来抗体の標的特異性の決定では、Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質及び７つの無関係のアミロイド形成タンパク質（ＩＡＰＰ、Ａｂ、ＨＤ、ＴＴＲ、ａ－ｓｙｎ、Ｔａｕ、ＴＤＰ－４３）に対する抗体の結合を評価した。図４に示すように、ヒト由来抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、ポリＧＡ　ＤＰＲペプチドに対する結合特異性が高く、無関係のアミロイド形成タンパク質に対する交差反応性は存在しないか、またはごくわずかであることが明らかになった。

【０３１８】

実施例６：Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質のウエスタンブロット分析

Ｃ９ｏｒｆ７２ポリＧＡジペプチドリピートタンパク質に対する組換えヒト由来Ｃ９ｏｒｆ７２抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合特異性を決定するため、イムノブロット分析を行った。Ｓｃｈａｆｅｒ－Ｎ（Ｃｏｐｅｎｈａｇｅｎ，Ｄｅｎｍａｒｋ）により、次のジペプチドリピートタンパク質ペプチドが合成及び精製された：$(GA)_{15}$：Ｈ－ＣＨＨＨＨＨ$(GA)_{15}$－ＯＨ（配列番号６１）；$(GP)_{15}$：Ｈ－Ｃ$(GP)_{15}$－ＯＨ（配列番号６２）；$(GR)_{15}$：Ｈ－Ｃ$(GR)_{15}$－ＯＨ（配列番号６３）；$(PA)_{15}$：Ｈ－Ｃ$(PA)_{15}$－ＯＨ（配列番号６４）；$(PR)_{15}$：Ｈ－Ｃ$(PR)_{15}$－ＯＨ（配列番号６５）。次いで、ＤＰＲタンパク質ペプチドを、二機能性リンカー（ＳＭＣＣ）を介してウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）にコンジュゲートした。簡潔に述べると、ＢＳＡにコンジュゲートしたジペプチドリピートタンパク質ペプチド（０．５μｇ）を、抗酸化剤を補ったＮｏｖｅｘ（登録商標）ＮｕＰＡＧＥ（登録商標）ＭＥＳ　ＳＤＳ　Ｒｕｎｎｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｅｕｒｏｐｅ　Ｂ．Ｖ．，Ｚｕｇ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を使用したグラジエントＳＤＳ－ＰＡＧＥ（Ｎｏｖｅｘ（登録商標）Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　ＮｕＰＡＧＥ（登録商標）４～１２％、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｅｕｒｏｐｅ　Ｂ．Ｖ．，Ｚｕｇ，Ｓｗｉｔ

ｚｅｒｌａｎｄ）によって分離させた。次いで、分離したタンパク質を、Ｎｏｖｅｘ（登録商標）ＮｕＰＡＧＥ（登録商標）トランスファーバッファー２ｘ（Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ Ｅｕｒｏｐｅ Ｂ．Ｖ．，Ｚｕｇ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）の使用により、メタノール活性化ＰＶＤＦ膜（Ｉｍｍｏｂｉｌｏｎ（登録商標）－Ｐ Ｔｒａｎｓｆｅｒ Ｍｅｍｂｒａｎｅ、Ｍｅｒｃｋ＆Ｃｉｅ，Ｓｃｈａｆｆｈａｕｓｅｎ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）にエレクトロブロットした（Ｎｏｖｅｘ（登録商標）Ｓｅｍｉ－Ｄｒｙ Ｂｌｏｔｔｅｒ、１時間、２５Ｖ）。２％ ＢＳＡを含むＰＢＳ／０．１％ Ｔｗｅｅｎ（登録商標）－２０（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）（ＰＢＳＴ）を用い、非特異的結合部位を一晩４℃で（または代替的には１時間室温で）ブロッキングした。ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体を１０ｎＭ濃度に希釈し、１時間室温で（または代替的には一晩４℃で）インキュベートした。膜を室温で１５分間、ＰＢＳＴで３回洗浄し、次いで、ＨＲＰにコンジュゲートされたロバ抗ヒトＩｇＧ Ｆｃγ特異的抗体（１：２００００または１：１００００希釈、Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｗｅｓｔ Ｇｒｏｖｅ，ＵＳＡ）とともに１時間室温でインキュベートした。ＥＣＬ及びＩｍａｇｅＱｕａｎｔ ３５０での検出（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｏｔｅｌｆｉｎｇｅｎ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を使用した膜の展開により、抗体結合を決定した。

【０３１９】

ＢＳＡにカップリングしたＣ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質$(GA)_{15}$（配列番号６６）、$(GP)_{15}$（配列番号６７）、$(GR)_{15}$（配列番号６８）、$(PA)_{15}$（配列番号６９）、及び$(PR)_{15}$（配列番号７０）に対するヒト由来抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合特異性を、ウエスタンブロット分析によって決定した。抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、ＤＰＲタンパク質ポリＧＡを特異的に認識した（図５）。結論として、ヒト由来抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、ＳＤＳ ＰＡＧＥ及びウエスタンブロッティング後に、ＢＳＡにカップリングしたポリＧＡ ＤＰＲペプチドを認識することができる。観察された結合パターンは、ＥＬＩＳＡ分析によって得られた結果と整合している。

【０３２０】

実施例７：リピート長依存性結合の間接ＥＬＩＳＡによる解析

リピートサイズの異なるＣ９ｏｒｆ７２ ＤＲＰに対する組換えヒト由来抗体３０８．５Ｊ１０の結合親和性を決定するため、ＥＬＩＳＡによるEC_{50}分析を行った。簡潔に述べると、Ｓｃｈａｆｅｒ－Ｎ（Ｃｏｐｅｎｈａｇｅｎ，Ｄｅｎｍａｒｋ）により、次のジペプチドリピートタンパク質ペプチドが合成及び精製された：GA_{20}：Ｈ－$(GA)_{20}$ＨＨＨＨＨＨ－NH_2（配列番号７１）；GA_{10}：Ｈ－$(GA)_{10}$ＨＨＨＨＨＨ－NH_2（配列番号７２）；GA_6：Ｈ－$(GA)_6$ＨＨＨＨＨＨ－NH_2（配列番号７３）；GA_5：Ｈ－$(GA)_5$ＨＨＨＨＨＨ－NH_2（配列番号７４）；GA_4：Ｈ－$(GA)_4$ＨＨＨＨＨＨ－NH_2（配列番号７５）；GA_3：Ｈ－$(GA)_3$ＨＨＨＨＨＨ－NH_2（配列番号７６）；GA_2：Ｈ－$(GA)_2$ＨＨＨＨＨＨ－NH_2（配列番号７７）。ジペプチドリピートタンパク質ペプチドを５０μｇ／ｍｌの濃度で含むコーティングバッファー（１５ｍＭ Na_2CO_3、３５ｍＭ $NaHCO_3$、ｐＨ９．４２）を、９６ウェルマイクロプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ Ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｅｄ，Ｃｏｒｎｉｎｇ，ＵＳＡ）にコーティングした。２％ ＢＳＡを含むＰＢＳ／０．１％ Ｔｗｅｅｎ（登録商標）－２０（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を用い、非特異的結合部位を１時間室温でブロッキングした。ＮＩ－３０８．５Ｊ１０を指定の濃度に希釈し、１時間室温でインキュベートした後、ＨＲＰにコンジュゲートされたロバ抗ヒトＩｇＧ Ｆｃγ特異的抗体（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｗｅｓｔ Ｇｒｏｖｅ，ＵＳＡ）とともにインキュベートした。標準的な比色分析でＨＲＰ活性を測定することにより、結合を決定した。ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍソフトウェア（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＵＳＡ）を使用した非線形回帰によってEC_{50}値を推定した。

【０３２１】
リピート長の異なるＣ９ｏｒｆ７２ポリＧＡ　ＤＰＲタンパク質に対する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合親和性を、疎水性ペプチドでコーティングした後、間接ＥＬＩＳＡによって決定した。抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の最初の検出可能な結合には、少なくとも６つのＧＡリピートが必要であった。１０の（ＧＡ）リピート（配列番号７９）または２０の（ＧＡ）リピート（配列番号８２）を保有するポリＧＡ　ＤＰＲについて、ナノモル以下の範囲内のＥＣ$_{50}$に反映される高親和性結合が検出された（表５、図６）。結論として、ヒト由来ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体は、ポリＧＡ　ＤＰＲに対するリピート長依存性結合を示し、短いリピートサイズには結合せず、伸長したジペプチドリピートには優先的な高親和性結合を示す。

【表５】

	EC_{50} [nM]						
抗体	$(GA)_2$（配列番号71）	$(GA)_3$（配列番号72）	$(GA)_4$（配列番号73）	$(GA)_5$（配列番号74）	$(GA)_6$（配列番号75）	$(GA)_{10}$（配列番号76）	$(GA)_{20}$（配列番号77）
NI-308.5J10	-	-	-	-	13.8	0.30	0.29

表５：抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０のＣ９ｏｒｆ７２ポリＧＡリピート長依存性結合。

【０３２２】
実施例８：バイオレイヤー干渉法による結合特性の解析
（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）ジペプチドリピート（ＤＰＲ）ペプチドに対するＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の結合定数（K_D、K_a、K_d）を決定するため、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）を行った。Ｓｃｈａｆｅｒ－Ｎ（Ｃｏｐｅｎｈａｇｅｎ，Ｄｅｎｍａｒｋ）により、次のポリＧＡジペプチドリピートタンパク質ペプチドが合成及び精製された：（ＧＡ）$_{15}$：Ｈ－ＣＨＨＨＨＨＨ（ＧＡ）$_{15}$－ＯＨ（配列番号６１）。純粋な凍結乾燥した（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）をＤＭＳＯ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）に１０ｍｇ／ｍｌの濃度で溶解し、－２０℃で保管した。簡潔に述べると、Ｏｃｔｅｔ　ＲＥＤ９６計器（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）により、バイオレイヤー干渉法実験を行った。Ｏｃｔｅｔのアミン反応性（ＡＲ２Ｇ）バイオセンサを、（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）ジペプチドリピートタンパク質ペプチドの共有結合による固定化について使用した。ＡＲ２Ｇバイオセンサを、ＥＤＣ（１－エチル－３－［３－ジメチルアミノプロピル］カルボジイミド塩酸塩、水中２０ｍＭ、Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）及びｓ－ＮＨＳ（Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミド、水中１０ｍＭ、Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）で３００秒間活性化させ、続いて、バイオセンサ表面に、５μｇ／ｍｌの（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）ペプチドを含むｐＨ６の１０ｍＭ酢酸バッファー（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）を６００秒間ロードした。ペプチドをロードした後、ＡＲ２ＧバイオセンサをｐＨ８．５の１Ｍエタノールアミン（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）で３００秒間クエンチし、キネティクスバッファー（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）で１２０秒間すすぎ（ベースライン）、希釈したキネティクスバッファー（ＰＢＳ中１：１０）中で様々な濃度（３０、１５、７．５、３．７５及び１．８７５ｎＭ）で６００秒間にわたり、ヒトＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の会合を評価した。抗体の解離をキネティクスバッファー中で８００秒間にわたって評価した。結合データはすべて、ＰＢＳのみの参照物を用いてデータを収集することによって照合した。データ分析は、１：１相互作用モデルへのK_a／K_dの同時グローバルフィッティングを行うＯｃｔｅｔシステムソフトウェア（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ

，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）を使用して行った。ＢＬＩセンサグラムは、フィッティング時にＧｒａｐｈＰａｄ（Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＵＳＡ）のＰｒｉｓｍソフトウェアを用いて描画した。

【０３２３】

抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、高い会合速度定数（K_a＝（１．６３±０．０５）×$10^5 M^{-1}s^{-1}$）及びほぼ同じ範囲内の解離定数（K_d＝２．４±０．４）×$10^{-5} s^{-1}$）で、高い親和性ＫＤ（０．１５±０．０２ｎＭ）でポリＧＡ　ＤＰＲペプチドに結合する（図７及び表６）。結論として、抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、高い親和性でポリＧＡ　ＤＰＲペプチドを認識する。

【表６】

抗体	KD (M)	K_a (Ms^{-1})	K_d (s^{-1})
NI-308.5J10	$(1.5\pm0.2)\times10^{-10}$	$(1.63\pm0.05)\times10^{5}$	$(2.4\pm0.4)\times10^{-5}$

表６：ポリＧＡ　ＤＰＲペプチドに対する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合定数（K_D、K_a、K_d）

【０３２４】

実施例９：バイオレイヤー干渉法による競合的結合の決定

抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０及びＮＩ－ｍＡｂ参照物のエピトープ競合群を決定するため、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）を行った。Ｓｃｈａｆｅｒ－Ｎ（Ｃｏｐｅｎｈａｇｅｎ，Ｄｅｎｍａｒｋ）により、次のポリＧＡジペプチドリピートタンパク質ペプチドが合成及び精製された：$(GA)_{15}$：Ｈ－ＣＨＨＨＨＨＨ$(GA)_{15}$－ＯＨ（配列番号６１）。純粋な凍結乾燥した$(GA)_{15}$（配列番号６６）をＤＭＳＯ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ，Ｂｕｃｈｓ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）に１０ｍｇ／ｍｌの濃度で溶解し、－２０℃で保管した。簡潔に述べると、Ｏｃｔｅｔ　ＲＥＤ９６計器（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）により、バイオレイヤー干渉法実験を行った。Ｏｃｔｅｔのアミン反応性（ＡＲ２Ｇ）バイオセンサを、$(GA)_{15}$（配列番号６６）ジペプチドリピートタンパク質ペプチドの共有結合による固定化について使用した。ＡＲ２Ｇバイオセンサを、ＥＤＣ（１－エチル－３－［３－ジメチルアミノプロピル］カルボジイミド塩酸塩、水中２０ｍＭ、Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）及びｓ－ＮＨＳ（Ｎ－ヒドロキシスルホスクシンイミド、水中１０ｍＭ、Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）で３００秒間活性化させ、続いて、バイオセンサ表面に、５μｇ／ｍｌの$(GA)_{15}$（配列番号６６）ペプチドを含むｐＨ６の１０ｍＭ酢酸バッファー（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）を６００秒間ロードした。ペプチドをロードした後、ＡＲ２ＧバイオセンサをｐＨ８．５の１Ｍエタノールアミン（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）で３００秒間クエンチし、キネティクスバッファー（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）で１２０秒間すすいだ（ベースライン）。次いで、ＮＩ－３０８抗体の標的結合をペアワイズ方式で評価した：$(GA)_{15}$（配列番号６６）ペプチドに対する参照ＮＩ－３０８抗体（キネティクスバッファー（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）中１５ｎＭ）の結合（８００秒間）の直後に、競合するＮＩ－３０８抗体（キネティクスバッファー（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）中１５ｎＭ）の結合（８００秒間）が続いた。結合データはすべて、ＰＢＳのみの参照物を用いてデータを収集することによって照合した。データ分析は、Ｏｃｔｅｔシステムソフトウェア（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　ＬＬＣ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＵＳＡ）を使用して行った。ＢＬＩセンサグラムは、ＧｒａｐｈＰａｄ（Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＵＳＡ）のＰｒｉｓｍソフトウェアを用いて描画した。

【０３２５】

Ｃ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質ペプチド$(GA)_{15}$（配列番号６６）

に対する参照抗体ＮＩ－ｍＡｂの結合は、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体が標的に先に結合することによって妨げられる（図８Ａ）。このことは、ＮＩ－ｍＡｂ参照抗体が、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の標的にもなる結合エピトープを認識していることを示している。Ｃ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲペプチド（ＧＡ）$_{15}$（配列番号６６）に対する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合は、ＮＩ－ｍＡｂ参照抗体が標的に先に結合してもブロックされない（図８Ｂ）。このことは、この抗体が、ポリＧＡペプチドのさらなる立体構造エピトープを認識する可能性があることを示している。結論として、抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０及びＮＩ－ｍＡｂ参照物は、共通の結合エピトープを認識し、抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、参照抗体ＮＩ－ｍＡｂと比較して、ポリＧＡペプチドのさらなる立体構造エピトープを認識する可能性がある。

【０３２６】

実施例１０：ＳＤＳ　ＰＡＧＥによる抗体の完全性の分析

組換えヒトＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の純度及び完全性を評価するため、ＳＤＳ　ＰＡＧＥ分析を行った。簡潔に述べると、ＣＨＯ－Ｓ細胞の一過性トランスフェクションによってヒトＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体を発現させ、ＦＰＬＣシステム（ＡＫＴＡｐｕｒｉｆｉｅｒ；ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）でのプロテインＡアフィニティ精製によって精製した。ＰＤ－１０カラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）で脱塩した後、抗体をＰＢＳに配合した。精製された組換えヒトＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体２μｇ及び１０μｇを、抗酸化剤を補ったＮｏｖｅｘ（登録商標）ＮｕＰＡＧＥ（登録商標）ＭＥＳ　ＳＤＳ　Ｒｕｎｎｉｎｇ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｅｕｒｏｐｅ　Ｂ．Ｖ．，Ｚｕｇ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を使用したグラジエントＳＤＳ－ＰＡＧＥ（Ｎｏｖｅｘ（登録商標）Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　ＮｕＰＡＧＥ（登録商標）４～１２％、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｅｕｒｏｐｅ　Ｂ．Ｖ．，Ｚｕｇ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）により、還元条件下で分離させ、その後、クーマシーブルー染色（Ｎｏｖｅｘ（登録商標）ＳｉｍｐｌｙＢｌｕｅ（商標）ＳａｆｅＳｔａｉｎ、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　Ｅｕｒｏｐｅ　Ｂ．Ｖ．，Ｚｕｇ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を行った。その結果、組換えヒトＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の還元条件下でのＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析により、予想されたサイズの抗体の重鎖及び軽鎖に対応する２つの主要なバンドが明らかになった。重大な汚染またはタンパク質分解産物は検出されなかった（図９）。

【０３２７】

実施例１１：死後のヒトＣ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ及び非神経学的対照脳組織におけるＤＰＲ凝集病変への結合の分析

ヒトＣ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ患者に由来する死後小脳組織及び非神経学的対照におけるＣ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質に対する抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合を評価するため、結合分析を行った。簡潔に述べると、Ｃ９ｏｒｆ７２ヘキサヌクレオチドリピート伸長を有する３名のＦＴＬＤ患者及び１名の非神経学的対照対象（ＢｉＯＢＡＮＣ　ＨＣＢ－ＩＤＩＢＡＰＳ，Ｂａｒｃｅｌｏｎａ，Ｓｐａｉｎ）の小脳の５μｍのホルマリン固定パラフィン包埋切片を、ｐＨ８．３の１ｍＭ　ＥＤＴＡバッファー中で加熱処理し、１２分間のマイクロ波照射（６００Ｗ）を行うことにより、抗原回収の前処理をした。内因性ペルオキシダーゼ活性のクエンチを、室温で１０分間、３％ H_2O_2 メタノール溶液で処理することによって達成した。ＰＢＳ／５％血清（ウマ／ヤギ）／４％　ＢＳＡを用い、非特異的結合部位を１時間室温でブロッキングした。ブロッキングステップの後、切片を２０ｎＭ濃度のヒト由来ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体とともに一晩４℃でインキュベートした。ビオチン化ロバ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）（１：３５０希釈、Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｗｅｓｔ　Ｇｒｏｖｅ，ＵＳＡ）または抗ウサギ二次抗体（１：２５０希釈、Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ；Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ，ＵＳＡ）を用いて検出を行い、Ｖｅｃｔａｓｔａｉｎ　Ｅｌｉｔｅ　ＡＢＣキット（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ，ＵＳＡ）で抗体シグナルを増幅し、ジアミノベンジジン

（ＤＡＢ、Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＵＳＡ）で検出した。Ｅｕｋｉｔｔ（登録商標）封入剤（Ｏ．Ｋｉｎｄｌｅｒ ＧｍｂＨ；Ｆｒｅｉｂｕｒｇ，Ｇｅｒｍａｎｙ）を使用してスライドを封入した。Ｄｏｔｓｌｉｄｅ ＶＳ１２０スライドスキャナー（Ｏｌｙｍｐｕｓ Ｓｃｈｗｅｉｚ ＡＧ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）を使用して明視野の造影を行った。選択されたＦＴＬＤ患者及び非神経学的対照対象の小脳切片を免疫組織化学的に分析することにより、病理学的なＣ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質に対するＮＩ－３０８．５Ｊ１０の結合を評価した。図１０に示すように、ヒト由来ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体により、試験されたＣ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ症例の小脳の顆粒細胞層において、顕著な神経細胞質内封入体、神経核内封入体、及び変性神経突起が明らかになった。対照的に、非神経学的対照の小脳は、試験した抗体に対して陰性であった（図１０）。結論として、ヒト由来抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０は、Ｃ９ｏｒｆ７２－ＦＴＬＤ症例の小脳の顆粒細胞層におけるＣ９ｏｒｆ７２ジペプチドリピートタンパク質を特異的に検出するが、対照の小脳では染色が観察されず、このことは、抗体の高い標的特異性を示している。

【０３２８】

実施例１２：ＮＩ－３０８．５Ｊ１０における軽鎖グリコシル化及び重鎖Ａｓｎ５４脱アミド化の同定

翻訳後修飾を同定するために、マススペクトロメトリーを行った。ＮＩ－３０８．５Ｊ１０ ｈＩｇＧ１を加熱により変性させ、ＲａｐｉＧｅｓｔ（Ｗａｔｅｒｓ，Ｉｎｃ）で処理した後、ＰＮＧａｓｅ Ｆ（Ｐｒｏｚｙｍｅ）で脱グリコシル化した。処理後、４０ｍＭ ＤＴＴを含む４Ｍ尿素及び１０ｍＭ ＥＤＴＡにより、３７℃で１時間、タンパク質を変性させた。３７℃で１時間にわたり、０．５％ ＴＦＡでＲａｐｉＧｅｓｔをクエンチし、ＬＣＴ Ｐｒｅｍｉｅｒ Ｍａｓｓ Ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｅｒ（Ｗａｔｅｒｓ，Ｉｎｃ）で分析した。ＴＳＫｇｅｌ Ｐｈｅｎｙｌ－５ＰＷカラム（２．０×７５ｍｍ、１０μｍ、ＴＯＳＯＨ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）により、軽鎖と重鎖の分離を達成した。ＭａｘＥｎｔ １ソフトウェア（Ｗａｔｅｒｓ，Ｉｎｃ）を使用したデコンボリューションによって分子量を生成した。還元されたＮＩ－３０８．５Ｊ１０のインタクト質量分析は、軽鎖のＮグリコシル化部位がほぼ完全にハイブリッド／複合グリカンによって占有されていたこと、そして検出された重鎖が予測されたｐｙｒｏＧＬｕ２３－４７５に対応することを示した。

【０３２９】

その後、トリプシン消化／マススペクトロメトリーを行った。簡潔に述べると、抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０を還元し、アルキル化し、沈殿させ、トリプシンで消化した。トリプシン消化は、７％（ｗ／ｗ）のトリプシン（Ｐｒｏｍｅｇａ）を含む２Ｍ尿素、０．１５Ｍ ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、２ｍＭ $CaCl_2$（ｐＨ７．６）、及び５ｍＭメチルアミンを使用し、室温で８時間にわたって行った。Ｎ－グリカンを除去するために、６時間のインキュベーション後に１．２５ｍＵのＰＮＧａｓＦ（Ｐｒｏｚｙｍｅ）を混合物に添加した。ＬＣ－ＭＳ分析の前に、消化のために４Ｍの最終濃度まで尿素を添加した。ＵＰＬＣ及びＸｅｖｏ Ｇ２－Ｓ ＱＴｏｆ質量分析計（Ｗａｔｅｒｓ，Ｉｎｃ）から構成されたＬＣ－ＭＳシステムで消化混合物を分析した。Ａｃｑｕｉｔｙ ＨＳＳ Ｔ３ Ｃ１８カラム（２．１×１５０ｍＭ、Ｗａｔｅｒｓ，Ｉｎｃ）を用いたグラジエント溶出（ＴＦＡ／アセトニトリル）により、消化物の分離を達成した。ＢｉｏｐｈａｒｍａＬｙｎｘソフトウェアを使用してＬＣ－ＭＳペプチドマッピングデータを処理した。同定結果の妥当性は手作業で確認した。修飾量はイオン数から推定した。分析により、重鎖のＡｓｎ５４は脱アミド化の影響を極めて受けやすいことが明らかになった。この試料中、ＨＣ Ａｓｎ５４の８５％超が脱アミド化され、約８５％はｉｓｏＡｓｐ形態であった。結果を表７にまとめる。５４位のｉｓｏＡｓｐは、ＮＩ３０８．５Ｊ１０ Ｆａｂの結晶構造でも観察された。

【表７】

酸化部位	脱アミド化%
LC N33	2
HC N54	96
HC N391	1.7
HC N396	0.3

表７：ＮＩ３０８．５Ｊ１０におけるＡｓｎ残基の脱アミド化の結果

【０３３０】

実施例１３：ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントの設計及び変異の検証

軽鎖グリコシル化部位（Ｎ７５Ｄ）を除去するために、１つのＮＩ－３０８．５Ｊ１０軽鎖変異を選択した。脱アミド化易発性アスパラギン（Ｎ５４Ｓ、Ｎ５４Ｔ）または５５位のグリシン（Ｇ５５Ｓ、Ｇ５５Ｔ）を除去するために、４つのＮＩ－３０８．５Ｊ１０重鎖変異を選択した。完全なヒトＩｇＧ１としてバリアントを発現させるために構築物を設計した。Ｆａｂの発現を可能にするために、Ｃ末端ヘキサヒスチジンタグ（配列番号８４）を有するバリアントのＶＨ及びＣＨ１領域を含む構築物を設計した。配列を表８に記載する。

【表８－１】

配列番号	プラスミド番号	修飾位置	アミノ酸配列
27	SDD177	VL-N75D	EIVLTQSPLSLSVTPGEPASISCRSPRSLLHTNGYTYLD WYLQRPGQSPQLLIFLASNRASGVPDRFSGSGSGTDFTL RISGVEADDVGVYYCMQGLQPSWTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD

【表８－２】

			NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
28	SDD173	VH-N54S 完全 hIgG1	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQ PAGKGLEWIGRTYTSGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMN QFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
29	SDD174	VH-N54T 完全 hIgG1	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQ PAGKGLEWIGRTYTTGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMN QFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	SDD175	VH-G55S 完全 hIgG1	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQ PAGKGLEWIGRTYTNSKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMN QFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
31	SDD176	VH-G55T 完全 hIgG1	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQ PAGKGLEWIGRTYTNTKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMN QFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV

【表８－３】

			PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
32	SDD178	WT Fab-his	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQ PAGKGLEWIGRTYTNGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMN QFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH
33	SDD179	VH-N54S Fab-6H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQ PAGKGLEWIGRTYTSGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMN QFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH
34	SDD180	VH-N54T Fab-6H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQ PAGKGLEWIGRTYTTGKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMN QFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH
35	SDD181	VH-G55S Fab-6H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQ PAGKGLEWIGRTYTNSKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMN QFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH
36	SDD182	VH-G55T Fab-6H	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTYTVLGGSVSDYYWSCIRQ PAGKGLEWIGRTYTNTKTTYTYNPSLESRLSLSIDTSMN QFSLKLTSVTAADTAVYYCARWGAVTGDYYYGMDVWGPG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH

表８：修飾されたＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体のアミノ酸配列

【０３３１】

変異の検証のために、ＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体バリアントＮ５４Ｓ／Ｎ７５Ｄのマススペクトロメトリー分析を行った。５Ｊ１０　Ｎ５４Ｓ／Ｎ７５Ｄ　ｈＩｇＧ１のイン

タクト質量分析は、還元型グリコシル化抗体で検出された主成分が、予測された軽鎖、及びＮ結合型Ｇ０Ｆグリカンを含む重鎖であったことを示した。このことは、Ｎ７５Ｄ変異が成功したことを示している。還元型非脱グリコシル化ＮＩ－３０８．５Ｊ１０　Ｎ５４Ｓ／Ｎ７５Ｄ　ｈＩｇＧ１のデコンボリューションされた質量スペクトル。ＮＩ－３０８．５Ｊ１０　Ｎ５４Ｓ／Ｎ７５Ｄ　ｈＩｇＧ１のインタクト質量分析は、還元型グリコシル化抗体で検出された主成分が、予測された軽鎖、及びＮ結合型Ｇ０Ｆグリカンを含む重鎖であったことを示した。このことは、Ｎ７５Ｄ変異が成功したことを示している。

【０３３２】

図１１は、変異がマッピングされたＮＩ－３０８．５Ｊ１０抗体の結晶構造を示す。結晶構造から導き出すことができるように、翻訳後修飾は、抗体の結合部位から遠く離れている。

【０３３３】

実施例１４：バリアントＩｇＧ１及びＦａｂの生成

各重鎖変異体と組み合わせたＮ７５Ｄ軽鎖からなる工学操作された抗体ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントを、ＦｅｃｔｏＰｒｏトランスフェクション試薬を使用してＣＨＯ－Ｓ細胞に一過性にトランスフェクトし、２４時間後に低温にシフトした。上記の構築物を使用して、タンパク質を、完全なヒトＩｇＧ１としても、またＦａｂとしても生成した。遠心分離により上清を回収し、０．４５ｕｍフィルタに通して清澄化した。次いで、アフィニティクロマトグラフィ、続いてサイズ排除クロマトグラフィにより、Ｆａｂを精製した（表９）。完全なＩｇＧ１タンパク質を精製するために、清澄化した培養培地をｒＰｒｏｔｅｉｎ　Ａセファロース（ＧＥ　ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）にロードした。カラムをｐＨ７．４の２０ｍＭ　Na_2HPO_4、１５０ｍＭ　ＮａＣｌで洗浄し、タンパク質をｐＨ２．８の２５ｍＭ　NaH_2PO_4、１００ｍＭ　ＮａＣｌで溶出させ、０．５Ｍストック液から希釈したｐＨ８．６の１２．５ｍＭ　Na_2HPO_4で中和した。Ｆａｂの精製のために、清澄化した培養培地をＮｉＥｘｃｅｌセファロース（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）にロードし、バッファーＡ（２５ｍＭ　ｔｒｉｓ　ｐＨ８、５００ｍＭ　ＮａＣｌ、１０ｍＭイミダゾール）で洗浄し、３００ｍＭイミダゾールを含むバッファーＡで溶出させた。アフィニティ精製したタンパク質は、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　２００　１０／３００カラムにおいてＰＢＳで精製した。精製されたタンパク質のサイズ及び均一性をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析した。ＳＤＳ－ＰＡＧＥでは、試料をＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎの４～２０％　Ｔｒｉｓ－グリシングラジエントゲルに供した。非還元試料は、９５℃で３分間加熱した後、電気泳動を行った。還元された試料は、１００ｍＭ　ＤＴＴを含む試料バッファーで処理し、９５℃で３分間加熱した後、電気泳動を行った。ＳＤＳ－ＰＡＧＥの結果（図１２）により、すべてのタンパク質が予想されたサイズを示し、明らかな凝集体またはタンパク質分解産物はなかったことが明らかになった。

【表９】

	HC		LC		4D 番号	力価(mg/l)
	変異	プラスミド番号	変異	プラスミド番号		
hIgG1	WT	SDD151	WT	SDD152	#6003	134.5
	WT	SDD151	N75D	SDD177	#6207	132.3
	N54S	SDD173	N75D	SDD177	#6208	130.1
	N54T	SDD174	N75D	SDD177	#6209	122.4
	G55S	SDD175	N75D	SDD177	#6210	126.5
	G55T	SDD176	N75D	SDD177	#6211	129.3
hIgG1-Fab-6His	WT-Fab-6His	SDD178	WT	SDD152	#6212	118.1
	WT-Fab-6His	SDD178	N75D	SDD177	#6213	97.8
	N54S-Fab-6His	SDD179	N75D	SDD177	#6214	104.1
	N54T-Fab-6His	SDD180	N75D	SDD177	#6215	106.1
	G55S-Fab-6His	SDD181	N75D	SDD177	#6216	102
	G55T-Fab-6His	SDD182	N75D	SDD177	#6217	103

表９：ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＩｇＧ及びＦａｂの発現

【０３３４】

実施例１５：ＳＰＲによるポリＧＡへのタンパク質の結合

Ｂｉａｃｏｒｅ Ｔ２００計器（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用し、バリアントＦａｂの合成ポリＧＡに対する結合をＳＰＲによって評価した。メーカーが提供する試薬及びプロトコールを使用して、２～４ｐｇ／ｍｍ^{2}のＢｉｏｔｉｎ ＣＡＰｔｕｒｅチップ（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）により、合成ビオチン－８×ＧＡを、ＳＰＲバッファー（１０ｍＭ ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．２、１５０ｍＭ ＮａＣｌ、３．４ｍＭ ＥＤＴＡ、０．０５％ ＢＳＡ、０．００５％界面活性剤Ｐ２０）に５ｎｇ／ｍＬで含む溶液からキャプチャした。バリアント抗体Ｆａｂ断片を１．２３、３．７、１１、３３、及び１００ｎＭの漸増濃度でＳＰＲバッファーに含む一連の溶液を、ビオチン－８×ＧＡがコーティングされたセンサチップに各々３０μＬ／分で４分間注入し、続いてバッファー洗浄を行い、注入中、そして最終注入後１５分間にわたり、ビオチン－８×ＧＡを含まない参照センサと比較した結合応答を記録した。１：１結合モデルを使用し、Ｂｉａｃｏｒｅ Ｔ２００ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｓｏｆｔｗａｒｅ ｖ３．０によってデータを分析した。すべてのＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントは、２０～３０ｎＭのK_Dで同様の合成８×ＧＡに対する結合動態を示す。測定結果を表１０に記載する。合成８×ＧＡに対するＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＦａｂのＳＰＲ結合プロファイルが示すように、すべてのＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントは、２０～３０ｎＭのＫＤで同様の合成８×ＧＡに対する結合動態を示す。

【表１０】

	会合速度、 k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	解離速度、 k_d (s^{-1})	親和性、 K_D (nM)
5J10 WT Fab	2.7×10^{5}	7.8×10^{-3}	28
LC N75D Fab	2.3×10^{5}	5.9×10^{-3}	26
HC N54S/LC N75D Fab	2.9×10^{5}	6.0×10^{-3}	21
HC N54T/LC N75D Fab	2.6×10^{5}	7.6×10^{-3}	30
HC G55S/LC N75D Fab	1.8×10^{5}	4.4×10^{-3}	24
HC G55T/LC N75D Fab	2.0×10^{5}	4.4×10^{-3}	22

表１０：ＳＰＲによって測定された８×ＧＡに対するＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントＦａｂの結合率及び親和性。

【０３３５】

実施例１６：５Ｊ１０バリアントの安定性

ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントについて、分子安定性のさらなる試験を行った。すべてのバリアントについて、示差走査熱量測定（ＶＰ－ＤＳＣ、ＭｉｃｒｏＣａｌ）によって生成された熱安定性プロファイルは同様であり、ＣＨ２ドメイン（完全なＩｇＧ１）の融解温度は約７２℃であり、Ｆａｂの融解温度は７９～８１℃の範囲内であり、ＣＨ３ドメインの融解温度は８６℃超であった（表１１）。

【表１１】

分子	Tm_1 CH2	Tm_2 Fab	Tm_3 CH3
5J10 hIgG1	*	80.2	*
5J10-LC N75D hIgG1	72.9	80.0	87.0
5J10-LC N75D、HC N54S hIgG1	72.6	80.6	87.2
5J10-LC N75D、HC N54T hIgG1	72.9	79.0	86.7
5J10-LC N75D、HC G55S hIgG1	72.7	79.7	86.9
5J10-LC N75D、HC G55T hIgG1	72.5	79.8	86.9
5J10 Fab	該当せず	80.2	該当せず
5J10-LC N75D Fab	該当せず	80.2	該当せず
5J10-LC N75D、HC N54S Fab	該当せず	80.7	該当せず
5J10-LC N75D、HC N54T Fab	該当せず	79.3	該当せず
5J10-LC N75D、HC G55S Fab	該当せず	80.2	該当せず
5J10-LC N75D、HC G55T Fab	該当せず	80.2	該当せず

表１１：ＮＩ－３０８．５Ｊ１０バリアントの熱安定性。完全なＩｇＧについては、ＤＳＣにより、ｈＦｃ　ＣＨ２ドメインのアンフォールディングを特徴付けるT_{m1}、Ｆａｂ（ＣＨ１、ＶＨ、ＣＬ、ＶＬ）のアンフォールディングを特徴付けるT_{m2}、及びｈＦｃ　ＣＨ３ドメインのアンフォールディングを特徴付けるT_{m3}の各温度で、３つの主な融解転移が観察された。５Ｊ１０　ｈＩｇＧ１については、T_{m1}及びT_{m3}は、T_{m2}との重複により決定できなかった（*）。Ｆａｂについては、Ｆａｂ（ＣＨ１、ＶＨ、ＣＬ、ＶＬ）のアンフォールディングを特徴付ける１つの融解転移が観察されている。

【０３３６】
実施例１７：Ｃ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲタンパク質の病原性メカニズムを研究するための細胞ベースのモデル
新たな細胞培養及び動物モデルにおける近年の報告は、異常なＣ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲタンパク質の毒性の証拠を提供した。例えば、細胞培養系における細胞質ポリＧＡの毒性は、Ｍａｙら（Ａｃｔａ　Ｎｅｕｒｏｐａｔｈｏｌ．１２８（２０１４），４８５－５０３）及びＺｈａｎｇら（Ａｃｔａ　Ｎｅｕｒｏｐａｔｈｏｌ．１２８（２０１４），５０５－５２４）によって報告された。
【０３３７】
タウ（Ｙａｎａｍａｎｄｒａ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｎ．Ｃｌｉｎ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｎｅｕｒｏｌ．２（２０１３），２７８－２８８）及びα－シヌクレイン（Ｔｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　Ｒｅｐ．７（２０１４），２０５４－２０６５）について示されているように、本発明の抗体による処置によってＤＰＲ病理の拡大が防止され得るかどうかを決定するためには、同様の種類のインビトロＣ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲ毒性アッセイが使用される。特に、ＡＴＧ依存性翻訳において、１５０個のジペプチドリピートを保有する個々のＤＰＲタンパク質の発現を促進するために、合成ＤＮＡ配列を生成した。選択された個々のＤＰＲタンパク質配列のみの発現を確実にするために、ランダム化コドン戦略を用いた。ＳＨ－ＳＹ５Ｙ、ＮＳＣ－３４、Ｎｅｕｒｏ－２ａ、ｉＰＳＣ由来ニューロン、及び一次ニューロンなどの神経細胞におけるＤＰＲタンパク質の発現を促進するために、ニューロン特異的Ｔｈｙ１．２プロモーターによって調節される発現ベクターに合成ＤＮＡ配列をクローニングした。ＨＥＫ２９３Ｔ細胞、Ｕ－２　ＯＳ細胞、ＨｅＬａ細胞、及びＣｏｓ細胞などの幅広い真核細胞における高レベルの発現のためには、ＣＭＶプロモーターによって調節される発現ベクターに合成ＤＮＡ配列をクローニングした。Ｃ９ｏｒｆ７２患者の線維芽細胞に由来するヒトｉＰＳＣ由来ニューロン及びトランス分化ニューロン（ｉＮｅｕｒｏｎｓ）は、さらなるＣ９ｏｒｆ７２　ＤＰＲタンパク質の細胞培養モデルを表す。
【０３３８】
これらの細胞モデルは、本発明の抗体の治療有用性を試験するために使用することができる。本発明の抗体の治療効果の評価及び確認は、ミトコンドリア活性アッセイ及び／またはカスパーゼ活性アッセイによる細胞生存率、細胞溶解及び／または膜漏出アッセイによる細胞毒性、ならびに免疫組織化学的アッセイによる細胞内のＤＰＲタンパク質の拡散の阻害をモニタリングすることによって行うことができる。
【０３３９】
実施例１８：Ｃ９ｏｒｆ７２病変のトランスジェニックマウスモデルにおける抗ＤＰＲ抗体の治療有用性の検証
凝集しやすいタンパク質及び／またはミスフォールドしたタンパク質に対して開発された免疫療法アプローチは、いくつかの神経変性疾患の前臨床試験及び臨床試験において有望な結果をもたらしている。Ｃ９ｏｒｆ７２病変のトランスジェニックマウスモデルにおける対象抗ＤＰＲ抗体の治療有用性の検証は、ＷＯ２０１６／０５０８２２Ａ２の実施例１５に記載されているように行われる。さらに、ＲＡＮ翻訳からのＲＮＡフォーカス及びジペプチドリピートタンパク質ならびに関連する認知障害及び生存表現型を含むＣ９ｏｒｆ７２疾患の病理学的特徴を示すＣ９ｏｒｆ７２　ＢＡＣトランスジェニックマウス系統（Ｌｉｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｎ　９０（２０１６），５２１－３４及びＪｉａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｎ　９０（２０１６），５３５－５０）が開発されており、これらは、抗ＤＰＲ抗体の治療有用性を確認するのに好適である。さらに、約５００個のヘキサヌクレオチドリピートを有するヒトＣ９ｏｒｆ７２遺伝子を発現する適切なトランスジェニックマウス系統、いわゆるＣ９－５００　ＢＡＣトランスジェニックマウス系統が、ＦＶＢ／ＮＪ－Ｔｇ（Ｃ９ｏｒｆ７２）５００Ｌｐｗｒ／ＪとしてＪａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，６００　Ｍａｉｎ　Ｓｔｒｅｅｔ，Ｂａｒ　Ｈａｒｂｏｒ，ＭＥ　ＵＳＡ　０４６０９から市販されている。この系統のヘミ接合性マウスは、センス／

アンチセンスＲＮＡフォーカスの蓄積ならびにＲＡＮタンパク質及びＴＤＰ４３の凝集を伴う、年齢依存性麻痺、不安様行動、生存期間の減少、ならびに脳及び脊髄の広範な神経変性を発症する。Ｃ９－５００マウスにより、急性の急速進行性疾患と緩徐進行性疾患との両方の研究が可能になる。したがって、これは家族性筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳまたはルーゲーリック病）及び前頭側頭型認知症（ＦＴＤ）におけるＣ９ｏｒｆ７２リピート長依存性毒性獲得を研究するためのモデルであり、ひいては、対象抗体の治療有用性を確認するために好ましいマウスモデルである。

【０３４０】

さらに、一方ではさらなる動物モデルが開発されている。例えば、上記のＳｉｍｏｎｅｔ ａｌ．（２０１８）に記載されているｄｒｏｓｏｐｈｉｌａモデル、及び国際出願第ＷＯ２０１８／０６４６００号に記載されている非ヒト動物モデルを参照されたい。このような動物モデルから生成されたインビボデータを対応するヒト疾患の治療に結び付ける戦略も当業者には知られている。例えば、Ｐｉｃｈｅｒ－Ｍａｒｔｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ａｃｔａ Ｎｅｕｒｏｐａｔｈｏｌｏｇｉｃａ Ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ ４（２０１６），１－２９を参照されたい。特に、アルツハイマー病患者の脳内のベータアミロイド（Ａｂｅｔａ）を標的とすることができ、これまでのところ第Ｉ相及び第ＩＩ相臨床試験で有望な結果を示している組換えヒト由来抗体であるアデュカヌマブの開発から指針を得ることができる。アデュカヌマブのリード抗体の生成、ならびにその生化学的及び免疫組織化学的特性、ならびにアルツハイマー病のマウスモデルにおけるインビボでの生物学的活性の調査については、開示内容が参照により本明細書に組み込まれる国際出願第ＷＯ２００８／０８１００８号に記載されている。ＷＯ２００８／０８１００８の実施例４に示されているように、抗Ａｂｅｔａ抗体は、アルツハイマー病のトランスジェニックマウスモデルにおいて、３ｍｇ／ｋｇの用量で弱く腹腔内投与した場合に、異常な認知行動を改善することができ、ベータアミロイド斑負荷の低減をもたらした。臨床試験で確認できたように、このマウスモデルで使用された用量及び処置レジメンはまた、３ｍｇ／ｋｇを含む１～１０ｍｇ／ｋｇの用量を調査した臨床試験において有効であることが証明された。したがって、病理学的タンパク質に起因する疾患のトランスジェニックマウスモデルは、ヒト患者における所与の抗体の治療有用性を予測するために十分に使用することができる。

【０３４１】

対象抗体及びそのバリアントの投与様式及び用量に関しては、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）の症状の発症につながる病原性ヒトスーパーオキシドジスムターゼ１（ＳＯＤ１）変異体を過剰発現するトランスジェニックマウスの末梢抗体処置の治療可能性の調査に基づけば、抗ＳＯＤ１抗体の直接的な脳への注入後、また末梢投与後、特に３～３０ｍｇ／ｋｇの用量で腹腔内（ｉ．ｐ．）注射によって毎週投与した場合に処置が効果的であることが示され得る。Ｍａｉｅｒ ｅｔ ａｌ．，２０１８，Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ Ｍｅｄｉｃｉｎｅを参照されたい。ポリＧＡ－ＤＰＲ含有タンパク質は、ＡＬＳを患う患者の脳内に存在するミスフォールドし凝集したＳＯＤ１と同様にＣ９ｏｒｆ７２遺伝子から翻訳され、共凝集することさえあるため、対象抗体及びそのバリアントが、同じ投与レジメンで、すなわち毎週の腹腔内注射により３～３０ｍｇ／ｋｇにおいて効果的であると期待するのは堅実である。したがって、好ましい実施形態では、抗ＤＰＲ抗体及びそのＤＰＲ結合性断片は、３～３０ｍｇ／ｋｇの用量で腹腔内注射により毎週投与されるように設計された医薬組成物に配合される。したがって、また本発明によれば、３～３０ｍｇ／ｋｇの用量での対象抗体の毎週の腹腔内注射は、好ましい投与レジメンである。

【０３４２】

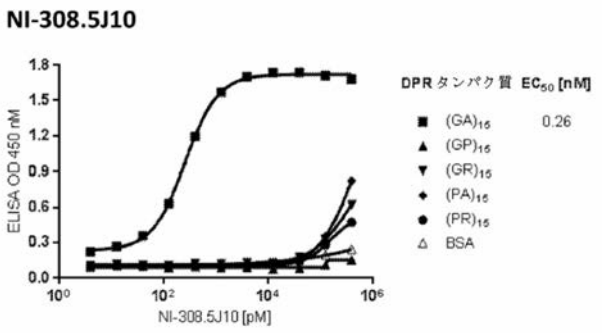
さらに、ヒト免疫系における進化的最適化及び親和性成熟のために、本発明の抗体は、健康なヒト対象から単離されていることにより、価値ある治療ツールとなり、安全性プロファイルが優れ、免疫原性がない可能性が高い。これらの期待される治療効果の確認は、上述の公開文献に記載されている試験方法により、マウス抗体の代わりにヒトを用いて行

うことができる。

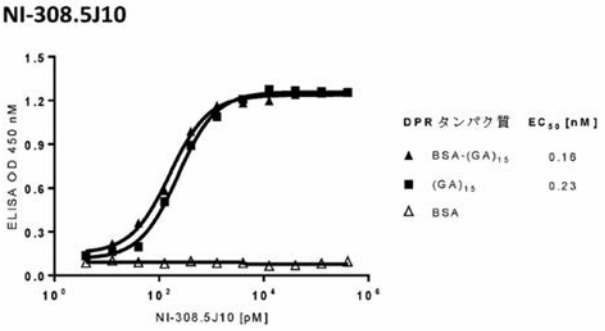
【図１】



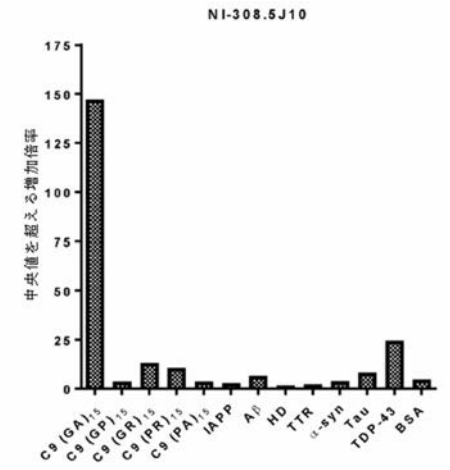
【図２】



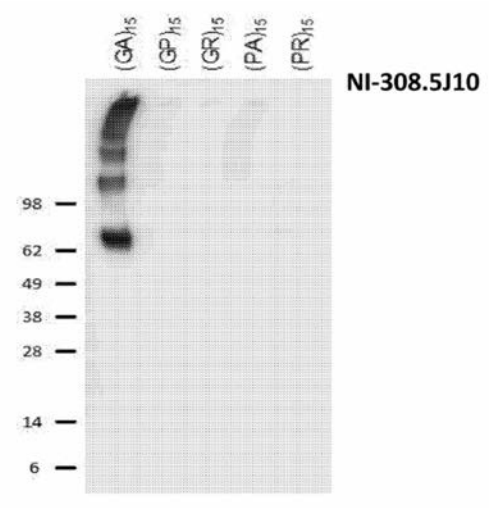
【図３】



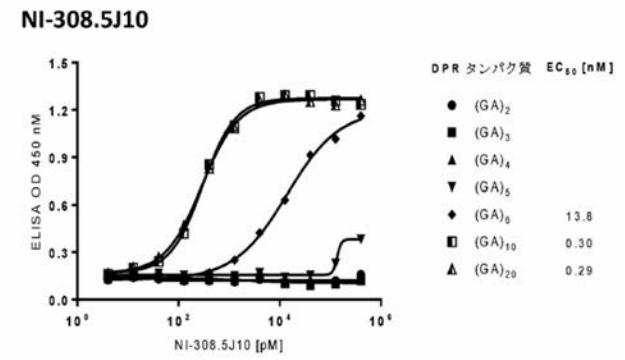
【図４】



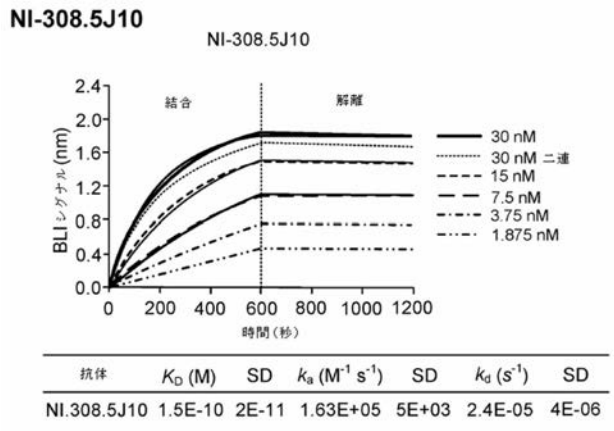
【図５】



【図６】

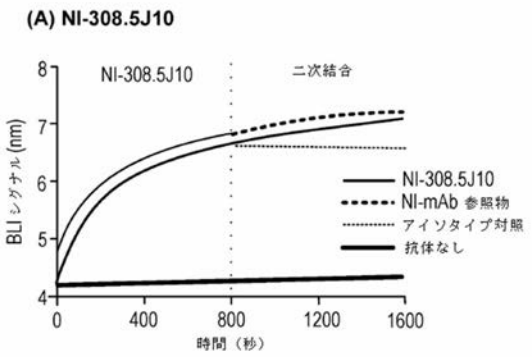


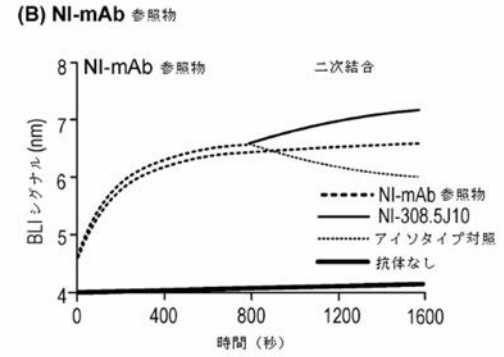
【図７】



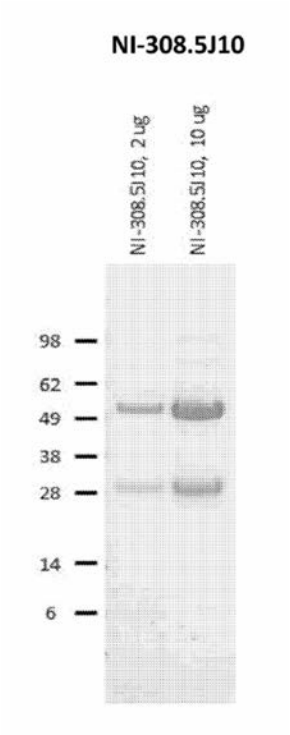
抗体	K_D (M)	SD	k_a (M^{-1} s^{-1})	SD	k_d (s^{-1})	SD
NI.308.5J10	1.5E-10	2E-11	1.63E+05	5E+03	2.4E-05	4E-06

【図８】

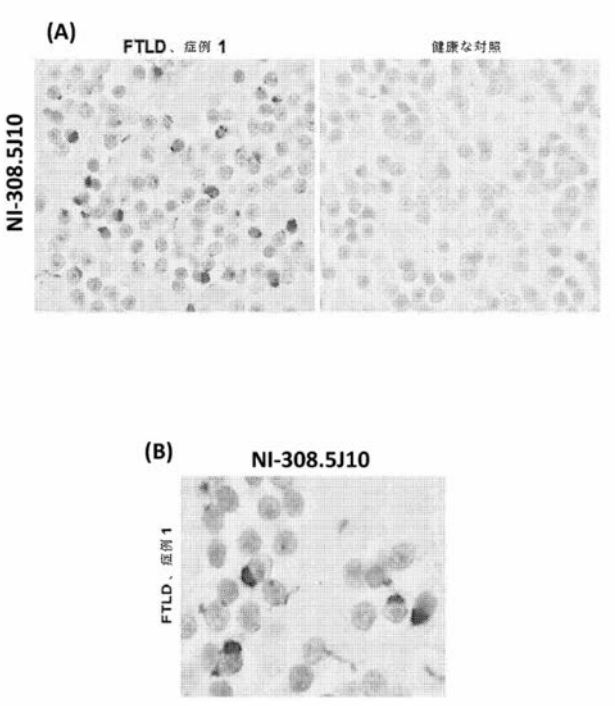




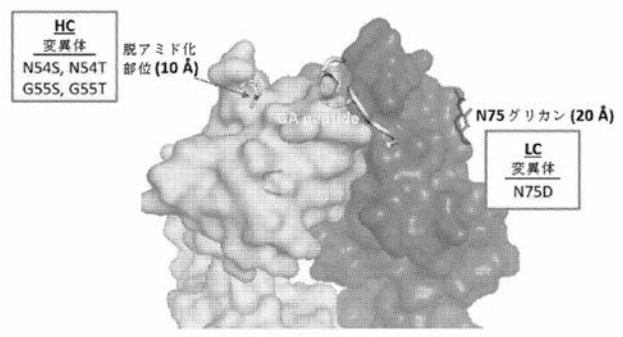
【図９】



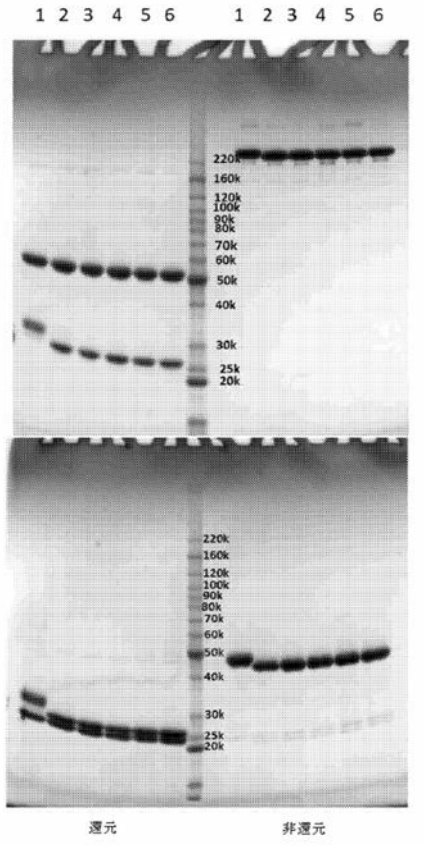
【図１０】



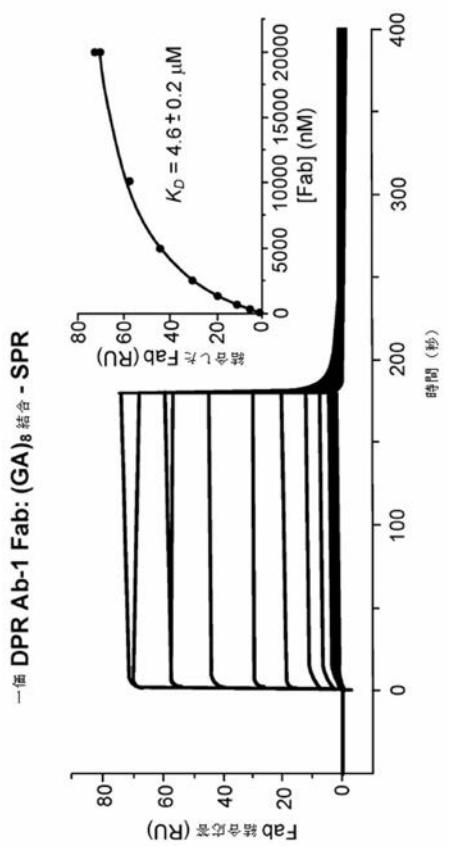
【図１１】



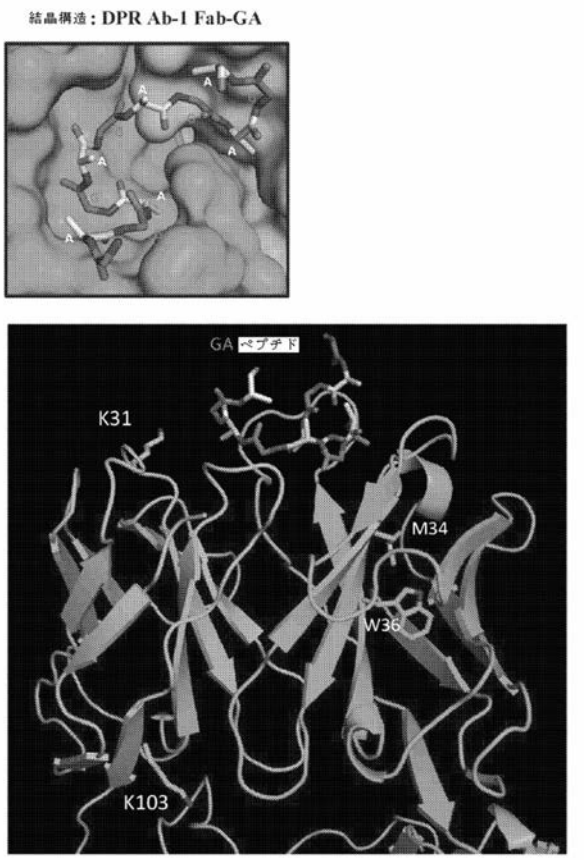
【図１２】



【図１３Ａ】



【図１３Ｂ】



【配列表】
2021521896000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2019/029109

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C07K 5/06; C07K 16/44 (2019.01)
CPC - C07K 5/06026; C07K 16/44 (2019.05)

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)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC - 424/141.1; 514/21.91 (keyword delimited)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2017/0247471 A1 (NEURIMMUNE HOLDING AG) 31 August 2017 (31.08.2017) entire document	1-3
A	WO 2014/114303 A1 (DEUTSCHES ZENTRUM FÜR NEURODEGENERATIVE ERKRANKUNGEN) 31 July 2014 (31.07.2014) entire document	1-3, 5-9
A	US 2017/0059586 A1 (MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH) 02 March 2017 (02.03.2017) entire document	1-3, 5-9
A	WO 2018/018031 A1 (NEW YORK UNIVERSITY) 25 January 2018 (25.01.2018) entire document	1-3, 5-9
A	WO 2017/136313 A1 (THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 10 August 2017 (10.08.2017) entire document	1-3, 5-9
A	ZHOU et al. "Antibodies inhibit transmission and aggregation of C9orf72 poly-GA dipeptide repeat proteins," EMBO Molecular Medicine, 28 March 2017 (28.03.2017), Vol. 9, No. 5, Pgs. 687-702. entire document	1-3, 5-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
28 July 2019	12 AUG 2019
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2019/029109

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

SEQ ID NOs: 2-5, 7-10, 12, 13, 24, 78, and 80 were searched.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2019/029109

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

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

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

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

3. ☒ Claims Nos.: 4, 10-22
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

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

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

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

Remark on Protest

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

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

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	5/10		
C07K 16/18	*(2006.01)*	C07K	16/18		
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61P 21/04	*(2006.01)*	A61P	21/04		
G01N 33/53	*(2006.01)*	G01N	33/53	D	
G01N 33/531	*(2006.01)*	G01N	33/531	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

(72)発明者 グリム, ヤン
スイス国 ８９５２ シュリーレン, ヴァーギシュトラーセ １３, ニューリミューン アーゲー
(72)発明者 モントラシオ, ファビオ
スイス国 ８９５２ シュリーレン, ヴァーギシュトラーセ １３, ニューリミューン アーゲー
(72)発明者 ダルキリッチーリドル, アイシン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２, ケンブリッジ, ビニー ストリート ２２５, バイオジェン エムエイ インコーポレイテッド
(72)発明者 ルシェ, ミア マリー
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２, ケンブリッジ, ビニー ストリート ２２５, バイオジェン エムエイ インコーポレイテッド
(72)発明者 アーント, ジョゼフ ウォルター
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４２, ケンブリッジ, ビニー ストリート ２２５, バイオジェン エムエイ インコーポレイテッド

Fターム(参考) 4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA02 CA25 CA45 CA46
4C085 AA14 BB11 BB41 BB43 EE01 GG02 GG03 GG04
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA72 DA76 EA21 EA31 EA50 FA72
FA74