

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-508042
(P2025-508042A)

(43)公表日 令和7年3月21日(2025.3.21)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	C 0 7 K	16/30	Z N A	4 B 0 6 5
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		4 C 0 7 6
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z	4 H 0 4 5
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全68頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-553325(P2024-553325)			(71)出願人	524331318
(86)(22)出願日	令和5年3月16日(2023.3.16)				ペンティクサファーム アーゲー
(85)翻訳文提出日	令和6年10月25日(2024.10.25)				ドイツ国 9 7 0 8 0 ヴュルツブルク,
(86)国際出願番号	PCT/EP2023/056832				ビスマルクシュトラーク 1 3
(87)国際公開番号	WO2023/175117			(74)代理人	100078282
(87)国際公開日	令和5年9月21日(2023.9.21)				弁理士 山本 秀策
(31)優先権主張番号	22162550.2			(74)代理人	100113413
(32)優先日	令和4年3月16日(2022.3.16)				弁理士 森下 夏樹
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)			(74)代理人	100181674
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,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			(74)代理人	弁理士 飯田 貴敏
	最終頁に続く			(74)代理人	100181641
					弁理士 石川 大輔
				(74)代理人	230113332
					弁理士 山本 健策
				(72)発明者	ゲレルト, ヨハンナ
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 L Y P D 3 に対する抗体

(57)【要約】
本発明は、Oーグリコシル化依存的な様式でL Y P D 3に結合する抗L Y P D 3抗体に関する。それにより、抗体は腫瘍関連L Y P D 3に特異的である。本発明はさらに、前記抗L Y P D 3抗体を含有する医薬組成物、および癌の処置におけるそれらの使用を提供する。本発明者らは、腫瘍特異性が増強された抗L Y P D 3抗体を開発した。これらの抗体は、Oーグリコシル化依存的な様式で腫瘍関連L Y P D 3に結合し、癌細胞のL Y P D 3上に存在するOーグリカン構造を認識する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

L Y P D 3 のセリンまたはトレオニン残基に接着している G a l N A c α 1 -、シアル化 G a l N A c α 1 -、G a l β 1 - 3 G a l N A c α 1 -、およびシアル化 G a l β 1 - 3 G a l N A c α 1 - からなる群から選択されるオリゴ糖構造を含むエピトープにおいて、グリコシル化されたヒト L Y P D 3 に特異的に結合する能力がある抗体。

【請求項 2】

前記オリゴ糖構造が、配列番号 1 3 7 の 2 3 4 位 ~ 3 0 3 位以内のセリンまたはトレオニン残基に接着されている、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 3】

前記エピトープが、配列番号 1 3 7 の 2 3 4 位 ~ 3 0 3 位以内の 1 または複数のアミノ酸を含み、特に、前記エピトープの前記アミノ酸の少なくとも 5 0 % が、配列番号 1 3 7 の 2 3 4 位 ~ 3 0 3 位以内に存在する、請求項 1 または 2 に記載の抗体。

【請求項 4】

G a l N A c α 1 - および G a l β 1 - 3 G a l N A c α 1 - のいずれか一方または両方でグリコシル化されたヒト L Y P D 3 に特異的に結合する能力がある、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 5】

G a l β 1 - 3 G a l N A c α 1 - でグリコシル化されたヒト L Y P D 3 に特異的に結合する能力がある、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 6】

L Y P D 3 に結合する能力があり、以下を含む抗体

(i) 配列番号 1 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - H 1、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 3 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 4 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - L 1、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(i i) 配列番号 9 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 1 3 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 1 4 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(i i i) 配列番号 1 7 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 1 8 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 1 9 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 2 0 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 2 2 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(i v) 配列番号 2 5 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 2 6 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 2 7 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 2 8 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 2 9 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 3 0 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(v) 配列番号 3 3 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 3 4 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 3 5 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 3 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 3 7 のアミノ酸配列を有

10

20

30

40

50

する C D R - L 2、および配列番号 3 8 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(v i) 配列番号 4 1 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 4 2 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 4 3 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 4 4 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 4 5 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 4 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(v i i) 配列番号 4 9 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 5 0 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 5 1 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 5 2 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 5 3 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 5 4 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(v i i i) 配列番号 5 7 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 5 8 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 5 9 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 6 0 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 6 1 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 6 2 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(i x) 前記 6 つの C D R 配列において合計で 1、2 または 3 個のアミノ酸置換を含む、上記項目 (i) ~ (v i i i) のいずれか 1 つに記載の重鎖可変領域および軽鎖可変領域。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の抗体であって、

(i) 前記重鎖可変領域は、配列番号 7 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 8 のアミノ酸配列を含むか；または

(i i) 前記重鎖可変領域は、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含むか；または

(i i i) 前記重鎖可変領域は、配列番号 2 3 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含むか；または

(i v) 前記重鎖可変領域は、配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 3 2 のアミノ酸配列を含むか；または

(v) 前記重鎖可変領域は、配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含むか；または

(v i) 前記重鎖可変領域は、配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 4 8 のアミノ酸配列を含むか；または

(v i i) 前記重鎖可変領域は配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 5 6 のアミノ酸配列を含むか；または

(v i i i) 前記重鎖可変領域は配列番号 6 3 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 6 4 のアミノ酸配列を含むか；または

(i x) 前記重鎖可変領域および前記軽鎖可変領域は、それらの全長にわたって上記項目 (i) ~ (v i i i) のいずれか 1 つの重鎖可変領域配列および軽鎖可変領域配列とそれぞれ少なくとも 6 0 % 同一のアミノ酸配列を含み、前記抗体は、好ましくは上記項目 (i) ~ (v i i i) のいずれか 1 つに記載の抗体のヒト化バージョンである、抗体。

【請求項 8】

F c 領域をさらに含む、請求項 6 または 7 に記載の抗体。

【請求項 9】

請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗体である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の抗体。

10

20

30

40

50

【請求項 10】

請求項 6～9 のいずれか一項に記載の抗体であって、

(i) 配列番号 33 の前記アミノ酸配列を有する前記相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 34 の前記アミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 35 の前記アミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 36 の前記アミノ酸配列を有する前記相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 37 の前記アミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 38 の前記アミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(ii) 配列番号 39 の前記アミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 60% 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 33 の前記アミノ酸配列を有する CDR-H1、配列番号 34 の前記アミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 35 の前記アミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 40 の前記アミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 60% 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 36 の前記アミノ酸配列を有する CDR-L1、配列番号 37 の前記アミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 38 の前記アミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；

を含み、

前記抗体は、GalNAc α 1-および Gal β 1-3GalNAc α 1-のいずれか一方または両方でグリコシル化されたヒトLYPD3 に特異的に結合する能力がある、抗体。

【請求項 11】

請求項 6～9 のいずれか一項に記載の抗体であって、

(i) 配列番号 9 の前記アミノ酸配列を有する前記相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 10 の前記アミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 11 の前記アミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 12 の前記アミノ酸配列を有する前記相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 13 の前記アミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 14 の前記アミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(ii) 配列番号 15 の前記アミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 60% 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 9 の前記アミノ酸配列を有する CDR-H1、配列番号 10 の前記アミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 11 の前記アミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 16 の前記アミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 60% 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 12 の前記アミノ酸配列を有する CDR-L1 配列番号 13 の前記アミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 14 の前記アミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；

を含み、

前記抗体は、Gal β 1-3GalNAc α 1-でグリコシル化されたヒトLYPD3 に特異的に結合する能力がある、抗体。

【請求項 12】

ヒト化抗体であって、

(i) 前記重鎖可変領域は配列番号 139 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 144 のアミノ酸配列を含むか；または

(ii) 前記重鎖可変領域は配列番号 140 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 144 の前記アミノ酸配列を含むか；または

(iii) 前記重鎖可変領域は配列番号 141 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 144 の前記アミノ酸配列を含むか；または

(iv) 前記重鎖可変領域は配列番号 142 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 144 の前記アミノ酸配列を含むか；または

(v) 前記重鎖可変領域は配列番号 142 の前記アミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域

10

20

30

40

50

域は配列番号 1 4 3 のアミノ酸配列を含むか；または

(v i) 前記重鎖可変領域は配列番号 1 4 2 の前記アミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 1 4 5 の前記アミノ酸配列を含むか；または

(v i i) 前記重鎖可変領域は配列番号 1 4 2 の前記アミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 1 4 6 の前記アミノ酸配列を含むか；または

(v i i i) 前記重鎖可変領域は配列番号 1 3 8 のアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 1 4 5 の前記アミノ酸配列を含むか；または

(i x) 前記重鎖可変領域は配列番号 1 4 0 の前記アミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域は配列番号 1 4 5 の前記アミノ酸配列を含む、

請求項 6 および 8 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の抗体。

10

【請求項 1 3】

I g G 1 型、I g G 2 型、I g G 3 型または I g G 4 型の抗体、特に I g G 1 型の抗体である、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 1 4】

さらなる薬剤にコンジュゲートした、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の抗体を含むコンジュゲート。

【請求項 1 5】

前記さらなる薬剤が、細胞傷害性薬剤、腫瘍特異的抗体または免疫チェックポイント遮断もしくは活性化抗体である、請求項 1 4 に記載のコンジュゲート。

【請求項 1 6】

20

キメラ抗原受容体である、請求項 1 4 に記載のコンジュゲート。

【請求項 1 7】

請求項 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の抗体、または請求項 1 4 ～ 1 6 のいずれか一項に記載のコンジュゲートをコードする核酸であって、前記さらなる薬剤が、前記抗体に融合したポリペプチドまたはタンパク質である、核酸。

【請求項 1 8】

請求項 1 7 に記載の核酸および前記核酸と作動可能に接続されたプロモーターを含む発現カセットまたはベクター。

【請求項 1 9】

請求項 1 7 に記載の核酸または請求項 1 8 に記載の発現カセットもしくはベクターを含む宿主細胞。

30

【請求項 2 0】

前記宿主細胞が白血球であり、請求項 1 6 に記載のコンジュゲートをコードする核酸を含む、請求項 1 9 に記載の宿主細胞。

【請求項 2 1】

請求項 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の抗体、請求項 1 4 ～ 1 6 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、請求項 1 7 に記載の核酸、請求項 1 8 に記載の発現カセットもしくはベクター、または請求項 1 9 もしくは 2 0 に記載の宿主細胞を含む組成物。

【請求項 2 2】

溶媒、希釈剤および賦形剤からなる群から選択される 1 または複数の成分を必要に応じてさらに含む医薬組成物である、請求項 2 1 に記載の組成物。

40

【請求項 2 3】

医薬に使用するための、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の抗体、請求項 1 4 ～ 1 6 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、請求項 2 0 に記載の宿主細胞、または請求項 2 2 に記載の組成物。

【請求項 2 4】

癌、青年期特発性脊柱側弯症、コレステリルエステル転送タンパク質 (C E T P) 欠乏症、魚眼病、複合型高脂血症、シトルリン血症または家族性高コレステロール血症の処置に使用するための、請求項 2 3 に記載の抗体、コンジュゲート、宿主細胞または組成物。

【請求項 2 5】

50

前記癌が、頭頸部癌、結腸癌、結腸直腸癌、肝細胞癌、皮膚癌、子宮頸癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、腎癌、食道癌、肺癌、および生殖器領域癌、特に非小細胞肺癌（NSCLC）および扁平上皮癌（SCC）からなる群から選択される、請求項24に記載の抗体、コンジュゲート、宿主細胞または組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、抗体の分野に関する。特に、グリコシル化依存的な様式で強い抗原結合を示す抗LYPD3抗体が提供される。特定の実施形態では、本発明は、治療的および診断的使用のための抗LYPD3抗体に関する。

10

【背景技術】

【0002】

発明の背景

今日、抗体は、医学および研究の分野で広く使用されている薬剤である。医学において、それらは多くの異なる分野で用途を見出している。例えば、抗体は、癌、心血管疾患、炎症性疾患、黄斑変性、移植拒絶反応、多発性硬化症、およびウイルス感染症などの様々な疾患の処置および予防において治療薬として使用されている。これらの治療法では、抗体は、例えば受容体またはメッセンジャー分子を遮断し、それによってそれらの疾患関連機能を阻害することによって、または患者の免疫系の成分を動員および活性化することによって、それ自体で治療活性を有し得る。

20

【0003】

癌の処置において、治療用抗体の重要な特徴は、腫瘍組織に対するその特異性である。このことは、抗体が、排他的にまたは主に癌細胞に見出されるが、正常組織の細胞には低い程度にしか見出されないエピトープを標的とすべきであることを意味する。それにより、抗体の治療活性、例えば標的細胞に対する免疫応答の誘導、または細胞傷害性ペイロードによる細胞の破壊が、腫瘍部位で特異的に作用する。非腫瘍細胞への抗体の結合に起因する、正常組織におけるそれぞれの活性は、重篤な副作用をもたらし得る。したがって、腫瘍細胞に対する特異性を増加させると、有害作用のリスクが低下し、想定される治療の安全性が向上する。

30

【0004】

可能性のある癌抗原は、LYPD3（C4.4A）である。このタンパク質は、グリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）に固定された、高グリコシル化細胞表面タンパク質であり、創傷治癒中に移動するケラチノサイトにおいて上方制御されることが示されている。これは、ラットの脾臓腫瘍細胞における転移関連細胞表面タンパク質として最初に記載され、その後、いくつかの異なる癌における発癌に関連している。癌において、LYPD3は、細胞外マトリックスとの相互作用を介して腫瘍細胞浸潤に特異的に関与することが示唆されている。

【0005】

LYPD3は、非小細胞肺癌（NSCLC）において強く過剰発現しており、他の2つの最も一般的なNSCLCサブタイプである腺癌（AC）および大細胞癌（LCC）と比較して、扁平上皮癌（SCC）サブタイプにおいて優先的に発現している。肺癌は、最も頻繁に診断される癌であり、2012年に推定180万人の新規症例がある。NSCLCは全肺癌の85%を占め、SCCはNSCLCの症例の30%に発生する2番目に頻度の高い組織学的サブタイプであり、世界中で年間約40万人の死亡の原因となっている。

40

【0006】

LYPD3の過剰発現は、食道SCC（ESCC）サブタイプを含む頭頸部（HNSC）のSCCにおいても検出されている。転写レベルでは、原発性肺癌の約50%および肺癌転移の75%がLYPD3 mRNAを発現するが、正常な肺組織では発現は検出されていない。さらに、LYPD3は、結腸直腸癌および乳癌で発現される。

50

【0007】

LYPD3の過剰発現は、NSCLC、結腸直腸癌およびESCCにおける悪性表現型および予後不良と相関することが示されているが、乳癌においては良好な予後と関連している。したがって、LYPD3は、抗腫瘍免疫療法の興味深い標的である。

【0008】

しかし、通常の生理学的条件下では、LYPD3は皮膚ケラチノサイト、食道内皮細胞および胎盤細胞で発現される。これは、癌関連LYPD3と正常組織上のLYPD3とを区別することができない抗体を用いた癌治療において望ましくない副作用を引き起こす可能性がある。

【0009】

したがって、腫瘍特異的抗LYPD3抗体を提供することが当技術分野で必要とされている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0010】

発明の要旨

本発明者らは、腫瘍特異性が増強された抗LYPD3抗体を開発した。これらの抗体は、O-グリコシル化依存的な様式で腫瘍関連LYPD3に結合し、癌細胞のLYPD3上に存在するO-グリカン構造を認識する。癌細胞のO-グリコシル化は、多量の短鎖構造、特に単糖類、二糖類および三糖類、例えばThomsen-Friedenreich抗原(TF; Gal β 1-3GalNAc α 1-)、シアル化Thomsen-Friedenreich抗原(sTF)、Thomsen nouvelle抗原(Tn; GalNAc α 1-)およびシアル化Thomsen nouvelle抗原(Sia α 2-6GalNAc α 1-)などを含む。対照的に、正常細胞では、O-グリコシル化ははるかに長いオリゴ糖鎖を包含する。開発された抗体は、短い癌細胞由来O-グリコシル化を担持するLYPD3に特異的に結合するので、それらは、腫瘍関連LYPD3(すなわち、癌細胞上に存在するLYPD3)と、正常組織の細胞上のLYPD3とを区別する。それにより、本発明に記載の抗体は、腫瘍細胞上のLYPD3に優先的に結合し、したがって、優れた癌特異性を有し、正常組織への結合が減少し、癌免疫療法における有害作用のリスクが低下する。

【0011】

成熟LYPD3は、2つのLy-6(白血球抗原6)/uPAR/ α -神経毒ドメイン(LUDメイン)からなり、翻訳後グリコシル化によって広範囲に修飾されている。これは、第2のLUDメイン中またはそれに近接して位置する5つのN-グリコシル化部位と、C末端のSer/Thr/Proリッチ領域でクラスター化した約15個のO結合型炭水化物を含む。本発明に記載の抗体は、ヒトLYPD3配列(配列番号137)のアミノ酸234~303、特にアミノ酸247~297のC末端のSTPリッチ領域に結合することにより、O-グリコシル化依存的な様式でLYPD3を認識する。この領域には、LYPD3のO-グリコシル化部位が位置している。

【0012】

上記に鑑み、第1の態様において、本発明は、LYPD3のセリンまたはトレオニン残基に接着しているGalNAc α 1-、シアル化GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、およびシアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-からなる群から選択されるオリゴ糖構造を含むエピトープにおいてグリコシル化されたヒトLYPD3に特異的に結合する能力がある抗体に関する。

【0013】

第2の態様では、本発明は、以下を含む抗LYPD3抗体に関する。

(i) 配列番号1のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR)CDR-H1、配列番号2のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号3のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

10

20

30

40

50

配列番号 4 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 6 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(ii) 配列番号 9 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 12 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 13 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 14 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(iii) 配列番号 17 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 18 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 19 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 20 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 21 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 22 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(iv) 配列番号 25 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 26 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 27 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 28 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 29 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 30 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(v) 配列番号 33 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 34 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 35 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 36 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 37 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 38 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(vi) 配列番号 41 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 42 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 43 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 44 アミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 45 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 46 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(vii) 配列番号 49 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 50 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 51 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 52 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 53 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 54 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(viii) 配列番号 57 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 58 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 59 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 60 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 61 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 62 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(ix) 配列番号 65 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 66 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 67 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 68 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 69 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 70 のアミノ酸配列を有す

10

20

30

40

50

る C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(x) 配列番号 73 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - H 1、配列番号 74 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 75 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 76 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - L 1、配列番号 77 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 78 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(x i) 配列番号 81 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - H 1、配列番号 82 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 83 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 84 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - L 1、配列番号 85 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 86 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(x i i) 配列番号 89 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - H 1、配列番号 90 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 91 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 92 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - L 1、配列番号 93 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 94 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(x i i i) 配列番号 97 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - H 1、配列番号 98 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 99 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 100 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - L 1、配列番号 101 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 102 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(x i v) 配列番号 105 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - H 1、配列番号 106 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 107 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 108 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - L 1、配列番号 109 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 110 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(x v) 配列番号 113 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - H 1、配列番号 114 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 115 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 116 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - L 1、配列番号 117 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 118 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(x v i) 配列番号 121 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - H 1、配列番号 122 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 123 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 124 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - L 1、配列番号 125 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 126 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；または

(x v i i) 配列番号 129 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - H 1、配列番号 130 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 131 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 132 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (C D R) C D R - L 1、配列番号 133 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 134 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域。

【0014】

10

20

30

40

50

第3の態様では、本発明は、本発明の第1または第2の態様に記載の抗体をコードする核酸を提供する。さらに、第4の態様では、本発明に記載の核酸および前記核酸と作動可能に接続されたプロモーターを含む発現カセットまたはベクター、そして、第5の態様では、本発明に記載の核酸または発現カセットまたはベクターを含む宿主細胞が提供される。

【0015】

第6の態様では、本発明は、さらなる薬剤にコンジュゲートした本発明の第1または第2の態様に記載の抗体を含むコンジュゲートを提供する。

【0016】

第7の態様では、本発明は、本発明の第1または第2の態様に記載の抗体、本発明の第3の態様に記載の核酸、本発明の第4の態様に記載の発現カセットまたはベクター、本発明の第5の態様に記載の宿主細胞または本発明の第6の態様に記載のコンジュゲートを含む組成物に関する。

【0017】

第8の態様によれば、本発明は、医薬、特に癌の処置において使用するための、本発明に記載の抗体、核酸、発現カセットまたはベクター、宿主細胞、組成物またはコンジュゲートを提供する。

【0018】

本発明の他の目的、特徴、利点および態様は、以下の説明および添付の特許請求の範囲から当業者に明らかになるであろう。しかしながら、本出願の好ましい実施形態を示す以下の説明、添付の特許請求の範囲、および具体例は、例示のみを目的として与えられることを理解されたい。開示された本発明の精神および範囲内の様々な変更および修正は、以下を読むことによって当業者に容易に明らかになるであろう。

【0019】

定義

本明細書で使用される場合、以下の表現は、それらが使用される文脈がそうでないことを示す程度を除いて、通常、好ましくは以下に示される意味を有することが意図される。

【0020】

本明細書で使用される「含む」という表現は、その文字通りの意味に加えて、「から本質的になる」および「からなる」という表現も含み、具体的にこれらを指す。したがって、「含む」という表現は、具体的に列挙された要素を「含む」主題がさらなる要素を含まない実施形態、ならびに具体的に列挙された要素を「含む」主題がさらなる要素を包含し得る、かつ／または実際に包含する実施形態を指す。同様に、「有する」という表現は、「含む」という表現として理解されるべきであり、「から本質的になる」および「からなる」という表現も含み、も具体的にこれらを指す。「から本質的になる」という用語は、可能な場合には、特に、主題が本質的になる具体的に列挙された要素に加えて、主題が20%またはそれ未満、特に15%またはそれ未満、10%またはそれ未満、または特に5%またはそれ未満のさらなる要素を含む実施形態を指す。

【0021】

「抗体」という用語は、特に、ジスルフィド結合によって接続された少なくとも2つの重鎖と2つの軽鎖を含むタンパク質を指す。各重鎖は、重鎖可変領域（VH）および重鎖定常領域（CH）からなる。各軽鎖は、軽鎖可変領域（VL）および軽鎖定常領域（CL）からなる。重鎖定常領域は3つ、またはIgM型またはIgE型の抗体の場合は4つの重鎖定常ドメイン（CH1、CH2、CH3およびCH4）を含み、第1の定常ドメインCH1は可変領域に隣接しており、ヒンジ領域によって第2の定常ドメインCH2に接続され得る。軽鎖定常領域は、1つの定常ドメインのみからなる。可変領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる、より保存された領域が散在する、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変性の領域にさらに細分することができ、各可変領域は3つのCDRと4つのFRを含む。CDRのアミノ酸残基は、特に、IMGT系従ってCDR局在化に基づいて決定される。

【0022】

重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。重鎖定常領域は、 γ -、 δ -、 α -、 μ -または ϵ 型重鎖などの任意のタイプのものであり得る。好ましくは、抗体の重鎖は γ 鎖である。さらに、軽鎖定常領域は、 κ または λ 型軽鎖などの任意のタイプのものであってもよい。好ましくは、抗体の軽鎖は κ 鎖である。「 γ - (δ -、 α -、 μ -または ϵ -) 型重鎖」および「 κ - (λ -) 型軽鎖」という用語は、天然に存在する重鎖定常領域アミノ酸配列または軽鎖定常領域アミノ酸配列、特にヒト重鎖定常領域アミノ酸配列またはヒト軽鎖定常領域アミノ酸配列に由来する定常領域アミノ酸配列をそれぞれ有する抗体重鎖または抗体軽鎖を指す。特に、 γ 型（特に $\gamma 1$ 型）重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列は、ヒト γ （特にヒト $\gamma 1$ のアロタイプの1つ）抗体重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列と少なくとも95%、特に少なくとも98%同一である。さらに、 κ 型軽鎖の定常ドメインのアミノ酸配列は、特に、ヒト κ 抗体軽鎖のアロタイプの1つの定常ドメインのアミノ酸配列と少なくとも95%、特に少なくとも98%同一である。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第1の成分（C1q）を含む、宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介し得る。抗体は、例えば、ヒト化抗体、ヒト抗体またはキメラ抗体であり得る。

10

【0023】

抗体の抗原結合部分は、通常、抗原に特異的に結合する能力を保持する抗体の全長または1または複数の断片を指す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体の断片によって行うことができることが示されている。抗体の結合断片の例としては、VL、VH、CLおよびCH1ドメインからなる一価の断片であるFab断片；ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結されており、その各々が同じ抗原に結合する2つのFab断片を含む二価の断片であるF(ab)₂断片；VHおよびCH1ドメインからなるFd断片；抗体の単一アームのVLおよびVHドメインからなるFv断片；およびVHドメインからなるdAb断片が挙げられる。

20

【0024】

抗体の「Fab部分」は、特に、重鎖可変領域および軽鎖可変領域（VHおよびVL）ならびに重鎖定常領域および軽鎖定常領域の第1のドメイン（CH1およびCL）を含む抗体の一部を指す。抗体がこれらの領域のすべてを含まない場合、用語「Fab部分」は、抗体中に存在するVH、VL、CH1およびCLの領域のみを指す。好ましくは、「Fab部分」は、抗体の抗原結合活性を含有するパピンで天然抗体を消化することによって得られる断片に対応する抗体の部分指す。特に、抗体のFab部分は、その抗原結合部位または抗原結合能を包含する。好ましくは、Fab部分は、少なくとも抗体のVH領域を含む。

30

【0025】

抗体の「Fc部分」は、特に、重鎖定常領域2、3と、該当する場合には4（CH2、CH3およびCH4）を含む抗体の一部を指す。特に、Fc部分は、これらの領域の各々のうちの2つを含む。抗体がこれらの領域のすべてを含まない場合、「Fc部分」という用語は、抗体中に存在する領域CH2、CH3およびCH4のもののみを指す。好ましくは、Fc部分は、少なくとも抗体のCH2領域を含む。好ましくは、「Fc部分」は、抗体の抗原結合活性を含有しないパピンで天然抗体を消化することによって得られる断片に対応する抗体の部分指す。特に、抗体のFc部分は、Fc受容体に結合する能力があり、したがって、例えば、Fc受容体結合部位またはFc受容体結合能を含む。

40

【0026】

本発明によれば、「キメラ抗体」という用語は、特に、定常領域がヒト抗体またはヒト抗体コンセンサス配列に由来し、少なくとも1つの可変領域および好ましくは両方の可変領域が非ヒト抗体、例えばマウス抗体などのげっ歯類抗体に由来する抗体を指す。

【0027】

本発明によれば、「ヒト化抗体」という用語は、特に、ヒト定常領域および可変領域を含む非ヒト抗体であって、人体に投与した場合に抗体の免疫原性を低下させるようにアミ

50

ノ酸配列が改変されている非ヒト抗体を指す。ヒト化抗体を構築するための例示的な方法は、CDR移植であり、ここで、非ヒト抗体のCDRまたは特異性決定残基（SDR）は、ヒト由来フレームワーク領域と組み合わせられる。必要に応じて、ヒトフレームワーク領域のいくつかの残基は、例えば抗原結合親和性を増加または回復させるために、親非ヒト抗体の残基に向かって復帰突然変異され得る。他のヒト化方法としては、例えば、リサーフェシング（resurfacing）、超ヒト化（superhumanization）、およびヒトストリング内容最適化（human string content optimization）が挙げられる。リサーフェシング法では、抗体の表面に位置する非ヒトフレームワーク領域の残基のみが、前記位置の対応するヒト抗体配列に存在する残基によって置き換えられる。超ヒト化は、本質的にCDR移植に対応する。しかしながら、CDR移植中は、通常、ヒトフレームワーク領域は非ヒトフレームワーク領域に対するその相同性に基づいて選択されるが、超ヒト化では、ヒトフレームワーク領域が選択される基準はCDRの類似性である。ヒトストリング内容最適化では、非ヒト抗体配列とヒト生殖系列配列との差がスコア化され、次いで、抗体が前記スコアを最小化するように変異される。さらに、ヒト化抗体は、ヒトフレームワーク領域またはヒト抗体の大きなライブラリーを使用して複数の抗体ヒト化候補を作製し、次いでスクリーニング方法によって最も有望な候補を決定する、経験的方法によっても得ることができる。また、上記の合理的なアプローチにより、いくつかのヒト化抗体候補が作製され、次いで、例えばその抗原結合についてスクリーニングすることができる。

10

【0028】

20

本明細書で使用される「ヒト抗体」という用語は、フレームワーク領域とCDR領域の両方がヒト起源の配列に由来する可変領域を有する抗体を含むことを意図している。

【0029】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、特定の実施形態において同じ種類の抗体の集団を指す。特に、抗体の集団のすべての抗体は、抗体を定義するために使用される特徴を示す。特定の実施形態では、抗体の集団中のすべての抗体は、同じアミノ酸配列を有する。抗LYPD3抗体などの特定の種類の抗体への言及は、特に、この種類の抗体の集団を指す。

【0030】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、全長抗体ならびに前記抗体の断片および誘導体を含む。特に抗体の「断片または誘導体」は、前記抗体に由来し、同じ抗原、特に抗体と同じエピトープに結合する能力があるタンパク質または糖タンパク質である。したがって、本明細書中の抗体の断片または誘導体は、一般に、機能的断片または誘導体を指す。特に好ましい実施形態では、抗体の断片または誘導体は、重鎖可変領域を含む。抗体の抗原結合機能は、全長抗体またはその誘導体の断片によって実施することができることが示されている。抗体の断片の例としては、（i）重鎖および軽鎖の各々の可変領域および第1の定常ドメインからなる一価断片である、Fab断片；（ii）ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFab断片を含む二価断片である、F(ab)₂断片；（iii）重鎖の可変領域および第1の定常ドメインCH1からなる、Fd断片；（iv）抗体の単一アームの重鎖および軽鎖可変領域からなる、Fv断片；（v）単一のポリペプチド鎖からなるFv断片である、scFv断片；（vi）互いに共有結合した2つのFv断片からなる（Fv）₂断片；（vii）重鎖可変ドメイン；および（viii）重鎖可変領域と軽鎖可変領域の会合が分子間でのみ起こり、分子内では起こらないように、互いに共有結合した重鎖可変領域と軽鎖可変領域からなる、マルチボディが含まれる。抗体の誘導体は、特に、親抗体と同じ抗原に結合するが、それが由来する親抗体とは異なるアミノ酸配列を有する抗体を含む。これらの抗体断片および誘導体は、当業者に公知の従来技術を使用して得られる。

30

40

【0031】

標的アミノ酸配列が、少なくとも75%、より好ましくは少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも93%、少なくとも95%、少なくとも97%

50

、少なくとも98%または少なくとも99%の参照アミノ酸配列の対応する部分と、その全長にわたって相同性または同一性を共有する場合に、標的アミノ酸配列は、参照アミノ酸配列に「由来する」または「対応する」。「対応する部分」とは、例えば、標的抗体の重鎖可変領域(FRH1)のフレームワーク領域1が、参照抗体の重鎖可変領域のフレームワーク領域1に対応することを意味する。特定の実施形態では、参照アミノ酸配列に「由来する」または「対応する」標的アミノ酸配列は、その全長にわたって、参照アミノ酸配列の対応する部分と100%相同、特に100%同一である。アミノ酸配列またはヌクレオチド配列の「相同性」または「同一性」は、好ましくは、本発明に従って、参照配列の全長にわたって、あるいは、相同性または同一性が定義されている配列に対応する参照配列の対応する部分の全長にわたって決定される。1または複数のアミノ酸配列によって定義されている、親抗体に由来する抗体、例えば、特異的CDR配列または特異的可変領域配列などは、特に、親抗体のそれぞれのアミノ酸配列と少なくとも75%、好ましくは少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも93%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%相同または同一、特に同一であるアミノ酸配列、例えば、CDR配列または可変領域配列などを有する抗体である。特定の実施形態では、親抗体に由来する抗体(すなわち、親抗体の誘導体)は、親抗体と同じCDR配列を含むが、可変領域の残りの配列が異なる。

10

【0032】

本明細書で使用される「抗体」という用語はまた、多価および多重特異性抗体、すなわち、各々が同じエピトープに結合している2を超える結合部位を有する抗体構築物、ならびに、第1のエピトープに結合している1または複数の結合部位、および第2のエピトープに結合している1または複数の結合部位、および必要に応じてさらなるエピトープに結合しているさらなる結合部位を有する抗体構築物も指す。

20

【0033】

「特異的結合」は、好ましくは、抗体などの薬剤が、別の標的への結合と比較して特異的であるエピトープなどの標的に、より強く結合することを意味する。薬剤は、第2の標的に対する解離定数よりも低い解離定数(K_d)で第1の標的に結合する場合、第2の標的と比較して第1の標的により強く結合する。好ましくは、薬剤が特異的に結合する標的に対する解離定数は、薬剤が特異的に結合しない標的に対する解離定数よりも10倍、30倍、100倍を超えて、または500倍を超えて低い。さらに、「特異的結合」という用語は、特に、少なくとも $10^5 M^{-1}$ 、好ましくは少なくとも $10^6 M^{-1}$ 、より好ましくは少なくとも $10^7 M^{-1}$ 、例えば少なくとも $10^8 M^{-1}$ の親和定数 K_a を有する結合パートナー間の結合親和性を示す。特定の抗原に特異的な抗体は、特に、少なくとも $10^5 M^{-1}$ 、好ましくは少なくとも $10^6 M^{-1}$ 、より好ましくは少なくとも $10^7 M^{-1}$ の K_a を有する親和性で前記抗原に結合する能力がある抗体を指す。例えば、「抗LYPD3抗体」という用語は、LYPD3に特異的に結合する抗体を指し、好ましくは、少なくとも $10^5 M^{-1}$ 、好ましくは少なくとも $10^6 M^{-1}$ 、より好ましくは少なくとも $10^7 M^{-1}$ の K_a を有する親和性でLYPD3に結合する能力がある。本明細書で使用される「結合」という用語は、特に特異的結合を指す。

30

【0034】

本明細書で使用される「エピトープ」という用語は、抗体のアミノ酸、特に抗体のCDRのアミノ酸によって直接接触されるか、またはその直接近傍にあり、抗体とその抗原の結合に影響を及ぼす、抗体の抗原上のアミノ酸残基およびグリカン構造を指す。

40

【0035】

本発明に記載の「LYPD3」という用語は、特に、ヒトLYPD3タンパク質、特に成熟ヒトLYPD3タンパク質を指す。本明細書で使用されるLYPD3は、特に、UniProtエントリーO95274に記載のヒトLYPD3タンパク質を指す。LYPD3は、特に、配列番号137の31位~326位のアミノ酸配列、または全長にわたって配列番号137の31位~326位と少なくとも90%、特に少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含み、特にそれからなる。特に、LYPD3は翻訳後修飾されており、

50

Ｏ－グリコシル化、Ｎ－グリコシル化および／またはグリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）アンカーを有し得る。例えば、LYPD3は、配列番号137のSer223、Ser232、Thr247、Thr248、Ser251、Thr252、Thr253、Ser254、Thr256、Thr257、Ser258、Thr259、Ser260、Thr266、Ser267、Thr268、Thr269、Thr276、Ser277、Thr279、Ser289、Thr297、Ser307およびSer309に対応する1または複数の位置にＯ－グリコシル化を有し得る。

【0036】

用語「GalNAc α 1-」は、「Tn」、「Tn抗原」または「Thomsen nouvelle抗原」とも呼ばれ、支持構造、特にタンパク質またはペプチドのセリンまたはトレオニン残基に α -グリコシド結合を介して接着したN-アセチルガラクトサミニル残基からなる単糖構造を指す。

10

【0037】

用語「シアル化GalNAc α 1-」は、「sTn」、「シアル化Tn抗原」または「シアル化Thomsen nouvelle抗原」とも呼ばれ、支持構造、特にタンパク質またはペプチドのセリンまたはトレオニン残基に α -グリコシド結合を介して接着したN-アセチルガラクトサミニル残基からなる二糖構造を指す。この構造に、シアル酸残基が α 2-6結合を介してN-アセチルガラクトサミニル残基に接着し、二糖構造Sia α 2-6GalNAc α 1-となる。

【0038】

20

用語「Gal β 1-3GalNAc α 1-」は、「TF」、「TF抗原」、「T抗原」または「Thomsen Friedenreich抗原」とも呼ばれ、支持構造、特にタンパク質またはペプチドのセリンまたはトレオニン残基に α 1-グリコシド結合を介して接着したN-アセチルガラクトサミニル残基に β 1-3結合を介して接着したガラクトシル残基からなる二糖構造を指す。

【0039】

用語「シアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-」は、「sTF」、「sTF抗原」、「シアル化TF抗原」または「シアル化Thomsen Friedenreich抗原」とも呼ばれ、支持構造、特にタンパク質またはペプチドのセリンまたはトレオニン残基に α 1-グリコシド結合を介して接着したN-アセチルガラクトサミニル残基に β 1-3結合を介して接着したガラクトシル残基からなる三糖または四糖構造を指す。この構造に、シアル酸残基が α 2-3結合を介してガラクトシル残基に接着し、かつ／またはシアル酸残基が α 2-6結合を介してN-アセチルガラクトサミニル残基に接着して、三糖構造Sia α 2-3Gal β 1-3GalNAc α 1-およびGal β 1-3(Sia α 2-6)GalNAc α 1-または四糖構造Sia α 2-6(Sia α 2-3Gal β 1-3)GalNAc α 1-となる。

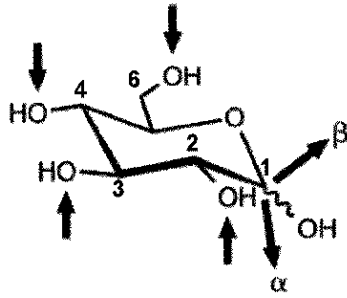
30

【0040】

上記の構造において、Galはガラクトース残基を表し、GalNAcはN-アセチルガラクトサミン残基を表す。「 β 1-3」、「 α 2-3」および「 α 2-6」は、2つの隣接する単糖残基の連結、特に左側の単糖のそれぞれ炭素原子C1またはC2と、右側の単糖のそれぞれ炭素原子C3またはC6との間の連結を示し、この連結は、 α 位または β 位であり得る（グルコースについては以下のスキームに示す）：

40

【化 1】



10

【0041】

「GalNAc α 1-」という用語は、オリゴ糖の還元末端のGalNAc残基が、その炭素原子C1を介して α 配置で支持構造に連結されていることを示す。

【0042】

「シアル酸」という用語は、特に、ノイラミン酸の任意のN-またはO-置換誘導体を指す。これは、5-N-アセチルノイラミン酸(NeuNAc)および5-N-グリコリルノイラミン酸(NeuGc)の両方を指し得るが、好ましくは5-N-アセチルノイラミン酸のみを指す。

【0043】

「グリカン」、「グリカン構造」、「糖質」、「糖鎖」および「糖鎖構造」という用語は、一般に、本明細書中で同義的に使用される。

20

【0044】

「コンジュゲート」では、2またはそれを超える化合物が互いに連結されている。特定の実施形態では、各化合物由来の特性の少なくとも一部は、コンジュゲートに保持される。連結は、共有結合または非共有結合によって達成され得る。好ましくは、コンジュゲートの化合物は共有結合を介して連結されている。コンジュゲートの異なる化合物は、化合物の原子間の1または複数の共有結合を介して互いに直接結合され得る。あるいは、化合物は、リンカーが化合物の原子に共有結合的に接着しているリンカー分子などの化学的部分を介して互いに結合していてもよい。コンジュゲートが3つ以上の化合物から構成される場合、これらの化合物は、例えば、鎖状に連結されていてもよく、1つの化合物が次の化合物に接着していてもよく、またはいくつかの化合物がそれぞれ1つの中心化合物に接着していてもよい。

30

【0045】

「核酸」という用語は、一本鎖核酸、二本鎖核酸およびリボ核酸ならびにデオキシリボ核酸を含む。それは、天然に存在するヌクレオチドならびに合成ヌクレオチドを含んでよく、例えばメチル化、5'-および/または3'-キャッピングによって天然にまたは合成的に修飾され得る。

【0046】

「発現カセット」という用語は、特に、その中に導入されたコード核酸配列の発現を可能にし、調節することができる核酸構築物を指す。発現カセットは、プロモーター、リボソーム結合部位、エンハンサー、および遺伝子の転写またはmRNAの翻訳を調節する他の制御エレメントを含み得る。発現カセットの正確な構造は、種または細胞型に応じて変化し得るが、一般に、転写と翻訳の開始にそれぞれ関与する5'-非転写配列と5'-および3'-非翻訳配列、例えばTATAボックス、キャッピング配列、CAAT配列などを含む。より具体的には、5'-非転写発現制御配列は、作動可能に接続された核酸の転写制御のためのプロモーター配列を含むプロモーター領域を含む。発現カセットはまた、エンハンサー配列または上流アクチベーター配列を含み得る。

40

【0047】

本発明によれば、「プロモーター」という用語は、発現される核酸配列の上流(5')

50

に位置し、RNAポリメラーゼの認識および結合部位を提供することによって配列の発現を制御する核酸配列を指す。「プロモーター」は、遺伝子の転写の調節に関与するさらなる因子のさらなる認識および結合部位を含み得る。プロモーターは、原核生物遺伝子または真核生物遺伝子の転写を制御し得る。さらに、プロモーターは、「誘導性」、すなわち誘導剤に応答して転写を開始する場合もあれば、誘導剤によって転写が制御されない「構成性」の場合もある。誘導性プロモーターの制御下にある遺伝子は、誘導剤が存在しない場合、発現されないか、またはわずかしき発現されない。誘導剤の存在下では、遺伝子はスイッチがオンにされるか、または転写レベルが上昇する。これは、一般に、特定の転写因子の結合によって媒介される。

【0048】

10

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、その最も一般的な意味で使用され、核酸が、例えば、原核細胞および／または真核細胞に導入され、適切な場合にはゲノムに統合されることを可能にする前記核酸のあらゆる中間媒体を含む。この種のベクターは、好ましくは細胞内で複製および／または発現される。ベクターは、プラスミド、ファージミド、バクテリオファージまたはウイルスゲノムを含む。本明細書で使用される「プラスミド」という用語は、一般に、染色体DNAとは独立して複製することができる染色体外遺伝物質、通常は環状DNA二重鎖の構築物に関する。

【0049】

本発明によれば、「宿主細胞」という用語は、外因性核酸で形質転換またはトランスフェクトすることができる任意の細胞に関する。「宿主細胞」という用語は、本発明によれば、原核細胞（例えば、大腸菌）または真核細胞（例えば哺乳動物細胞、特にヒトまたはハムスター細胞、酵母細胞および昆虫細胞）を含む。哺乳動物細胞、例えばヒト、マウス、ハムスター、ブタ、ヤギまたは霊長類からの細胞が特に好ましい。細胞は、多数の組織型に由来し得、初代細胞および細胞株を含む。核酸は、宿主細胞内に単一コピーまたは2またはそれを超えるコピーの形態で存在し得、一実施形態では、宿主細胞内で発現される。

20

【0050】

「患者」という用語は、本発明によれば、ヒト、非ヒト霊長類または別の動物、特に哺乳動物、例えばウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコなど、またはげっ歯類、例えばマウスおよびラットなどを意味する。特に好ましい実施形態では、患者はヒトである。

30

【0051】

本発明に記載の「癌」という用語は、特に白血病、精上皮腫、黒色腫、奇形腫、リンパ腫、神経芽細胞腫、神経膠腫、直腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、副腎癌、甲状腺癌、血液癌、皮膚癌、脳の癌、子宮頸癌、腸癌、肝臓癌、結腸癌、胃癌、腸癌、頭頸部癌、胃腸癌、リンパ節癌、食道癌、結腸直腸癌、膵臓癌、耳鼻咽喉（ENT）癌、膀胱癌、乳癌、前立腺癌、子宮の癌、卵巣癌および肺癌ならびにそれらの転移を含む。本発明に記載の癌という用語は、癌転移も含む。癌という用語はさらに、癌幹細胞、特に上に列挙した特定のタイプの癌の癌幹細胞を指し、かつ／またはそれらを含む。

【0052】

40

「腫瘍」とは、誤って制御された細胞増殖によって形成される細胞または組織の群を意味する。腫瘍は、構造的組織および正常組織との機能的協調の部分的または完全な欠如を示すことがあり、通常、良性または悪性のいずれかであり得る明瞭な組織塊を形成する。

【0053】

「転移」とは、その元の部位から身体別の部分への癌細胞の広がりという意味する。転移の形成は、非常に複雑なプロセスであり、通常、原発腫瘍からの癌細胞の脱離、体循環への進入、および体内の他所の正常組織内で増殖するための定着を伴う。腫瘍細胞が転移すると、新しい腫瘍は二次性腫瘍または転移性腫瘍と呼ばれ、その細胞は通常、元の腫瘍の細胞に類似する。これは、例えば、乳癌が肺に転移した場合、二次性腫瘍が異常な肺細胞ではなく異常な乳房細胞で構成されていることを意味する。その場合、肺の腫瘍は転移性

50

乳癌と呼ばれ、肺癌とは呼ばれない。

【0054】

「医薬組成物」という用語は、特に、ヒトまたは動物に投与するのに適した組成物、すなわち、薬学的に許容され得る成分を含有する組成物を指す。好ましくは、医薬組成物は、活性化化合物またはその塩もしくはプロドラッグを、担体、希釈剤または医薬賦形剤、例えば緩衝剤、保存剤および張度調整剤などとともに含む。

【発明を実施するための形態】

【0055】

発明の詳細な説明

本発明は、腫瘍関連LYPD3に特異的に結合する抗LYPD3抗体の開発に基づく。これらの抗体は、癌細胞によって生成されたO-グリカン構造を担持するLYPD3またはLYPD3断片を使用し、O-グリコシル化依存的な様式でLYPD3に結合する抗体を選択して作製された。正常細胞によって生成されるO-グリコシル化は、癌細胞によって生成されるO-グリコシル化とは大いに異なる。例えば、正常細胞は大きなO-グリカン構造を生成するが、腫瘍細胞上のLYPD3は、単糖、二糖および三糖、例えばGalNAc α 1-(Tn)、シアル化GalNAc α 1-(sTn)、Gal β 1-3GalNAc α 1-(TF)およびシアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-(sTF)などを主に有する。本発明に記載の抗体は、腫瘍関連LYPD3のこれらの小さなO-グリカン構造を認識して結合する。したがって、これらの抗体は、正常組織のLYPD3よりも高い親和性で腫瘍細胞上のLYPD3に結合し、腫瘍関連LYPD3と非腫瘍関連LYPD3とを区別することができる。

【0056】

1. 抗LYPD3抗体

これらの知見に鑑み、本発明は、第1の態様において、LYPD3のセリンまたはトレオニン残基に接着した、GalNAc α 1-、シアル化GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、およびシアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-からなる群より選択されるオリゴ糖構造を含むエピトープにおいて、グリコシル化されたヒトLYPD3に特異的に結合することができる抗体を提供する。好ましくは、抗体は、LYPD3のセリン残基および／またはトレオニン残基に接着している1または複数のGalNAc α 1-および／またはGal β 1-3GalNAc α 1-オリゴ糖構造を含むエピトープにおいて、グリコシル化されたヒトLYPD3に特異的に結合する能力がある。

【0057】

グリコシル化されたヒトLYPD3に特異的に結合することができる抗体は、非グリコシル化されたヒトLYPD3と比較して、より高い結合親和性でグリコシル化されたヒトLYPD3に結合する。特定の実施形態では、グリコシル化されたヒトLYPD3に特異的に結合することができる抗体は、同じグリカン構造を担持する無関係のタンパク質と比較して、より高い結合親和性でグリコシル化されたヒトLYPD3に結合する。本明細書で使用される「より高い結合親和性」という用語は、特に、少なくとも10倍、特に少なくとも25倍、特に少なくとも100倍の解離定数の差を指す。

【0058】

特定の実施形態では、抗体は、LYPD3のセリンおよび／またはトレオニン残基に接着している2つ以上のオリゴ糖構造、例えば2、3または4つのオリゴ糖構造を含むエピトープにおいて、ヒトLYPD3に結合する能力がある。1または複数のこれらのさらなるオリゴ糖構造はまた、GalNAc α 1-、シアル化GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、およびシアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-からなる群から選択され得る。特定の実施形態では、抗体は、それぞれがGalNAc α 1-、シアル化GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、およびシアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-からなる群から選択され、それぞれがLYPD3のセリンまたはトレオニン残基に接着している2つのオリゴ糖構造を含むエピトープでヒトLYPD3に結合する能力がある。特に、抗体は、それぞれがGalNAc α 1-、シアル化Gal

GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、およびシアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-からなる群から選択され、それぞれがLYPD3のセリンまたはトレオニン残基に接着している3つのオリゴ糖構造を含むエピトープにおいて、ヒトLYPD3に結合する能力がある。

【0059】

1または複数のオリゴ糖構造は、特に、LYPD3のC末端Ser/Thr/Proリッチドメインに存在する。特定の実施形態では、オリゴ糖構造の少なくとも1つ、特にすべては、配列番号137の234位~303位の中のセリンまたはトレオニン残基に接着している。特に、オリゴ糖構造の少なくとも1つ、特にすべては、配列番号137の247位~297位の中のセリンまたはトレオニン残基に接着している。

10

【0060】

抗体は、組み合わされたペプチドおよび炭水化物エピトープにおいてヒトLYPD3に結合する能力がある。例えば、エピトープは、配列番号137の234位~303位の中の1または複数のアミノ酸を含む。特に、エピトープは、配列番号137の247位~297位の中の1または複数のアミノ酸を含む。特定の実施形態では、エピトープのアミノ酸の少なくとも25%、特に少なくとも50%、特に少なくとも75%は、配列番号137の234位~303位の中、特に配列番号137の247位~297位の中に存在する。好ましくは、エピトープのすべてのアミノ酸は、配列番号137の234位~303位の中に存在する。

【0061】

この点で「組み合わされたペプチドおよび炭水化物エピトープにおいてヒトLYPD3に結合する能力がある」という用語は、抗体がLYPD3のアミノ酸および1または複数のグリカン構造と直接相互作用するか、またはLYPD3のアミノ酸のみと直接相互作用するか、またはLYPD3の炭水化物鎖のみと直接相互作用することを意味する。すべての場合において、GalNAc α 1-、シアル化GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、およびシアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-からなる群から選択されるオリゴ糖構造が、LYPD3のアミノ酸に接着している場合、非グリコシル化LYPD3と比較して、LYPD3に対する抗体の結合親和性はより高い。抗体がLYPD3のアミノ酸のみと直接相互作用するが炭水化物鎖とは相互作用しない実施形態では、O-グリコシル化LYPD3に対するより高い親和性は、LYPD3に接着したオリゴ糖によって誘導されるポリペプチド鎖の立体構造変化に基づく。

20

30

【0062】

特定の実施形態では、抗体は、腫瘍関連LYPD3に特異的に結合する。抗体は、特に、LYPD3とは無関係の担体分子に接着している、GalNAc α 1-、シアル化GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、およびシアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-からなる群から選択されるオリゴ糖構造と比較して、グリコシル化されたヒトLYPD3により高い結合親和性で結合する。例えば、担体分子は、ポリアクリルアミド(PAA)またはランダムペプチドであり得る。特定の実施形態では、抗体は、正常組織の細胞によって発現されるLYPD3よりも高い結合親和性で腫瘍関連LYPD3に結合する能力がある。

40

【0063】

特定の実施形態では、抗体は、1または複数のGalNAc α 1-、シアル化GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、およびシアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-でグリコシル化されたヒトLYPD3に結合することができる。したがって、抗体は、GalNAc α 1-、シアル化GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、シアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-、またはこれらのグリカン構造の2つまたはすべての任意の混合物でグリコシル化されている場合、LYPD3に結合する。これらの実施形態では、LYPD3は、少なくとも1つの上記グリカン構造も存在している限り、他のグリカン構造も担持し得る。特に、これらの抗体は、1または複数のGalNAc α 1-、シアル化GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、

50

およびシアル化 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ でグリコシル化されたヒト LYPD3 に特異的に結合する。

【0064】

特定の実施形態では、抗体は、 $\text{GalNAc}\alpha 1-$ および $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ のいずれか一方または両方でグリコシル化されたヒト LYPD3 に結合する能力がある。したがって、抗体は、 $\text{GalNAc}\alpha 1-$ 、 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ 、またはこれらの2つのグリカン構造の任意の混合物でグリコシル化されている場合に LYPD3 に結合する。これらの実施形態では、 LYPD3 は、少なくとも1つの上記グリカン構造も存在している限り、他のグリカン構造も担持し得る。特に、これらの抗体は、 $\text{GalNAc}\alpha 1-$ および $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ のいずれか一方または両方でグリコシル化されたヒト LYPD3 に特異的に結合する。

10

【0065】

特定の実施形態では、抗体は、 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ およびシアル化 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ のいずれか一方または両方でグリコシル化されたヒト LYPD3 に結合する能力がある。したがって、抗体は、 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ 、シアル化 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ 、またはこれらの2つのグリカン構造の任意の混合物でグリコシル化されている場合に LYPD3 に結合する。これらの実施形態では、 LYPD3 は、少なくとも1つの上記グリカン構造も存在している限り、他のグリカン構造も担持し得る。特に、これらの抗体は、 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ およびシアル化 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ のいずれか一方または両方でグリコシル化されたヒト LYPD3 に特異的に結合する。

20

【0066】

特定の実施形態では、抗体は、 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ でグリコシル化されたヒト LYPD3 に結合する能力がある。したがって、抗体は、 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ でグリコシル化されている場合に LYPD3 に結合する。これらの実施形態では、 LYPD3 は、 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ も存在するならば、他のグリカン構造も担持することができる。特に、これらの抗体は、 $\text{Gal}\beta 1-3\text{GalNAc}\alpha 1-$ でグリコシル化されたヒト LYPD3 に特異的に結合する。

【0067】

第2の態様では、本発明は、以下を含む抗 LYPD3 抗体を提供する。

30

(i) 配列番号1のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号2のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号3のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号4のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号5のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号6のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(ii) 配列番号9のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号10のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号11のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号12のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号13のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号14のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

40

(iii) 配列番号17のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号18のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号19のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号20のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号21のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号22のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(iv) 配列番号25のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号26のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号27のアミノ酸配

50

10

20

30

40

50

号 93 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 94 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(x i i i) 配列番号 97 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 98 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 99 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 100 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 101 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 102 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(x i v) 配列番号 105 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 106 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 107 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 108 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 109 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 110 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(x v) 配列番号 113 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 114 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 115 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 116 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 117 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 118 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(x v i) 配列番号 121 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 122 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 123 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 124 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 125 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 126 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域；または

(x v i i) 配列番号 129 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-H1、配列番号 130 のアミノ酸配列を有する CDR-H2、および配列番号 131 のアミノ酸配列を有する CDR-H3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 132 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、配列番号 133 のアミノ酸配列を有する CDR-L2、および配列番号 134 のアミノ酸配列を有する CDR-L3 を含む軽鎖可変領域。

【0068】

特定の実施形態では、抗 LYPD3 抗体は、上記の (i) ~ (v i i i) のいずれか 1 つまたは複数の項目に記載の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。好ましい実施形態では、抗 LYPD3 抗体は、上記項目 (i i) に記載の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。好ましい実施形態では、抗 LYPD3 抗体は、上記項目 (v) に記載の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

【0069】

特定の実施形態では、抗 LYPD3 抗体は、合計 6 つの CDR 配列中に 1、2 または 3 個のアミノ酸置換、特に 1 または 2 個、特に 1 個のアミノ酸置換を有し得る。これらの実施形態では、抗 LYPD3 抗体は、前記アミノ酸置換なしで抗体の抗原特異性を保持する。本明細書で使用される「アミノ酸置換」は、アミノ酸の付加およびアミノ酸の欠失も含む。特定の実施形態では、アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。

【0070】

本発明の第 2 の態様に記載の抗体は、特に、第 1 の態様に記載の抗体について定義された 1 または複数の結合活性を示す。特に、第 2 の態様に記載の抗体は、第 1 の態様に記載の抗体である。

【0071】

特定の実施形態では、本発明に記載の抗体は、以下からなる群から選択される重鎖可変

10

20

30

40

50

領域および軽鎖可変領域を含む。

(i) 配列番号7のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号1のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-H1、配列番号2のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号3のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号8のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号4のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-L1、配列番号5のアミノ酸配列を有するCDR-L2および配列番号6のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域、

(ii) 配列番号15のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号9のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号10のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号11のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号16のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号12のアミノ酸配列を有するCDR-L1配列番号13のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および配列番号14のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(iii) 配列番号23のアミノ酸配列その全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号17のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号18のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号19のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号24のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号20のアミノ酸配列を有するCDR-L1配列番号21のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および配列番号22のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(iv) 配列番号31のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号25のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号26のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号27のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号32のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号28のアミノ酸配列を有するCDR-L1配列番号29のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および配列番号30のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(v) 配列番号39のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号33のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号34のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号35のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号40のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号36のアミノ酸配列を有するCDR-L1、配列番号37のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および配列番号38のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(vi) 配列番号47のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号41のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号42のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号43のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号48のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号44のアミノ酸配列を有するCDR-L1、配列番号45のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および配列番号46のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(vii) 配列番号55のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一の

10

20

30

40

50

アミノ酸配列を有し、配列番号４９のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ１、配列番号５０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ２、および配列番号５１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号５６のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも６０％同一のアミノ酸配列を有し、配列番号５２のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号５３のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号５４のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変領域；ならびに

（v i i i）配列番号６３のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも６０％同一のアミノ酸配列を有し、配列番号５７のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ１、配列番号５８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ２、および配列番号５９のアミノ酸配列を有するＣ

10

ＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変領域、ならびに
配列番号６４のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも６０％同一のアミノ酸配列を有し、配列番号６０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号６１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号６２のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変領域。

【００７２】

好ましい実施形態では、抗ＬＹＰＤ３抗体は、上記項目（i i）に記載の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。好ましい実施形態では、抗ＬＹＰＤ３抗体は、上記項目（v）に記載の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。上記の実施形態では、配列同一性は、特に少なくとも７０、好ましくは少なくとも８０％、より好ましくは少なくとも９０％

20

【００７３】

特定の実施形態では、抗ＬＹＰＤ３抗体は、合計６つのＣＤＲ配列中に１、２または３個のアミノ酸置換、特に１または２個、特に１個のアミノ酸置換をさらに有し得る。これらの実施形態では、抗ＬＹＰＤ３抗体は、前記アミノ酸置換なしで抗体の抗原特異性を保持する。

【００７４】

さらなる実施形態では、本発明に記載の抗体は、以下からなる群から選択される重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

30

（i x）配列番号７１のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも９０％同一のアミノ酸配列を有し、配列番号６５のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ１、配列番号６６のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ２、および配列番号６７のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ３を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号７２のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも９０％同一のアミノ酸配列を有し、配列番号６８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号６９のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２、および配列番号７０のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変領域；

（x）配列番号７９のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも９０％同一のアミノ酸配列を有し、配列番号７３のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ１、配列番号７４のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ２、および配列番号７５のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－

40

Ｈ３を含む重鎖可変領域、ならびに
配列番号８０のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも９０％同一のアミノ酸配列を有し、配列番号７６のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ１、配列番号７７のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ２および配列番号７８のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｌ３を含む軽鎖可変領域；

（x i）配列番号８７のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも９０％同一のアミノ酸配列を有し、配列番号８１のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ１、配列番号８２のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－Ｈ２、および配列番号８３のアミノ酸配列を有するＣＤＲ－

50

配列番号 88 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 84 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 85 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2 および配列番号 86 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；

(x i i) 配列番号 95 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 89 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 90 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 91 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 96 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 92 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 93 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2 および配列番号 94 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；

(x i i i) 配列番号 103 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 97 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 98 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 99 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 104 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 100 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 101 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2 および配列番号 102 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；

(x i v) 配列番号 111 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 105 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 106 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 107 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 112 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 108 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 109 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2 および配列番号 110 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；

(x v) 配列番号 119 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 113 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 114 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 115 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 120 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 116 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 117 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2 および配列番号 118 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；

(x v i) 配列番号 127 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 121 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 122 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 123 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 128 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 124 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 125 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2 および配列番号 126 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；ならびに

(x v i i) 配列番号 135 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 129 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 130 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 131 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 136 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 132 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 133 のア

10

20

30

40

50

ミノ酸配列を有するCDR-L2および配列番号134のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域。

【0075】

上記の実施形態では、配列同一性は、特に少なくとも95%であり得る。特定の実施形態では、抗LYPD3抗体は、合計6つのCDR配列中に1、2または3個のアミノ酸置換、特に1または2個、特に1個のアミノ酸置換をさらに有し得る。これらの実施形態では、抗LYPD3抗体は、前記アミノ酸置換なしで抗体の抗原特異性を保持する。

【0076】

特に、本発明に記載の抗体は、以下からなる群から選択される重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む

(i) 配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号8のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(ii) 配列番号15のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号16のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(iii) 配列番号23のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号24のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(iv) 配列番号31のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号32のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(v) 配列番号39のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号40のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(vi) 配列番号47のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号48のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(vii) 配列番号55のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号56のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；および

(viii) 配列番号63のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号64のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域。

【0077】

好ましい実施形態では、抗LYPD3抗体は、上記項目(ii)に記載の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。好ましい実施形態では、抗LYPD3抗体は、上記項目(v)に記載の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。特定の実施形態では、抗体は、上記項目(i)～(viii)に記載の抗体のいずれか1つのヒト化バージョンである。ヒト化バージョンは、特に、元の配列の全長にわたって少なくとも60%、特に少なくとも70%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%のそれぞれの上記抗体とのアミノ酸配列同一性を有する。特定の実施形態では、本発明に記載の抗体は、配列番号15のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号16のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する抗体に由来するか、または配列番号39のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号40のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する抗体に由来するヒト化抗体である。

【0078】

特に、本発明に記載の抗体は、以下の群から選択される重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含むヒト化抗体である

(i) 配列番号139のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号144のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(ii) 配列番号140のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号144のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(iii) 配列番号141のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号144のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(iv) 配列番号142のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号144のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(v) 配列番号142のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号143のア

10

20

30

40

50

ミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(v i) 配列番号142のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号145のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(v i i) 配列番号142のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号146のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(v i i i) 配列番号138のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号145のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；ならびに

(i x) 配列番号140のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号145のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域。

【0079】

本発明に記載の抗体はまた、以下からなる群から選択される重鎖可変領域および軽鎖可変領域も含み得る

(i x) 配列番号71のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号72のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x) 配列番号79のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号80のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x i) 配列番号87のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号88のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x i i) 配列番号95のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号96のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x i i i) 配列番号103のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号104のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x i v) 配列番号111のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号112のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x v) 配列番号119のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号120のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x v i) 配列番号127のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号128のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；および

(x v i i) 配列番号135のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号136のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域。

【0080】

重鎖および／または軽鎖可変領域が、配列番号7、8、15、16、23、24、31、32、39、40、47、48、55、56、63、64、71、72、79、80、87、88、95、96、103、104、111、112、119、120、127、128、135または136のアミノ酸配列に対して一定の同一性を有するアミノ酸配列を含む実施形態では、前記アミノ酸配列に対する配列の逸脱は、特にフレームワーク領域に位置するが、CDRには位置しない。したがって、これらの実施形態には、重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、本明細書中で定義されるようなそれぞれのCDR配列を含む。

【0081】

特定の実施形態では、抗体は、1または複数のGalNAc α 1-、シアル化GalNAc α 1-、Gal β 1-3GalNAc α 1-、およびシアル化Gal β 1-3GalNAc α 1-でグリコシル化されたヒトLYPD3に結合する能力があり、以下からなる群から選択される重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む

(i) 配列番号1のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-H1、配列番号2のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号3のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、および

配列番号4のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-L1、配列番号5のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および配列番号6のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(i i) 配列番号49のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-H1、配列番号50のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号51のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号52のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-L1、配列番号53のアミノ酸配列を有するCDR-L2および配列番号54のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(i i i) 配列番号7のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号1のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-H1、配列番号2のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号3のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号8のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号4のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-L1、配列番号5のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および配列番号6のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(i v) 配列番号55のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号49のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号50のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号51のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号56のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号52のアミノ酸配列を有するCDR-L1、配列番号53のアミノ酸配列を有するCDR-L2および配列番号54のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(v) 配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号8のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；ならびに

(v i) 配列番号55のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号56のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域。

【0082】

特定の実施形態では、抗体は、GalNAc α 1-およびGal β 1-3GalNAc α 1-のいずれか一方または両方でグリコシル化されたヒトLYPD3に結合する能力があり、以下からなる群から選択される重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む

(i) 配列番号33のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-H1、配列番号34のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号35のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号36のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-L1、配列番号37のアミノ酸配列を有するCDR-L2および配列番号38のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(i i) 配列番号41のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-H1、配列番号42のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号43のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号44のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-L1、配列番号45のアミノ酸配列を有するCDR-L2および配列番号46のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(i i i) 配列番号57のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-H1、配列番号58のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号59のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号60のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-L1、配列番号61のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および配列番号62のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(i v) 配列番号39のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号33のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号34の

10

20

30

40

50

アミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 3 5 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 4 0 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 6 0 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 3 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 3 7 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 3 8 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；

(v) 配列番号 4 7 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 6 0 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 4 1 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 4 2 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 4 3 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 4 8 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 6 0 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 4 4 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 4 5 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 4 6 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；

(v i) 配列番号 6 3 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 6 0 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 5 7 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、配列番号 5 8 のアミノ酸配列を有する C D R - H 2、および配列番号 5 9 のアミノ酸配列を有する C D R - H 3 を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号 6 4 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 6 0 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 6 0 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、配列番号 6 1 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2 および配列番号 6 2 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；

(v i i) 配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(v i i i) 配列番号 1 3 9 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 1 4 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(i x) 配列番号 1 4 0 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 1 4 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x) 配列番号 1 4 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 1 4 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x i) 配列番号 1 4 2 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 1 4 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x i) 配列番号 1 4 2 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 1 4 3 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x i i) 配列番号 1 4 2 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x i i i) 配列番号 1 4 2 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 1 4 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x i v) 配列番号 1 3 8 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x v) 配列番号 1 4 0 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 1 4 5 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

(x v i) 配列番号 4 7 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 4 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；および

(x v i i) 配列番号 6 3 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 6 4 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域。

【 0 0 8 3 】

好ましい実施形態では、抗体は、G a l N A c α 1 - および G a l β 1 - 3 G a l N A c α 1 - のいずれか一方または両方でグリコシル化されたヒト L Y P D 3 に結合する能力があり、上記項目 (i)、(i v)、(v i i) および (v i i i) ~ (x v) のいずれ

10

20

30

40

50

か 1 つに記載の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

【0084】

特定の実施形態では、抗体は、Galβ1-3GalNAcα1-およびシアル化Galβ1-3GalNAcα1-のいずれか一方または両方でグリコシル化されたヒトLYPD3に結合する能力があり、重鎖可変領域および以下からなる群から選択される軽鎖可変領域を含む

(i) 配列番号25のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-H1、配列番号26のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号27のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号28のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-L1、配列番号29のアミノ酸配列を有するCDR-L2および配列番号30のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(ii) 配列番号31のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号25のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号26のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号27のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号32のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号28のアミノ酸配列を有するCDR-L1、配列番号3295のアミノ酸配列を有するCDR-L2および配列番号30のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；ならびに

(iii) 配列番号31のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号32のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域。

【0085】

特定の実施形態では、抗体は、Galβ1-3GalNAcα1-でグリコシル化されたヒトLYPD3に結合する能力があり、以下からなる群から選択される重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む

(i) 配列番号9のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-H1、配列番号10のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号11のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号12のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-L1、配列番号13のアミノ酸配列を有するCDR-L2および配列番号14のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(ii) 配列番号17のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-H1、配列番号18のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号19のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号20のアミノ酸配列を有する相補性決定領域(CDR) CDR-L1、配列番号21のアミノ酸配列を有するCDR-L2および配列番号22のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(iii) 配列番号15のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号9のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号10のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号11のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

配列番号16のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号12のアミノ酸配列を有するCDR-L1配列番号13のアミノ酸配列を有するCDR-L2、および配列番号14のアミノ酸配列を有するCDR-L3を含む軽鎖可変領域；

(iv) 配列番号23のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも60%同一のアミノ酸配列を有し、配列番号17のアミノ酸配列を有するCDR-H1、配列番号18のアミノ酸配列を有するCDR-H2、および配列番号19のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む重鎖可変領域、ならびに

10

20

30

40

50

配列番号 24 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 60 % 同一のアミノ酸配列を有し、配列番号 20 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1 配列番号 21 のアミノ酸配列を有する C D R - L 2、および配列番号 22 のアミノ酸配列を有する C D R - L 3 を含む軽鎖可変領域；

(v) 配列番号 15 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号 16 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；および

(v i) 配列番号 23 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号 24 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域。

【0086】

好ましい実施形態では、抗体は、G a l β 1 - 3 G a l N A c α 1 - でグリコシル化されたヒト L Y P D 3 に結合する能力があり、上記項目 (i)、(i i i) および (v) のいずれか 1 つに記載の重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

【0087】

上記の実施形態では、配列同一性は、特に少なくとも 70 %、好ましくは少なくとも 80 %、より好ましくは少なくとも 90 % であり得る。配列同一性に言及する上記の実施形態では、抗体は、特に、アミノ酸配列の変化が関連するヒト抗体配列のアミノ酸残基に対する置換である、それぞれの抗体のヒト化バージョンである。

【0088】

特定の実施形態では、抗 L Y P D 3 抗体は、合計 6 つの C D R 配列中に 1、2 または 3 個のアミノ酸置換、特に 1 または 2 個、特に 1 個のアミノ酸置換をさらに有し得る。これらの実施形態では、抗 L Y P D 3 抗体は、前記アミノ酸置換なしで抗体の抗原特異性を保持する。

【0089】

特定の実施形態では、抗体は F c 領域を含む。抗体は、特に全抗体であり得る。特に、抗体は、2 つの重鎖および 2 つの軽鎖を含み得る。抗体は、どのアイソタイプであってもよく、特に I g G 型抗体、特に I g G 1、I g G 2 または I g G 4 である。特定の実施形態では、抗体は I g G 1 型抗体である。抗体は、特に、1 または複数のヒト F c 受容体、特に F c γ 受容体 I I I a などのヒト F c γ 受容体に結合することができる。特定の実施形態では、抗 L Y P D 3 抗体は、キメラ、ヒト化またはヒト抗体である。

【0090】

さらなる実施形態では、抗 L Y P D 3 抗体は抗体の断片である。特に、断片は、(i) F a b 断片；(i i) F (a b) ₂ 断片；(i i i) F d 断片；(i v) F v 断片；(v) s c F v 断片；および (v i) (F v) ₂ 断片からなる群から選択される。特定の実施形態では、抗 L Y P D 3 抗体は、F c 領域を含まない。

【0091】

特定の実施形態では、抗 L Y P D 3 抗体は、グリコシル化、特に N -グリコシル化されている。特に、抗体は、重鎖の第 2 の定常ドメイン (C H 2) にグリコシル化部位を有する。抗体は、通常、同一のアミノ酸配列を有する 2 つの重鎖を有する。したがって、抗体は、好ましくは、その 2 つの C H 2 ドメインのそれぞれに 1 つずつ、少なくとも 2 つのグリコシル化部位を有する。このグリコシル化部位は、特に、K a b a t の番号付けに従う重鎖のアミノ酸位置 297 に対応するアミノ酸位置にあり、アミノ酸配列モチーフ A s n X a a S e r / T h r を有する。ここで、X a a はプロリンを除く任意のアミノ酸であり得る。A s n 297 の N 結合型グリコシル化は、哺乳動物 I g G ならびに他の抗体アイソタイプの相同領域において保存されている。可変領域に存在する可能性のある随意の追加のアミノ酸または他の配列修飾により、この保存されたグリコシル化部位の実際の位置は、抗体のアミノ酸配列内で変化する可能性がある。

【0092】

好ましい実施形態では、抗 L Y P D 3 抗体は、N -グリコリルノイラミン酸 (N e u G c) または検出可能な量の N e u G c を含まない。さらに、抗体は、好ましくは、G a l i l i エピトープ (G a l α 1, 3 - G a l 構造) または検出可能な量の G a l i l i エ

10

20

30

40

50

ピトープも含まない。特に、NeuGcおよび／またはGal α 1, 3-Gal構造を担持するグリカンの相対量は、抗体集団中の抗体のFc部分に接着したグリカンの総量の0.1%未満またはさらには0.02%未満である。

【0093】

他の実施形態では、抗LYPD3抗体は、そのCH2ドメインでグリコシル化されていない。これらの実施形態では、抗体のCH2ドメインは、例えば重鎖の297位（または対応する位置）のアスパラギン残基を任意の他のアミノ酸、例えばアラニンまたはグルタミンで置換することによって変異され得る。CH2ドメインでのグリコシル化を欠く抗体は、Fc γ 受容体への結合が減少しており、したがってエフェクター機能が低下している。さらなる実施形態では、抗LYPD3抗体は、Fc受容体結合を減少させる他のまたは追加のアミノ酸置換を有し得、これには、例えば、Leu235Glu（「LE変異」）、Leu234Ala／Leu235Ala（「LALA」変異）、Ser228Pro／Leu235Glu（「SPLE」変異）、Leu234Ala／Leu235Ala／Pro329Gly（「LALA-PG」変異）、およびそれらの組み合わせが含まれる。

【0094】

本発明はさらに、本明細書に記載の抗体、特に本発明の第2の態様に記載の抗体と、LYPD3の結合について競合する抗LYPD3抗体を提供する。特定の実施形態では、競合性抗LYPD3抗体は、以下からなる群から選択される重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む抗体と競合する

（i）配列番号7のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号8のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

（ii）配列番号15のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号16のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

（iii）配列番号23のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号24のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

（iv）配列番号31のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号32のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

（v）配列番号39のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号40のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

（vi）配列番号47のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号48のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；

（vii）配列番号55のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号56のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；および

（viii）配列番号63のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号64のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域。

【0095】

2つの抗体の競合的結合を決定するためのアッセイは、当技術分野で周知である。例えば、この場合、LYPD3が固定化され、第1の抗体が標識され、固定化されたLYPD3に過剰の第2の抗体が添加される、ELISAが使用され得る。洗浄後に固定化LYPD3を含む試料中でラベルが検出され得る場合、競合的結合は観察されなかった。好ましい実施形態では、第2の抗体が標識され、第1の抗体が過剰に添加される対照実験が行われる。あるいは、一方の抗体は固定化されてもよく、LYPD3は標識されてもよく、もう一方の抗体は過剰に添加されてもよい。

【0096】

2. 抗LYPD3抗体の生成

抗LYPD3抗体は、好ましくは、宿主細胞において組換えによって生成される。したがって、特に抗体はモノクローナル抗体である。抗体の生成のために使用される宿主細胞は、抗体の生成に使用され得る任意の宿主細胞であり得る。適切な宿主細胞は、特に真核宿主細胞、特に哺乳動物宿主細胞である。例示的な宿主細胞としては、酵母細胞、例えば

*Pichia pastoris*細胞株、昆虫細胞、例えばSF9およびSF21細胞株、植物細胞、鳥類細胞、例えば、EB66アヒル細胞株など、げっ歯類細胞、例えば、CHO、NS0、SP2/0およびYB2/0細胞株など、およびヒト細胞、例えば、HEK293、PER.C6、CAP、CAP-T、AGE1.HN、Mutz-3およびKG1細胞株などが挙げられる。

【0097】

特定の実施形態では、抗LYPD3抗体は、ヒト細胞株、特にヒト骨髄性白血病細胞株において組換えによって生成される。抗LYPD3抗体の生成に使用され得る好ましいヒト細胞株ならびに適切な生成手順は、国際公開第2008/028686号に記載されている。特定の一実施形態では、抗LYPD3抗体は、NM-H9D8、NM-H9D8-E6およびNM-H9D8-E6Q12からなる群から選択されるヒト骨髄性白血病細胞株での発現によって得られる。これらの細胞株は、Glycotope GmbH, Robert-Rossle-Str. 10, 13125 Berlin (DE) によって、Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ), Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig (DE) において、ブダペスト条約の要件に従ってアクセッション番号DSM ACC2806 (NM-H9D8; 2006年9月15日寄託)、DSM ACC2807 (NM-H9D8-E6; 2006年10月5日寄託) およびDSM ACC2856 (NM-H9D8-E6Q12; 2007年8月8日寄託) で寄託された。NM-H9D8細胞は、高度のシアル化、高度の二等分GlycNAc、高度のガラクトシル化および高度のフコシル化を有するグリコシル化パターンを提供する。NM-H9D8-E6およびNM-H9D8-E6Q12細胞は、フコシル化の程度が非常に低いことを除いて、NM-H9D8細胞のグリコシル化パターンと同様のグリコシル化パターンを提供する。他の適切な細胞株としては、アメリカ培養細胞系統保存機関(ATCC CCL-243)に存在するヒト骨髄性白血病細胞株であるK562、CHO細胞、ならびに上記由来の細胞株が挙げられる。特定の実施形態では、抗LYPD3抗体は、CHO細胞、特にCHO dhfr⁻細胞において組換えによって生成される。

【0098】

3. 抗LYPD3抗体のコンジュゲート

特定の実施形態では、抗LYPD3抗体は、検出可能なマーカーまたは治療活性物質などのさらなる薬剤にコンジュゲートした抗体を含むコンジュゲートとして提供される。抗体は、1または複数のさらなる薬剤にコンジュゲートすることができる。2つ以上のさらなる薬剤がコンジュゲート中に存在する場合、これらのさらなる薬剤は同一であっても異なっていてよく、特にすべて同一である。抗体へのさらなる薬剤のコンジュゲーションは、当技術分野で公知の任意の方法を使用して達成することができる。さらなる薬剤は、特に融合もしくは化学的カップリングによって共有結合的に、または非共有結合的に抗体に接着させてもよい。特定の実施形態では、さらなる薬剤は、特にリンカー部分を介して抗体に共有結合的に接着している。リンカー部分は、さらなる薬剤を抗体に結合させるのに適した任意の化学的実体であり得る。

【0099】

さらなる薬剤は、好ましくは、疾患、特に癌の治療、診断、予後診断および／またはモニタリングに有用である。例えば、さらなる薬剤は、放射性核種、化学療法剤、抗体、二重特異性抗体または抗体断片、特に抗LYPD3抗体とは異なる種および／または異なる特異性のもの、酵素、相互作用ドメイン、検出可能な標識、毒素、細胞溶解成分、免疫調節物質、免疫エフェクター、サイトカイン、ケモカイン、MHCクラスIまたはクラスII抗原、およびリボソームからなる群から選択され得る。

【0100】

特定の実施形態では、さらなる薬剤はポリペプチドまたはタンパク質である。このポリペプチドまたはタンパク質は、特に、抗LYPD3抗体のポリペプチド鎖に融合され得る。特定の実施形態では、ポリペプチドまたはタンパク質であるさらなる薬剤は、抗LYP

D3抗体の抗体軽鎖のC末端に融合される。抗LYPD3抗体が2つの抗体軽鎖を含む実施形態では、ポリペプチドまたはタンパク質であるさらなる薬剤は、2つの抗体軽鎖のそれぞれのC末端に融合され得る。さらなる実施形態では、ポリペプチドまたはタンパク質であるさらなる薬剤は、抗LYPD3抗体の抗体重鎖のC末端に融合される。抗体が2つの抗体重鎖を含む実施形態では、ポリペプチドまたはタンパク質であるさらなる薬剤は、2つの抗体重鎖のそれぞれのC末端に融合され得る。さらなる薬剤は、同一であっても異なっているように、特に同じアミノ酸配列を有する。抗体が1または複数の軽鎖および1または複数の重鎖を含まない実施形態では、例えば抗体が抗体断片である場合には、ポリペプチドまたはタンパク質であるさらなる薬剤は、抗体のポリペプチド鎖のC末端またはN末端に融合され得る。ポリペプチドまたはタンパク質であるそのようなさらなる薬剤の適切な例は、サイトカイン、ケモカイン、抗体、抗原結合断片、酵素、および相互作用ドメインからなる群から選択され得る。

10

【0101】

特定の実施形態では、ポリペプチドまたはタンパク質であるさらなる薬剤は、活性化シグナルを遮断および／または誘発するチェックポイント抗体である。それぞれの標的の例としては、活性化標的としてCD40、CD3、CD137(4-1BB)、OX40、GITR、CD27、CD278(ICOS)、CD154(CD40リガンド)、CD270(HVEM)およびCD258(LIGHT)、阻害標的としてCTLA4、PD1、CD80、CD244、A2AR、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、BTLA、IDO、KIR、LAG3、TIM-3、VISTAおよびホスファチジルセリン、さらにそれらのそれぞれのリガンド、例えば、PDL1などが挙げられる。さらなる実施形態では、ポリペプチドまたはタンパク質であるさらなる薬剤は、腫瘍関連抗原に対して作られた抗癌抗体である。融合パートナーとして使用され得る例示的な適切な腫瘍標的および抗癌抗体は、併用療法に関して以下に記載されている。

20

【0102】

さらなる実施形態では、ポリペプチドまたはタンパク質であるさらなる薬剤は、免疫調節化合物、例えばケモカイン、サイトカインまたは成長因子などである。この点で適切なサイトカインは、インターフェロン、例えばインターフェロン- α 、インターフェロン- β およびインターフェロン- γ など、ならびにインターロイキン、例えばIL-15などが含まれる。適切な増殖因子としては、G-CSFおよびGM-CSFが挙げられる。

30

【0103】

さらなる薬剤にコンジュゲートした抗LYPD3抗体を含むコンジュゲートは、特に、キメラ抗原受容体(CAR)である。そのようなコンジュゲートは、本明細書では抗LYPD3 CARとも呼ばれる。

【0104】

これらの態様では、さらなる薬剤は抗原受容体、特にT細胞受容体もしくはT細胞共受容体、またはその一部および／もしくはキメラである。特に、抗LYPD3抗体は、膜貫通ドメインおよび細胞内T細胞シグナル伝達ドメインに融合され、キメラ抗原受容体(CAR)を形成する。細胞内ドメインは、特に、1または複数のT細胞受容体または共受容体に由来する。必要に応じて、CARは、抗体と膜貫通ドメインとの間にヒンジ領域をさらに含む。

40

【0105】

これらの実施形態では、抗LYPD3抗体は、特に、1つのポリペプチド鎖に重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む単鎖抗体断片、特にscFv断片である。ヒンジ領域は、例えば、免疫グロブリンスーパーファミリーのメンバーのヒンジ領域または膜近位領域に基づくものであってよい。例示的なヒンジ領域としては、IgG、CD8およびCD28に由来するものが挙げられる。膜貫通ドメインは、細胞膜をまたぐ疎水性アルファヘリックスであり得る。それは、例えばCD28に由来する。細胞内T細胞シグナル伝達ドメインは、特に、T細胞受容体の ζ 鎖の細胞質ドメインを含む。さらに、細胞内T細胞シグナル伝達ドメインは、T細胞の共刺激タンパク質のさらなるドメインを含み得る。例示的な

50

さらなるドメインとしては、CD28、CD27、CD134（OX40）、およびCD137（4-1BB）由来のシグナル伝達ドメインが挙げられる。

【0106】

例示的なCARは、N末端からC末端に向かって、(i) scFv断片の形態の抗LYPD3抗体、(ii) CD8に由来する細胞外ヒンジ領域、(iii) CD28に由来する膜貫通ドメイン、(iv) CD28に由来する細胞質シグナル伝達ドメイン、および(v) T細胞受容体 ζ 鎖に由来するシグナル伝達ドメインを含み得る。

【0107】

あるいは、抗LYPD3抗体は、特にscFvなどの一本鎖形式で、T細胞受容体複合体のCD3鎖、特にCD3 ϵ 鎖にN末端融合されて、キメラ抗原受容体を形成することができる。または、抗LYPD3抗体は、特にscFvなどの一本鎖形式で、T細胞またはNK細胞上の天然に存在する受容体または操作された受容体に特異的に結合する能力がある結合ドメインに融合され得る。

10

【0108】

特定の実施形態では、さらなる薬剤は、細胞傷害剤または化学療法剤、特に細胞毒である。さらなる薬剤としてコンジュゲートすることができる化学療法剤の具体例としては、シスプラチンなどのアルキル化剤、代謝拮抗剤、植物アルカロイドおよびテルペノイド、ビンカアルカロイド、ポドフィロトキシン、タキソールなどのタキサン、イリノテカンおよびトポテカンなどのトポイソメラーゼ阻害剤、ドキソルビシンなどの抗悪性腫瘍薬、またはオーリスタチンおよびメイタンシン／メイタンシノイドなどの微小管阻害剤が挙げられる。

20

【0109】

化学療法剤は、特に、V-ATPアーゼ阻害剤、アポトーシス促進剤、Bcl2阻害剤、MCL1阻害剤、HSP90阻害剤、IAP阻害剤、mTor阻害剤、微小管安定剤、微小管不安定剤、オーリスタチン、ドラスタチン、メイタンシン、メイタンシノイド、アマトキシン、メチオニンアミノペプチダーゼ、タンパク質CRM1の核外輸送の阻害剤、DPPIV阻害剤、プロテアソーム阻害剤、ミトコンドリアにおけるホスホリル転移反応の阻害剤、タンパク質合成阻害剤、キナーゼ阻害剤、CDK2阻害剤、CDK9阻害剤、キネシン阻害剤、HDAC阻害剤、トポイソメラーゼI阻害剤、DNA損傷剤、DNAアルキル化剤、DNAインターカレーター、DNA副溝結合剤、DHFR阻害剤、微小管形成の阻害剤、微小管の安定剤、アクチンの安定剤、トポイソメラーゼII阻害剤、白金化合物、リボソーム阻害剤、RNAポリメラーゼII阻害剤および細菌毒素を含む。特定の実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、オーリスタチン、メイタンシノイド、トポイソメラーゼI阻害剤、DNA損傷剤、DNAアルキル化剤およびDNA副溝結合剤からなる群から選択される。

30

【0110】

化学療法剤のいくつかの実施形態では、メイタンシンまたはメイタンシノイドである。コンジュゲーションに有用なメイタンシノイドの具体例としては、メイタンシノール、N²'-デアセチル-N²'-(3-メルカプト-1-オキソプロピル)-メイタンシン(DM1)、N²'-デアセチル-N²'-(4-メルカプト-1-オキソペンチル)-メイタンシン(DM3)、およびN²'-デアセチル-N²'-(4-メチル-4-メルカプト-1-オキソペンチル)-メイタンシン(DM4)が挙げられる。特に、DM1またはDM4は、抗LYPD3抗体に接着している。いくつかの実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、オーリスタチン、特にモノメチルオーリスタチンF(MMAF)、モノメチルオーリスタチンE(MMAE)またはオーリスタチンTである。いくつかの実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、DNA副溝結合剤、特にピロロベンゾジアゼピン(PBD)、ピロロベンゾジアゼピン二量体(PBD二量体)、デュオカルマイシン、デュオカルマイシン-ヒドロキシベンズアミド-アザインドール(DUBA)、seco-デュオカルマイシン-ヒドロキシベンズアミド-アザインドール(seco-DUBA)またはドキソルビシンである。いくつかの実施形態では、抗LYPD

40

50

3 抗体に接着した化学療法剤は、DNAアルキル化剤、特にインドリノベンゾジアゼピンまたはオキサゾリジノベンゾジアゼピンである。いくつかの実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、DNA損傷剤、特にカリケアマイシンである。いくつかの実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、トポイソメラーゼI阻害剤、特にカンプトテシンおよびその誘導体、例えば7-エチル-10-ヒドロキシカンプトテシン(SN-38)、(S)-9-ジメチルアミノメチル-10-ヒドロキシカンプトテシン(トポテカン)、(1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-1, 2, 3, 9, 12, 15ヘキサヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-10H, 13H-ベンゾ[de]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13-ジオン(Exatecan(DX-8951f))およびDXdである。いくつかの態様では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、微小管形成の阻害剤、特にチューブリシン、アンサミトシン、ポドフィロトキシンまたはビンブラスチンである。いくつかの態様では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、微小管の安定剤、特にパクリタキセルまたはエポチロンである。いくつかの実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、アクチンの安定剤、特にファロトキシンである。いくつかの実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、トポイソメラーゼII阻害剤、特にテニポシド、XK469、ラゾキサン、アムサクリン、イダルビシンまたはメバロンである。いくつかの実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、白金化合物、特にシスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、ネダプラチン、四硝酸トリプラチン、フェナントリプラチン、ピコプラチンまたはサトラプラチンである。いくつかの実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、リボソーム阻害剤、特にリシン、サポリン、アブリン、ジフテリア毒素または外毒素Aである。いくつかの実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、RNAポリメラーゼII阻害剤、特にアマトキシン、例えばアマニチンである。いくつかの実施形態では、抗LYPD3抗体に接着した化学療法剤は、細菌毒素、特に炭疽毒素である。適切な抗体薬物コンジュゲートは、欧州特許第16151774.3号およびルクセンブルク特許92659号にも記載されており、これらは本明細書で明示的に参照される。

10

20

30

40

50

【0111】

抗LYPD3抗体にコンジュゲートすることができるさらに適切な毒素は、併用療法に関して以下に記載される。

【0112】

4. 抗LYPD3抗体をコードする核酸

さらなる態様では、本発明は、抗LYPD3抗体をコードする核酸を提供する。前記核酸の核酸配列は、抗体をコードするのに適した任意のヌクレオチド配列を有し得る。しかし、好ましくは、核酸配列は、核酸が発現される宿主細胞または生物の特定のコドン使用、特にヒトコドン使用に少なくとも部分的に適合される。核酸は、二本鎖または一本鎖のDNAまたはRNA、好ましくはcDNAなどの二本鎖DNAまたはmRNAなどの一本鎖RNAであり得る。それは、1つの連続する核酸分子であってもよいし、それぞれが抗体の異なる部分をコードするいくつかの核酸分子で構成されていてもよい。

【0113】

抗LYPD3抗体が軽鎖および重鎖などの2つ以上の異なるアミノ酸鎖から構成されている場合、核酸は、例えば、抗体のアミノ酸鎖の1つをそれぞれコードするいくつかのコード領域を含有する単一の核酸分子であってもよく、好ましくは、別々のアミノ酸鎖を作製するためにIRESエレメントなどの調節エレメントによって分離されていてもよく、あるいは、核酸は、各核酸分子が抗体のアミノ酸鎖の1つをそれぞれコードする1または複数のコード領域を含むいくつかの核酸分子から構成されていてもよい。あるいは、核酸は、2Aペプチドなどの自己切断ペプチド、および／またはフリン認識部位などのプロテアーゼ認識部位を含有するリンカーペプチドによって分離された、重鎖および軽鎖をコードする1つのコード領域を含有する単一の核酸分子であり得る。抗体をコードするコード領域に加えて、核酸は、例えば、他のタンパク質をコードし得るか、1または複数のコー

ド領域の転写および／または翻訳に影響を及ぼし得るか、核酸の安定性またはその他の物理的もしくは化学的特性に影響を及ぼし得るか、または全く機能を有し得ない、さらなる核酸配列または他の修飾も含むことができる。

【0114】

特定の実施形態では、核酸は、ヒト細胞の感染に使用することができるウイルスベクターである。これらのウイルスベクターは、例えば、腫瘍細胞などの疾患細胞にウイルスの感染および／または複製を指示することによって、ヒトの治療に適しており、または、抗LYPD3抗体がキメラ抗原受容体の形態である実施形態ではT細胞を改変してCAR T細胞を得ることができる。

【0115】

さらなる態様では、本発明は、本発明に記載の核酸および前記核酸と作動可能に接続されたプロモーターを含む発現カセットまたはベクターを提供する。さらに、発現カセットまたはベクターは、さらなるエレメント、特に、核酸の転写および／または翻訳、発現カセットまたはベクターの増幅および／または複製、宿主細胞のゲノムへの発現カセットまたはベクターの組み込み、および／または宿主細胞における発現カセットまたはベクターのコピー数に影響を及ぼすおよび／または調節する能力があるエレメントを含むことができる。抗体を発現させるための適切な発現カセット、およびそれぞれの発現カセットを含むベクターは、従来技術において周知であり、したがって、ここではさらなる説明を必要としない。

【0116】

5. 宿主細胞

さらに、本発明は、本発明に記載の核酸、または本発明に記載の発現カセットもしくはベクターを含む宿主細胞を提供する。宿主細胞は、どのような宿主細胞であってもよい。それは、単離された細胞であってもよく、組織に含まれる細胞であってもよい。好ましくは、宿主細胞は、培養細胞、特に初代細胞または樹立細胞株の細胞であり、好ましくは腫瘍由来細胞である。適切な宿主細胞は、特に真核宿主細胞、特に哺乳動物宿主細胞である。例示的な宿主細胞としては、酵母細胞、例えば*Pichia pastoris*細胞株、昆虫細胞、例えばSF9およびSF21細胞株、植物細胞、鳥類細胞、例えば、EB66アヒル細胞株など、げっ歯類細胞、例えば、CHO、NS0、SP2／0およびYB2／0細胞株など、およびヒト細胞、例えば、HEK293、PER.C6、CAP、CAPP-T、AGE1.HN、Mutz-3およびKG1細胞株などが挙げられる。

【0117】

本発明の好ましい実施形態では、宿主細胞は、CHO細胞またはヒト骨髓性白血病細胞に由来する細胞である。好ましくは、それは以下の細胞または細胞株から選択される：K562、KG1、MUTZ-3、CHOまたはそれに由来する細胞もしくは細胞株。宿主細胞は、好ましくは、CHO、NM-H9D8、NM-H9D8-E6、NM-H9D8-E6Q12、および前記宿主細胞のいずれかに由来する細胞または細胞株からなる群から選択される。これらの細胞株およびそれらの特性は、PCT出願国際公開第2008／028686号に詳細に記載されている。特定の実施形態では、宿主細胞は、特定のグリコシル化パターンを有する糖タンパク質、特に抗体の発現に最適化される。好ましくは、本発明に記載の核酸のコード領域および／またはプロモーター、ならびに発現カセットまたはベクターのさらなるエレメントにおけるコドン使用は、使用される宿主細胞のタイプに適合し、より好ましくは、最適化される。好ましくは、抗LYPD3抗体は、上記の宿主細胞または細胞株によって生成される。

【0118】

本発明はさらに、抗LYPD3 CARを担持する宿主細胞を提供する。そのような宿主細胞は、本明細書ではCAR細胞とも呼ばれる。CAR細胞は、特に、抗LYPD3 CARをコードする本発明に記載の核酸、または本発明に記載の発現カセットもしくはベクターを含む。特定の実施形態では、CAR細胞は、例えば、抗LYPD3 CARのための発現カセットを含むベクターを導入することにより、抗LYPD3 CARを発現す

10

20

30

40

50

るように操作される。

【0119】

特定の実施形態では、CAR細胞は、白血球、特にT細胞、NK細胞およびNK T細胞などのリンパ球、またはマクロファージなどの単球である。CAR細胞は、特に初代白血球である。特定の実施形態では、CAR細胞は、初代T細胞、初代NK細胞、初代NK T細胞および初代マクロファージからなる群から選択され、特に初代T細胞である。

【0120】

6. 医薬組成物および治療用途

別の態様では、本発明は、抗LYPD3抗体、核酸、発現カセットもしくはベクター、宿主細胞、またはコンジュゲートを含む組成物を提供する。組成物はまた、2つ以上のこれらの成分を含有し得る。さらに、組成物は、溶媒、希釈剤、および賦形剤からなる群から選択される1または複数のさらなる成分を含み得る。好ましくは、組成物は医薬組成物である。この実施形態では、組成物の成分は、好ましくはすべて薬学的に許容され得る。組成物は、固体または流体の組成物、特に（好ましくは水性の）溶液、エマルジョンまたは懸濁液または凍結乾燥粉末であり得る。

10

【0121】

抗LYPD3抗体もしくはそのコンジュゲートまたはCAR細胞は、特に医学、特に疾患、特に本明細書に記載の疾患、例えば癌および感染症、好ましくは癌の治療、診断、予後診断および／またはモニタリングに有用である。したがって、さらなる態様では、本発明は、医薬に使用するための抗LYPD3抗体、核酸、発現カセットもしくはベクター、宿主細胞、コンジュゲート、または組成物を提供する。好ましくは、医学における使用は、疾患、特にLYPD3に関連する疾患の処置、予後、診断および／またはモニタリングにおける使用である。例示的な疾患としては、異常な細胞増殖に関連する疾患、例えば癌、青年期特発性脊柱側弯症、コレステリルエステル転送タンパク質（CETP）欠乏症、魚眼病、複合高脂血症、シトルリン血症および家族性高コレステロール血症などが挙げられる。

20

【0122】

好ましい実施形態では、疾患は癌である。好ましくは、癌は、頭頸部癌、結腸癌、結腸直腸癌、肝細胞癌、皮膚癌、子宮頸癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、腎癌、食道癌、肺癌および生殖器領域癌からなる群から選択される。癌は、例えば、頭頸部扁平上皮癌、食道癌、乳癌、子宮頸癌、皮膚癌、または肛門部、直腸、口腔、唇、ブッカ・キャビオリス（*bucca caviolis*）、鼻、陰茎、外陰部、喉頭蓋、舌もしくは皮膚の扁平上皮癌であり得る。

30

【0123】

癌はLYPD3陽性であり、特にその細胞表面にLYPD3を担持する癌細胞を含む。特定の実施形態では、抗LYPD3抗体は、別の抗癌治療剤と組み合わせて使用される。前記さらなる治療剤は、任意の既知の抗癌薬であってもよく、特に癌抗原に対する抗体であってもよい。抗LYPD3抗体との併用に適した抗体としては、抗EGFR抗体、例えばセツキシマブ（エルピタックス）、トムゾキシマブ、パニツモマブ（ベクティビックス）およびニモツズマブ（*Theraloc*）など、抗HER2抗体、例えばトラスツズマブ（*Herceptin*）、チミグツズマブおよびベルツズマブなど；抗VEGF抗体、例えばベバシズマブ（アバステン）およびバヌジズマブなど；抗CD52抗体、例えばアレムツズマブ（*Campath*）など；抗CD30抗体、例えばブレンツキシマブ（*Adcetris*）など；抗CD33抗体、例えばゲムツズマブ（マイロターゲット）など；抗CD20抗体、例えば、リツキシマブ（*Rituxan*、*Mabthera*）、トシツモマブ（*Bexxar*）およびイブリツモマブ（*Zevalin*）など；抗CTLA-4抗体、例えばイピリムマブおよびトレメリムマブなど、抗PD1／PD-L1抗体、例えばペムブロリズマブ、ニボルマブ、センプリマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブおよびアベルマブなど、TNFおよびTNFRスーパーファミリーメンバーに対する抗体、例えばウレルマブ、*MEDI6469*、*TRX518*、およびバリルマブ（*variluma*）

40

50

b) など；CSF1R抗体、例えばエマクツズマブなど；抗B7-H3抗体、例えばエノブリツズマブなど；抗LAG3抗体；抗4-1BB抗体；抗ICOS抗体；および抗OX-40抗体が挙げられる。抗LYPD3抗体との併用にさらに適した抗体としては、二重特異性抗体、特に免疫細胞動員二重特異性抗体、例えばブリナツモマブ（CD19およびCD3を標的とする）、オドロネクスタマブ（CD20およびCD3を標的とする）、Regn4018（MUC16およびCD3を標的とする）、Regn4336（PSMAおよびCD3を標的とする）およびRegn7075（EGFRおよびCD28を標的とする）などが挙げられる。

【0124】

抗LYPD3抗体および必要に応じて1または複数のさらなる抗体と併用することができるさらなる抗癌治療剤は、タキサン、例えばパクリタキセル（タキソール）、ドセタキセル（タキソテル）およびSB-T-1214など；シクロホスファミド；ラパチニブ；エルロチニブ；イマチニブ；パゾパニブ；カペシタビン；シタラビン；ビノレルビン；ゲムシタビン；アントラサイクリン、例えばダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、バルルビシンおよびミトキサントロンなど；アロマターゼ阻害剤、例えば、アミノグルテチミド、テストラクトン（Teslac）、アナストロゾール（アリミデックス）、レトロゾール（フェマール）、エキセメスタン（アロマシン）、ボロゾール（Rivizor）、フォルメスタン（Lentaron）、ファドロゾール（アフエマ）、4-ヒドロキシアンドロステジオン、1, 4, 6-アンドロスタトリエン-3, 17-ジオン（ATD）および4-アンドロステン-3, 6, 17-トリオン（6-OXO）など；トポイソメラーゼ阻害剤、例えばイリノテカン、トポテカン、カンプトセシン、ラメラリンD、エトポシド（VP-16）、テニポシド、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ミトキサントロン、アムサクリン、エリプチシン、アウリントリカルボン酸およびHU-331など；白金系化学療法剤、例えばシス-ジアミンジクロロ白金（II）（シスプラチン）、シス-ジアミン（1, 1-シクロブタンジカルボキシラト）白金（II）（カルボプラチン）および〔（1R, 2R）-シクロヘキサン-1, 2-ジアミン〕（エタンジオアト-O, O'）白金（II）（オキサリプラチン）など；代謝拮抗剤、特に葉酸代謝拮抗剤、例えばメトトレキサート、ペメトレキセド、ラルチトレキセドおよびプラトトレキサートなど、ピリミジン類似体、例えば、フルオロウラシル、ゲムシタビン、フロクスウリジン、5-フルオロウラシルおよびテガフル-ウラシルなど、およびプリン類似体；および酵素ポリADPリボースポリメラーゼの阻害剤（PARP阻害剤）、例えばオラパリブ、ルカパリブ、ニラパリブおよびタラゾパリブなどからなる群から選択され得る。抗LYPD3抗体との併用で使用され得るさらに好適な毒素は、抗体にコンジュゲートされ得る薬剤に関して上に記載されている。

【0125】

抗LYPD3抗体による処置は、免疫賦活剤、サイトカイン、ケモカイン、放射線治療、治療用細胞、例えば天然免疫細胞または操作された免疫細胞（CAR-T細胞、TCR-T細胞、CAR-NK細胞、CAR-単球、CAR-NKT細胞など）など、ワクチン、例えばタンパク質、ペプチドまたはRNAワクチンなど、B-Raf阻害剤、例えばベムラフェニブなど、デキサメタゾン、プロテアーゼ阻害剤、例えばボルテゾミブなど、およびレナリドミドとさらに組み合わせることができる。

【0126】

細胞がLYPD3を発現している癌の処置に使用するために、抗体は、上記のようなさらなる薬剤とカップリングさせることができ、そのさらなる薬剤は、好ましくは、細胞傷害性薬剤、例えば放射性核種または細胞毒素などである。例示的な細胞傷害性薬剤は上に記載されている。細胞傷害性薬剤には、活性化時に、例えば体内での光照射または酵素反応によってのみ細胞傷害活性を発現する前駆体化合物も含まれる。上記の1または複数の抗癌治療剤はまた、抗LYPD3抗体にカップリングするためのさらなる薬剤としても使用され得る。さらに、抗体は、患者の免疫応答を活性化その能力、特にADCC（抗体依存性細胞媒介性細胞傷害）および／またはCDC（補体依存性細胞傷害）を活性化す

10

20

30

40

50

る能力を増強するように操作され得る。例えば、これは、抗体の、特にその定常領域のアミノ酸配列および／またはグリコシル化パターンを最適化することによって達成され得る。

【0127】

疾患の診断、予後診断および／またはモニタリングにおける検出剤としての使用のために、抗体は、好ましくは、検出可能なシグナルを生成することができる標識剤にカップリングされる。特に、前記標識剤は、放射性核種、フルオロフォアまたは酵素であり得る。

【図面の簡単な説明】

【0128】

【図1】図1は、TnおよびTF炭水化物抗原の生合成経路ならびにそれらの構造を示す。構造中、四角形はGalNAcを表し、円形はGalを表し、菱形はシアル酸を表す。

【図2】図2は、A) LYPD3-ECDまたはB) ECDのSTPリッチC末端部分(LYPD3-STP-ECD)に対する抗LYPD3抗体の糖依存性標的結合を示す。等モル量の抗原(35 nM)への結合は、5 μg/mlのa-LYPD3 mAbを使用して抗原ELISAで評価された。ELISAプレートへの抗原コーティングを制御するために、a-LYPD3 pAbまたはaMBL Abが使用された。タンパク質を、それぞれのO-グリコシル化パターンを有するトランスフェクトNM-F9細胞(F9、O-glyc.)で発現させ、精製し、脱O-グリコシル化タンパク質を、これらのNM-F9タンパク質の酵素消化によって生成した(F9 de-O-glyc.)。O-グリコシル化欠損CHO細胞から組換え発現および精製されたLYPD3-STP-ECDへの結合も試験した(a glyc.)。高いO.D.シグナルは、抗原と抗体の強い結合を示す。

【図3】図3は、抗LYPD3クローンの異なるグリコシル化LYPD3変異体への結合を示す。等モル量の抗原(35 nM)への結合は、指示された濃度のa-LYPD3 mAbを使用して抗原ELISAで評価された。a-LYPD3 pAbまたはaMBL Abは、コーティング対照として使用され、aTFおよびaTn抗体はグリコシル化対照として使用された。TFおよびTn担持タンパク質は、NM-F9細胞から組換え発現および精製され、脱O-グリコシル化タンパク質はNM-F9由来タンパク質の酵素消化の結果として得られ、Tnタンパク質は、実施例1に記載されるようにNM-F9由来タンパク質の脱ガラクトシル化によって得られた。高いO.D.シグナルは、抗原と抗体の強い結合を示す。

【図4】図4は、ELISAによるグリカン結合について試験した抗LYPD3クローンの分析を示す。10 μg/mlでコーティングされたPAAコンジュゲートグリカンへの結合は、5 μg/mlのa-LYPD3 mAbを使用して抗原ELISAで評価した；aTn、aTFおよびa-sTn mAbは、指示された4つのグリカンのELISAプレートへのコーティングを制するために使用した。高いO.D.シグナルは、抗原と抗体の強い結合を示す。

【図5】図5は、ELISAにおけるNM-F9由来LYPD3-STPに対する抗huLYPD3抗体の結合曲線を示す。抗LYPD3抗体は、LYPD3-STP-ECD標的タンパク質でコーティングされたELISAプレートで滴定された。高いO.D.シグナルは、抗体と抗原の強い結合を示す。

【図6】図6は、a-LYPD3 mAb、aTFおよびaTnと比較した、LYPD3-ECDへの抗LYPD3抗体の糖依存性抗原結合を示す。等モル量の抗原への結合は、a-LYPD3 mAbを使用して抗原ELISAで評価された。タンパク質を、それぞれのO-グリコシル化パターンを有するトランスフェクトNM-F9またはNM-H9D8細胞において発現させ、精製した(NM-F9：主にTF；H9D8：主にsTFおよびTF)。脱シアル化タンパク質は、シアリダーゼ(H9D8、de-sialyl：主にTF)を用いる酵素処置タンパク質によって生成され、脱ガラクトシル化タンパク質は、ガラクトシダーゼ(NM-F9、TN-glyc：主にTn)を用いる処置によって生成された。高いO.D.シグナルは、抗原と抗体の強い結合を示す。

【図 7】図 7 は、aLYPD3 クローンの細胞 O-glyc. および de-O-glyc LYPD3 への結合を示す。異なる LYPD3 発現 (LYPD3-F9 = 高 O-グリコシル化、高 LYPD3 ; NM-F9 = 高 O-グリコシル化、低 LYPD3 ; LYPD3-HEK-O-glyc KO = O-グリコシル化なし、高 LYPD3) を有する細胞株を、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の aLYPD3 クローン、対照 aLYPD3 pAb および mAb および aTF mAb で染色した。染色された細胞のシグナル対ノイズ比が示される：染色された細胞の MFI (蛍光強度の中央値) をアイソタイプ染色された細胞の MFI で割った値。

【図 8】図 8 は、高レベルの O-glyc を発現する LYPD3-F9 細胞上の対照 aLYPD3 mAb と比較した aLYPD3 クローンの滴定を示す。LYPD3。細胞を、異なる濃度の aLYPD3 クローンおよび aLYPD3 mAb 対照で染色し、フルオロフォア結合抗ヒト IgG 二次試薬で検出した。生細胞の MFI が示される。

【図 9】図 9 は、高レベルの O-glyc を発現する LYPD3-F9 細胞上の aLYPD3 クローンの滴定を示す。LYPD3。細胞を、異なる濃度の aLYPD3 クローンで染色し、フルオロフォア結合抗ヒト IgG 二次試薬で検出した。生細胞の MFI が示される。

【図 10】図 10 は、aLYPD3 クローンの正常ヒト上皮乳腺細胞 (HMEC) への結合を示す。健常ドナー由来の HMEC を、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の aLYPD3 クローンおよびフルオロフォア結合抗ヒト IgG 二次試薬で染色した。LYPD3 および TFa の発現は、対照 aLYPD3 pAb および mAb および aTF mAb を使用して確認された。染色された細胞のシグナル対ノイズ比が示される：染色された細胞の MFI (蛍光強度の中央値) をアイソタイプ染色された細胞の MFI で割った値。

【図 11-1】図 11 は、aLYPD3 クローンの、Caov-3 細胞、シアリダーゼ処置ありおよびなしの ZR-75-1 細胞、ならびにシアリダーゼ処置後の MDA-MB-231 細胞への結合を示す。(A) Caov-3 細胞を、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の aLYPD3 クローンおよびフルオロフォア結合抗ヒト IgG 二次試薬で染色した。(B) ZR-75-1 細胞を、シアリダーゼ ($5 \text{mU}/\text{ml}$ で 30 分間) で処置するか、または処置せずに洗浄し、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の aLYPD3 クローンおよびフルオロフォア結合抗ヒト IgG 二次試薬で染色した。(C) MDA-MB-231 細胞を、シアリダーゼで処置し ($5 \text{mU}/\text{ml}$ で 30 分間)、次いで $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の aLYPD3 クローンおよびフルオロフォア結合抗ヒト IgG 二次試薬で染色した。LYPD3 および TFa の発現は、対照 aLYPD3 pAb および mAb および aTF mAb を使用して確認された。染色された細胞のシグナル対ノイズ比が示される：染色された細胞の MFI (蛍光強度の中央値) をアイソタイプ染色された細胞の MFI で割った値。

【図 11-2】同上。

【図 12】図 12 は、aLYPD3 クローン 17B3 が LYPD3-F9 細胞の増殖を阻害する能力を示す。細胞を、様々な濃度の aLYPD3 抗体 17B3 と一定量のプロテイン G-MMAE とともにインキュベートした。増殖を 4 日後に測定した。無関係なヒト IgG1 対照は阻害を示さない。増殖は、発光シグナルに基づいて、抗体を含まない培地対照に対する相対 % で示される。

【図 13-1】図 13 は、選択された抗 LYPD3 クローンの健康な食道組織切片への結合を、aLYPD3 pAb 対照抗体と比較して示している。

【図 13-2】同上。

【図 14】図 14 は、フローサイトメトリーによって決定された、細胞 O-グリカンに対するヒト化 aLYPD3 抗体と細胞 O-glyc. および de-O-glyc LYPD3 の結合を示す。(A) 異なる LYPD3 発現および O-グリコシル化を有する細胞株 (LYPD3-ECD HEK O-glyc KO = O-グリコシル化なし、高 LYPD3 ; 模擬 F9 O-glyc. = TF による高 O-グリコシル化、低 LYPD3 ; LYPD3-ECD F9 = TF による高 O-グリコシル化、高 LYPD3) を、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ のヒト化 aLYPD3 抗体 (21E9-219~21E9-228)、親抗体 (親 21E9)、および LYPD3 に対する対照抗体 (aLYPD3 pAb および aLYPD3

mAb) で染色した。(B) TF O-グリコシル化を有するLYPD3を発現する細胞株NM-F9を、異なる濃度(0.1 μg/mlおよび10 μg/ml)のヒト化抗体で染色した。染色された細胞のシグナル対ノイズ比が示される: 染色された細胞のMFI(蛍光強度の中央値)をアイソタイプ染色された細胞のMFIで割った値。

【図15】図15は、F9細胞におけるO-グリコシル化LYPD3-STP-ECDへのヒト化aLYPD3抗体の結合を示す。等モル量の抗原への結合は、指示された濃度のヒト化aLYPD3 mAbおよび親aLYPD3 mAbを使用して抗原ELISAで評価された。タンパク質を、トランスフェクトNM-F9細胞で発現させ、精製し、TF O-グリコシル化を行った。高いO.D.シグナルは、抗原と抗体の強い結合を示す。

【図16】図16は、ヒト化aLYPD3抗体のグリカン特異的結合を示す。等モル量の抗原への結合は、指示された濃度のaLYPD3 mAbを使用して抗原ELISAで評価された。タンパク質は、それぞれのO-グリコシル化パターンを有するトランスフェクトNM-F9細胞で発現および精製され、未処置(F9 O-glyc.: 主にTF)、脱ガラクトシル化(F9 O-glyc. de-gal.: 主にTn)、または脱グリコシル化(F9 de-O-glyc.: O-グリコシル化なし)とされた。高いO.D.シグナルは、抗原と抗体の強い結合を示す。

【実施例】

【0129】

実施例1: 抗原の作製

腫瘍関連グリコシル化パターンを有するヒトLYPD3に特異的に結合する抗体の最適化された選択のために、ヒトLYPD3の異なるO-グリコシル化変異体を作製した。huLYPD3の細胞外ドメインのC末端部分(aa234~303)は多数のSer/Thr/Pro残基を含有し、したがって高密度のO-グリコシル化部位を含有するため、このhuLYPD3のaa配列を、実施例2に記載の抗体作製アプローチで糖依存性抗LYPD3抗体を生じる可能性の高い抗体作製のための標的構造(「LYPD3-STP」として選択した。

【0130】

異なる細胞株に、huLYPD3細胞外ドメイン(ECD; aa31~303)、特にhuLYPD3のC末端Ser/Thr/Proリッチドメイン(ステップ-ECD; aa234~303)をコードするDNAでトランスフェクトして、可溶性LYPD3-ECDまたはLYPD3-STP-ECDを発現する細胞を作製した。可溶性タンパク質構築物は、アフィニティークロマトグラフィーによる細胞上清からの精製およびLYPD3とは独立した融合部分を介するタンパク質の検出を可能にするために、例えば、タンデム型のStreptag(登録商標)(Twin-Streptag(登録商標)、IBA、ドイツ)、マルトース結合レクチン(本明細書ではMBLと呼ぶ)またはポリヒスチジンタグとの融合タンパク質として組換え発現させた。さらに、異なる細胞株に、完全なヒトLYPD3プロペプチド配列(aa31~346)またはhuLYPD3プロペプチドのC末端Ser/Thr/Proリッチドメイン(aa234~346)をコードするDNAをC末端EGFP融合体とともにトランスフェクトして、細胞表面上に膜結合LYPD3またはLYPD3-STPをそれぞれ発現する細胞を作製した。

【0131】

癌細胞株由来のNM-F9およびNM-H9D8細胞を、腫瘍関連O-グリコシル化パターンを有するヒトLYPD3およびLYPD3-STPタンパク質の発現に使用した。一方、NM-H9D8細胞は、高度のシアル化(主にsTFおよびsTn)を有するLYPD3のグリコシル化を提供し、シアル化欠損NM-F9細胞は、TFおよびより少量のTnを担持するLYPD3を主に生成する。O-グリコシル化欠損(O-glyc KO)CHO(CH-O-delete; GlycoDisplay Aps、コペンハーゲン、デンマーク)またはHEK細胞(HEK GALE/GALEK2 KO、Kerafast, Inc.、米国マサチューセッツ州ボストン)を、O-グリコシル化を伴わないLYPD3変異体の生成に使用した。

10

20

30

40

50

【0132】

Tn-LYPD3-STP-ECDは、コア1 O-グリカン伸長の生成が欠損したHEK細胞(HEK293 cosmc KO、Glycodisplay)で組換え発現されるか、またはNM-F9由来のLYPD3-STP-ECDのβ-ガラクトシダーゼ(GalactEXO、Genovis)で酵素消化されてTF構造からガラクトース残基を除去し、Tn抗原と呼ばれるセリンまたはトレオニンに連結されたGalNAcを結果として生じることによって生成される。

【0133】

O-グリコシル化のない可溶性LYPD3タンパク質は、トランスフェクトO-グリコシル化欠損CHO細胞の上清から直接精製されるか、または酵素消化によってNM-H9D8もしくはNM-F9トランスフェクタントから精製されたタンパク質から生成された。後者は、可溶性シアリダーゼ、O-グリコシダーゼとα-N-アセチルガラクトサミニダーゼ、または固定化β-ガラクトシダーゼとGalNAcase酵素のいずれかをマイクロスピナラムに適用して、シアリ酸(α2-3、α2-6およびα2-8)、コア1のO-グリカン、および糖タンパク質上のGalNAc残基(SialEXO、Oglyzor、GalNAcEXO、GalactEXO、すべてGenovis)を除去して実行された。

【0134】

精製された可溶性タンパク質への抗huLYPD3抗体の結合は、実施例3に記載されるようにELISAアッセイで評価し、一方、異なるグリコシル化膜結合LYPD3への結合は、フローサイトメトリーを使用して分析した。

【0135】

実施例2：抗LYPD3抗体の作製

腫瘍関連グリコシル化パターンを有するhuLYPD3のSTPリッチドメインを特異的に認識するモノクローナル抗体を、ファージディスプレイ技術によって、または動物の免疫化によって作製した。いずれの場合も、実施例1に記載のタンパク質および細胞の形態の癌細胞によって生成されたO-グリカン構造を担持するhuLYPD3は、抗体作製手順の不可欠な部分であった。すべての抗体は、O-グリコシル化依存的な様式でヒトLYPD3に結合するように選択された。

【0136】

HybriFree技術を使用して、精製LYPD3-ECDまたはトランスフェクトNM-F9細胞由来のSTPリッチECD部分(LYPD3-STP-ECD)のいずれかで免疫化し、LYPD3-ECDでブーストしたニワトリおよびウサギの脾細胞からLYPD3特異的抗体を単離した。最終免疫後に、フローサイトメトリー(実施例4に記載の手順と同様)および/またはELISAアッセイ(実施例3に記載の手順と同様)によって評価した血清またはニワトリ卵黄調製物において、抗原特異的抗体応答が確認された動物から、脾臓細胞を単離した。O-グリコシル化LYPD3-STPに対する抗原特異性を有する脾臓B細胞は、最初に、不要なタンパク質結合を示す細胞を枯渇させることによって濃縮された。これは、グリコシル化されていないLYPD3-STP-ECDへの結合および/またはLYPD3配列が存在しない組換え発現タンパク質融合パートナーへの結合、および/またはO-グリコシル化LYPD3-STP-ECDと同様に生成され、これにより同一のタンパク質融合パートナー、ならびに非相同タンパク質配列に結合した類似のグリカン構造を含む無関係な糖タンパク質への結合を含む。この負の選択ステップでは、脾臓細胞を最初に、マイクロタイタープレート上に固定化されている、かつ/またはパニング溶液中に存在するオフターゲットタンパク質とともにインキュベートした。その後、未結合細胞を、O-グリコシル化LYPD3-STP-ECDまたはNM-F9細胞から精製されたLYPD3-ECDタンパク質でコーティングされたプレートに移して、標的特異性で脾臓B細胞を捕捉した。抗体可変ドメインのcDNAを、捕捉した細胞から増幅し、哺乳類発現ベクターにおけるコンビナトリアルヒトIgG1コードライブラリーの構築のために、IgG重鎖と軽鎖のそれぞれ別々の発現カセットを有するプラスミ

ドにクローニングした。得られた抗体ライブラリープールからのプラスミドDNAを、キメラ抗体の一過性の生成のために、CHO細胞にトランスフェクトした。抗体ミニプール細胞培養上清を、標的特異的結合について様々なオンターゲットおよびオフターゲットタンパク質を用いたELISAで試験し、さらに、フローサイトメトリーで、LYPD3トランスフェクトHEK O-glyc KO細胞および／またはLYPD3トランスフェクトF9を、非トランスフェクトNM-F9細胞と比較して試験した。ELISAスクリーニングに使用したタンパク質は、NM-F9細胞で発現させ、精製したO-グリコシル化LYPD3-ECDおよびLYPD3-STP-ECD、ならびに両方ともグリコシル化されていないLYPD3-ECDおよびLYPD3-STP-ECDを含んでいた。O-グリコシル化LYPD3-STPへの特異的結合を示した抗体プールから単一クローンを作製した。抗原特異的単一クローンのVHおよびVLのcDNAを配列決定し、ユニークな配列を有する抗体をCHO細胞において発現させた。単一クローン上清中の抗原特異的抗体の生成を、抗体精製前にELISAおよびフローサイトメトリーによって確認した。

10

【0137】

以下のグリコシル化特異的抗huLYPD3抗体は、ニワトリまたはウサギの免疫化によって得た：

【表A】

16F9	17B3	19B4	19G10	21E9
22A11	25A6	26A4		

20

【0138】

完全ヒト糖特異的抗huLYPD3抗体を、Yumabのナイーブヒト抗体ライブラリー（YUMAB GmbH、Braunschweig、ドイツ）からファージディスプレイ技術によって単離した。簡単に説明すると、O-グリコシル化LYPD3-STPに対する抗原特異性を有するバクテリオファージを、精製タンパク質および細胞に対するその後のパニング反応を組み合わせた異なる戦略を使用して、3ラウンドの抗体選択によってライブラリーから濃縮した。各ステップでは、scFv生成ファージの正の選択は、両方ともNM-F9細胞から生成され、マイクロタイタープレートに固定化されたO-グリコシル化LYPD3-STP-ECDまたはLYPD3-ECDに結合することによって達成された。競合のために、LYPD3配列のない精製され組換え発現されたタンパク質融合パートナーと、O-グリコシル化のないLYPD3-ECDとLYPD3-STP-ECDの両方を、パニング溶液中に存在させ、これらの構造を認識する抗体を枯渇させた。いくつかの戦略では、非トランスフェクトNM-F9細胞に結合するファージを枯渇させた後、LYPD3-STPトランスフェクトNM-F9細胞とともにインキュベートすることによって、第2および／または第3の濃縮ステップが行われた。他の戦略では、LYPD3トランスフェクトNM-F9細胞またはノイラミニダーゼ処置Caov-3細胞（高レベルのLYPD3およびTFaグリカンを発現する卵巢腺癌細胞株）への結合を、トランスフェクトされていないNM-F9結合ファージを枯渇させた後の抗体選択に使用した。可溶性scFv抗体は、各選択戦略の単一クローンから生成され、O-グリコシル化ありおよびなしのLYPD3-ECDおよびLYPD3-STP-ECDタンパク質に対してELISAでスクリーニングされた。ELISAで糖依存性LYPD3結合を有するscFv抗体は、フローサイトメトリーによっても、LYPD3またはLYPD3-STPをトランスフェクトしたNM-F9細胞、ならびにノイラミニダーゼ処置Caov-3細胞への特異的結合について試験された。ELISAおよびLYPD3陽性細胞でO-グリコシル化LYPD3-STPを特異的に認識するクローンのVHおよびVL DNAの配列決定の後、HEK細胞のトランスフェクションのためにユニーク抗体VHおよびVL配列をマウスIgG2a発現ベクターにクローニングした。

30

40

50

【0139】

以下のグリコシル化特異的抗 h u L Y P D 3 抗体は、ヒト抗体のファージディスプレイライブラリーから単離することによって得た：

【表 B】

YU912-B09	YU912-G05	YU912-B06	YU913-B01	YU912-D06
YU912-A03	YU912-C07	YU912-G08	YU912-G07	

【0140】

選択された抗体はすべて、哺乳動物細胞培養上清からプロテイン A アフィニティークロマトグラフィーによって精製された。m A b の純度および完全性は、S D S - P A G E および分析 S E C を用いて確認した。

【0141】

いくつかの実験では、マウス I g G 骨格を有するキメラ抗体の精製のために、抗ヒト L Y P D 3 抗体の V H および V L 配列を、マウス I g G 1 発現ベクターにもクローニングした。同じ V H および V L の組み合わせを有するヒト I g G 1 またはマウス I g G 1 として発現される精製キメラ抗 L Y P D 3 は両方とも、E L I S A およびフローサイトメトリーアッセイで確認されるように、可溶性タンパク質および膜結合タンパク質に対して同様の結合特性を示す。

【0142】

実施例 3：オンターゲット対照およびオフターゲット対照を用いた抗原 E L I S A

抗体を、腫瘍関連グリカンを持する L Y P D 3 への特異的結合について抗原 E L I S A アッセイで分析した。

【0143】

簡単に説明すると、炭水化物-ポリアクリルアミドコンジュゲート（炭水化物 P A A コンジュゲート、G l y c o N Z）にコンジュゲートした異なるグリコシル化および非グリコシル化タンパク質抗原またはグリカンを、96 ウェルプレートに一晚コーティングし、非特異的結合をブロックし、試験抗体試料を添加した。いくつかのアッセイでは、特許出願国際公開第 2011/070088 号に由来する抗体配列（国際公開第 2011/070088 号の配列番号：51 および 52）（「a L Y P D 3 m A b」）の発現後に C H O 細胞上清から精製された、抗 h u L Y P D 3 h u I g G 1 対照モノクローナル A b が使用された。この対照抗 h u L Y P D 3 抗体は、グリコシル化非依存的にヒト L Y P D 3 の細胞外ドメインに結合する。E L I S A プレートへのタンパク質抗原コーティングを制御するために、M B L 融合タンパク質として発現した構築物に抗 h u L Y P D 3 ウサギポリクローナル抗体（R & D S y s t e m s、カタログ番号 A F 5 4 2 8）（「a L Y P D 3 p A b」）または a - M B L 抗体（N o v u s b i o）（「a M B L」）を使用した。特定のグリカン構造を認識する抗体を使用して、コーティングされたタンパク質のグリコシル化を検出した。抗 T F a（「a T F」）抗体クローン H H 8 は、コペンハーゲン大学の C l a u s e n 教授のご厚意により提供いただいた。T n を特異的に認識する抗体（「a T n」）は、S B H S c i e n c e s から購入したか、またはコペンハーゲン大学の C l a u s e n 教授から提供された（クローン 5 F 4）。その後、ペルオキシダーゼコンジュゲート抗 I g G 二次抗体を添加し、続いて 3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン（T M B）基質反応を行った。抗体結合率は、マルチモードマイクロプレートリーダー（P e r k i n E l m e r E n S p i r e 2300 または T e c a n S p a r k）を使用して、450 nm および参照波長として 620 nm または 630 nm での吸光度を測定することにより決定された。

【0144】

作製された a - h u L Y P D 3 抗体の h u L Y P D 3 の S T P リッチドメインへの糖依存性結合は、抗原 E L I S A で評価した（図 2）。すべての抗体は、O-グリコシル化 L

LYPD3-STP-ECDと、LYPD3-STP配列を含むO-グリコシル化LYPD3-ECDタンパク質にも有意な結合を示し、これらの抗体が認識するエピトープがhuLYPD3のaa配列R234~H303に存在することが確認された。酵素的脱O-グリコシル化によって、またはO-グリコシル化欠損細胞からの組換え発現および精製によって達成される、試験されたLYPD3タンパク質上のO-グリコシル化の欠如は、a-LYPD3抗体の結合を抑制する。これは、O-グリコシル化LYPD3エピトープが抗体結合に必要であることを明確に示し、したがって、選択されたすべての抗体についてLYPD3結合の糖依存性を確認する。しかしながら、a-LYPD3対照mAbは、O-グリコシル化とは無関係にLYPD3-ECDを認識することができ、LYPD3-STP-ECD変異体のいずれにも結合することができなかった。したがって、この抗体は、huLYPD3のaa31~233に位置するLYPD3エピトープにグリコシル化非依存的に結合する。

10

【0145】

さらに、抗huLYPD3抗体クローンは、LYPD3 O-グリコシル化のタイプに関して多様な微細な特異性を誘発するようである。このことは、主にsTFおよびいくつかのTFを担持する高度のシアル化を提供する、NM-H9D8から発現および精製されたLYPD3タンパク質の、主にTFを担持するシアリダーゼで処置したNM-H9D8発現LYPD3の、および主にTn-グリコシル化(Tn glyc.)を担持する脱ガラクトシル化LYPD3-STP-ECDの、様々な認識度から明らかである。LYPD3上の異なるO-グリコシル化構造の相対量は、酵素処置ありおよびなしの異なる細胞株で発現したLYPD3について決定された：

20

【表1】

表1-LYPD3上のグリコシル化構造

	% TF	% Tn	% sTF	% sTn
LYPD3 (NM-F9)	96.6	3.4	0	0
LYPD3 (NM-F9, de-gal.)	6.6	93.4	0	0
LYPD3 (NM-H9D8)	38.9	2.0	52.3	6.8
LYPD3 (NM-H9D8, de-sial.)	91.1	8.9	0	0

30

【0146】

分析した抗体は、O-グリコシル化LYPD3に対する強力で高度に特異的な結合を示したが、無関係のO-グリコシル化タンパク質(図3)または純粋な炭水化物抗原(図4)に対する有意な結合は示さなかった。したがって、抗LYPD3抗体クローンの結合もまた、LYPD3タンパク質骨格に特異的に依存する。

【0147】

抗LYPD3抗体を、グリコシル化LYPD3-STP-ECD(NM-F9細胞で発現)に対するそれらの結合親和性に関して比較した。すべての抗LYPD3抗体は、O-グリコシル化LYPD3-STP標的構造への高い親和性での用量依存的結合を示し、EC50値は $4 \times 10^{-10} \sim 4 \times 10^{-11}$ Mの間であった(図5)。

40

【0148】

抗LYPD3クローン17B3および21E9を、TFを担持するLYPD3(NM-F9細胞またはNM-H9D8で発現、シアリダーゼで処置)、主にsTF(シアル化TF)およびいくつかのTFを担持するLYPD3(NM-H9D8細胞で発現)、およびTnを担持するLYPD3(NM-F9細胞で発現、ガラクトシダーゼで処置)に対するそれらの結合親和性に関してさらに比較した。両クローンは、TF-グリコシル化LYPD3に対する強い結合を示したが、21E9は、Tn-グリコシル化LYPD3をさらに認識する(図6)。

【0149】

50

実施例 4：細胞株に発現した O-glyc. および de-O-glyc. LYPD3 への結合

LYPD3 の異なるグリコシル化状態を有する細胞株への aLYPD3 クローンの結合を試験した。LYPD3 を発現し非シアル化 O-グリカンを持する、LYPD3 トランスフェクト NM-F9 (LYPD3-F9)、内因性レベルの LYPD3 を発現する非トランスフェクト NM-F9 (WT 細胞に対応)、および、LYPD3 を発現し O-グリカンを含まない LYPD3 トランスフェクト HEK-O-glyc KO (LYPD3-HEK-O-glyc. KO) を、aLYPD3 クローンで染色し、フルオロフォア結合抗ヒト IgG 二次試薬を介して検出した。LYPD3 および TFa の発現は、対照 aLYPD3 pAb および mAb および aTF mAb を使用して確認された。バックグラウンド染色を決定するために、無関係な hIgG1 対照が含まれていた。DAPI を使用して生細胞と死細胞とを識別した。細胞は、Canto II (BD) フローサイトメーターを使用して分析された。

10

【0150】

結果は、すべての aLYPD3 クローンが、LYPD3-F9 および NM-F9 上の O-グリコシル化 LYPD3 に結合したが、LYPD3-HEK-O-glyc KO 細胞上の非 O-グリコシル化 LYPD3 には結合しなかったことを示した。NM-F9 細胞への結合は、aLYPD3 pAb および mAb による染色に匹敵した (図 7)。

【0151】

実施例 5：LYPD3-F9 細胞上の aLYPD3 クローンの滴定

20

異なる aLYPD3 クローンの結合親和性を比較するために、高レベルの O-glyc. LYPD3 を発現する LYPD3-F9 細胞を異なる濃度の aLYPD3 クローンで染色し、結合した抗体をフルオロフォア結合抗ヒト IgG 二次試薬で検出した。バックグラウンド染色を決定するために、無関係な hIgG1 対照が含まれ、DAPI を使用して生細胞と死細胞を区別した。細胞は、Canto II (BD) フローサイトメーターを使用して分析された。

【0152】

すべての aLYPD3 クローンは、LYPD3-F9 細胞に対する用量依存的な結合を示した (図 8 および 9)。aLYPD3 クローンの結合は、aLYPD3 mAb 対照と同じ範囲であった (図 8)。クローン 16F9、19G10、21E9、22A11 および 25A6 は、クローン 17B3、19B4 および 26A4 の結合親和性よりもわずかに高い、非常に類似した結合親和性を示した (図 9)。

30

【0153】

実施例 6：aLYPD3 クローンは、正常なヒト上皮乳腺細胞に発現する LYPD3 に結合しない

aLYPD3 クローンが主に正常ヒト細胞上に見られる LYPD3 グリコフォームに結合しないことを実証するために、健常ドナー由来のヒト上皮乳腺細胞 (HMEC) を aLYPD3 クローンで染色し、フルオロフォア結合抗ヒト IgG 二次試薬を介して検出した。LYPD3 および TFa の発現は、対照 aLYPD3 pAb および mAb および aTF mAb を使用して確認された。バックグラウンド染色を決定するために、無関係な hIgG1 対照が含まれていた。DAPI を使用して生細胞と死細胞とを識別した。細胞は、Canto II (BD) フローサイトメーターを使用して分析された。

40

【0154】

HMEC は中レベルの LYPD3 を発現したが (LYPD3 陽性率は約 40%)、対照抗体 aLYPD3 pAb および mAb および aTF mAb で決定した場合、TFa はほとんど発現しなかった。いずれの aLYPD3 クローンも、HMEC 上で発現した LYPD3 への結合を示さなかった (図 10)。

【0155】

実施例 7：aLYPD3 クローンの腫瘍細胞株への結合

aLYPD3 クローンの腫瘍細胞株への結合を調べるために、LYPD3 および TFa

50

について様々な発現レベルを有する異なる細胞株を選択した：Caov-3（卵巣腺癌細胞株、LYPD3+）、ZR-75-1（乳癌細胞株、LYPD3+）およびMDA-MB-231（乳腺癌細胞株、LYPD3-）。MDA-MB-231およびZR-75-1をシアリダーゼで処置して、細胞表面からシアル酸を除去した。腫瘍細胞株をaLYPD3クローンで染色し、フルオロフォア結合抗ヒトIgG二次試薬を使用して結合を検出した。LYPD3およびTFaの発現は、対照aLYPD3 pAbおよびaTF mAbを使用して確認された。バックグラウンド染色を決定するために、無関係なhIgG1対照が含まれていた。DAPIを使用して生細胞と死細胞とを識別した。細胞は、Canto II（BD）フローサイトメーターを使用して分析された。

【0156】

試験したすべてのaLYPD3クローンは、高レベルのLYPD3およびTFaを発現する細胞株であるCaov-3に結合した。結合はaLYPD3 pAbと同等であった（図11A）。したがって、ZR-75-1細胞株は、Caov-3と比較してTFaの発現レベルが低いため、シアリダーゼ処置の前後にaLYPD3クローンのZR-75-1への結合を調べて、TFa分子をさらに露出させた。すべてのaLYPD3クローンは、シアリダーゼ処置したZR-75-1に結合した（図11B）。いくつかのaLYPD3クローン（16F9、19G10、25A6および26A4）は、未処置のZR-75-1との結合も示した。aLYPD3クローンはMDA-MB-231細胞に結合せず、これはシアリダーゼ処置後に高レベルのTFaを提示したが、LYPD3を発現しなかった（図11C）。

【0157】

実施例8：プロテインG薬物コンジュゲートaLYPD3抗体を使用した増殖の阻害
細胞傷害性薬物を標的細胞に送達するaLYPD3クローンの可能性を調べるために、プロテインG薬物コンジュゲートアッセイを行った。平底96ウェルプレートに、5000個のLYPD3-F9細胞／ウェルを、指示された試験抗体希釈物ならびに毒素MMAE（プロテインG-MMAE、Levena Biopharma）を予め負荷した一定濃度のプロテインGの存在下で播種した。4日間のインキュベーションの後、CellTiter-Glo（登録商標）Luminescent Cell Viability Assay（Promega）を製造者の説明書に従って使用して細胞生存率を評価し、マイクロプレートリーダーTECAN Infinite F200（Tecan）で分析した。増殖率は、発光シグナルに基づいて抗体を含まない培地対照と比較して計算された。

【0158】

結果は、プロテインG-MMAEにコンジュゲートしたaLYPD3クローン17B3が用量依存的な様式でLYPD3-F9の増殖を阻害し、aLYPD3クローンの効果的な内在化を示していることを実証した（図12）。

【0159】

実施例9：糖特異的抗LYPD3抗体の組織結合

ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片を10μg／mLのaLYPD3クローンで染色し、抗マウス二次抗体または抗ヒト二次抗体にコンジュゲートしたいずれかのHRP標識ポリマーを使用して検出した。それぞれの組織におけるLYPD3のタンパク質レベルを検出するために、市販のポリクローナルaLYPD3抗体が含まれた。

【0160】

癌組織切片の染色は、aLYPD3クローンの、異なる起源の頭頸部扁平上皮癌、食道癌、乳癌、子宮頸癌および皮膚癌への結合を示した。重要なことに、健康な組織に対する反応性は、図13および表2に示されるタンパク質特異的対照aLYPD3 pAbと比較して存在しなかったかまたは低下していた。結論として、aLYPD3クローンは、いくつかの癌組織切片と反応するが、それらの健康な対応物とは反応しないことが見出された。特に、17B3クローンおよび21E9クローンは、肛門領域／直腸、口腔、唇、ブッカ・キャビオリス（bucca cavioris）、鼻、陰茎、外陰部、喉頭蓋、舌

10

20

30

40

50

および皮膚の S C C 癌組織切片と強く相互作用することが示された（データは示さず）。

【表 2】

表 2 - aLYPD3 クローンの健康な組織への結合

	食道	子宮頸部	扁桃腺
aLYPD3 pAb	+	+	+
16F9	+/-	+/-	-
17B3	-	-	-
19B4	-	-	-
19G10	-	-	-
22A11	-	-	-
26A4	-	-	-

10

p A b 対照抗体と比較した健康な組織への a L Y P D 3 クローンの結合が示され、染色強度に従って分類されている：+ 中程度～強い染色、+ / - 弱い染色、- 染色は観察されない。

【0 1 6 1】

特に、1 7 B 3 クローンおよび 2 1 E 9 クローンは、肛門領域／直腸、口腔、唇、ブッカ・キャビオリス（b u c c a c a v i o r i s）、鼻、陰茎、外陰部、喉頭蓋、舌および皮膚の S C C 組織切片と強く相互作用することが示された。

20

【0 1 6 2】

実施例 1 0：抗 h u L Y P D 3 抗体 2 1 E 9 のウサギ重鎖および軽鎖可変領域のヒト化モノクローナル抗 h u L Y P D 3 抗体 2 1 E 9 のウサギ重鎖および軽鎖可変領域をコードする核酸配列（配列番号 3 9 および 4 0）を、ヒト定常 γ 1 領域（C H）およびヒト定常 κ 領域（C L）の配列にそれぞれライゲーションした。

【0 1 6 3】

これらのキメラクローンに基づいて、ヒト化抗体が構築された。この目的のために、ウサギの V H および V L のフレームワーク領域の核酸配列に点変異が導入され、対応するヒトフレームワーク領域を作製した。標的ヒトフレームワーク領域は、生殖系列と成熟抗体フレームワークの両方を含むように、N C B I G e n B a n k エントリー（不完全配列および非ヒト配列を除去するためにクリーンアップ済）から作製されたデータベースから選択された。特に、最も関連するフレームワーク領域が、その全体的な配列類似性とその C D R ループ分類に応じてライブラリーから選択された。得られたすべてのデータを考慮して、親ウサギ抗体のヒト化可変軽鎖および可変重鎖の異なる可変配列のセットを設計した。いくつかの変異体は、重要な位置にウサギ配列に対する逆突然変異を含有する。軽鎖可変領域の 8 つのヒト化変異体は、 κ 鎖ベクターにクローニングされ、重鎖可変領域の 8 つのヒト化変異体は、 γ 1 鎖ベクターにクローニングされた。

30

【0 1 6 4】

得られた重鎖と軽鎖の異なる組み合わせを含む抗体（合計 6 4 個の抗体変異体）を、一過性に発現させ、実施例 3 に従って E L I S A でのその発現および L Y P D 3 結合についてスクリーニングした。以下のヒト化抗体重鎖および軽鎖可変領域を、さらなる分析のために選択した。

40

50

【表 3】

表 3－ヒト化抗体重鎖および軽鎖可変領域

VH	配列番号	VL	配列番号
1	138	1	143
2	139	2	144
3	140	4	145
6	141	8	146
7	142		

10

【0165】

ヒト化VHおよびVL配列の9つの選択された抗体の組み合わせが、CHO細胞での一過性発現によってヒトIgG1／κとして生成され、プロテインAクロマトグラフィーによって精製された。

【表 4】

表 4－試験されたヒト化抗体

抗体生成ロット番号	VH	VL
21E9-219	2	2
21E9-220	3	2
21E9-221	6	2
21E9-222	7	2
21E9-224	7	1
21E9-225	7	4
21E9-226	7	8
21E9-227	1	4
21E9-228	3	4

20

30

【0166】

その結合特異性および親和性を、実施例3および4に記載のELISAアッセイおよびフローサイトメトリーアッセイで分析され、親キメラ抗体と比較された。データは図14、図15および図16に要約される。すべてのヒト化抗体変異体は、TFまたはTnを担持するLYPD3に対して親抗体21E9と同じ結合親和性および特異性を示した。

40

50

【表 5 - 1】

配列表

配列番号	説明	配列
抗体 16F9		
1	CDR-H1	GFSFSSHP
2	CDR-H2	ISGAGSHT
3	CDR-H3	AKGASSGSDSDRWTYDGGIDE
4	CDR-L1	SYV
5	CDR-L2	YN
6	CDR-L3	GNADSSGTII
7	VH aa	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFSFSSHPMMWVRQAPGKGLEFVATISG AGSHTYYGSAVKGRTTISRDNQSTVRLQLNNLRAEDTATYYCAKGASSGSDS DRWTYDGGIDEWGHGTEVIVS
8	VL aa	ALTQPSSVSANPGETIKITCSGGSYYYGWYQQKSPGSAPVTVIYYNDNRPSNI PSRFSGSASGSTHTLTITGVQADDEAVYYCGNADSSGTIIFGAGTTLTV
抗体 17B3		
9	CDR-H1	GIDLSSNA
10	CDR-H2	MSISGNP
11	CDR-H3	AKSIHCTWWYCANVL
12	CDR-L1	QSISSY
13	CDR-L2	SA
14	CDR-L3	QGYDSISGVNYYNF
15	VH aa	QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSSNAISWVRQAPGKLEYIGTMSIS GNPNYASWAKGRFTISRSTTVDLKMTSPTTEDTATYFCAKSIHCTWWYCANV LWGQGTTLVTVS
16	VL aa	ALVMTQTPSSVEAAVGGTVTIKQASQSISSYLAWYQQKLGQPPKLLIYSASI LASGVSSRFKSGSGTEFTLTISDLECAATAATYYCQGYDSISGVNYYNFFGGG TKVVV
抗体 19B4		
17	CDR-H1	GFDFSSHG
18	CDR-H2	ISNTGSFT
19	CDR-H3	ARSSSAGGAADSIDA
20	CDR-L1	GNSYGIYY
21	CDR-L2	SN
22	CDR-L3	GSLDNSSAGI
23	VH aa	AVTLDESGGGLQTPGGALSLVCKASGFDFSSHGMFWVRQAPGKLEYVAEISN TGSFTAYGA AVKGRATISRDDGQSTVRLQLNNLRAEDTGTYCARSSSAGGAA DSIDAWGHGTEVIVS
24	VL aa	ALTQPSSVSANPGETVKITCSGGGNSYGIYYGWCCQKSPGSAPVTVIYSNDK RPSNIPSRFSGSTSGSTSTLTITGVQVEDEAVYYCGSLDNSSAGIFGAGTTLT V
抗体 19G10		
25	CDR-H1	GFTFNND
26	CDR-H2	IGNDGSWT
27	CDR-H3	AKSAGGGGLISYTADYIDA
28	CDR-L1	GN

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

配列 番号	説明	配列
29	CDR-L2	QN
30	CDR-L3	GSEDKTTGYAA
31	VH aa	AVTLDES G G G L Q T P G G A L S L V C K A S G F T F N N Y D M G W V R Q A P G K G L E F V A G I N D G S W T G Y G S A V K G R A T I S R D N G Q S T V R L Q L N N L R A E D T G T Y F C A K S A G G G G L I S Y T A D Y I D A W G H G T E V I V S
32	VL aa	A L T Q P S S V S A N L G G T V K I T C S G G G N Y G W Y Q Q K S P G S A P V T L I Y Q N T N R P S N I P S R F S G S K S G S T A T L T I T G V Q A D D E A V Y Y C G S E D K T T G Y A A F G A G T T L T V
抗体 21E9		
33	CDR-H1	G F D F S N Y Y Y
34	CDR-H2	I A A G S G G Y T
35	CDR-H3	A S S G D Y K G F N L
36	CDR-L1	Q S I S S Y
37	CDR-L2	GA
38	CDR-L3	Q G Y Y Y S F S D I F A
39	VH aa	Q S V E E S G G G L V K P G G T L T L T C T A S G F D F S N Y Y M C W V R Q A P G K G L E W I A C I A A G S G G Y T Y Y A S W A K G R F T I S N T S S T T V T L Q M T S L T A A D T A T W F C A S S G D Y K G F N L W G P G T L V T V S
40	VL aa	A L V M T Q T P A S V E A A V G G T V T I N C Q A S Q S I S S Y L A W Y Q Q K R G Q P P K L L I Y G A S N L A S G V P S R F K G S G S G T E Y T L T I S G V Q C A D A A T Y Y C Q G Y Y Y S F S D I F A F G G G T E V V V
抗体 22A11		
41	CDR-H1	G F T F S D Y S
42	CDR-H2	I H C T G S Y T
43	CDR-H3	A K S A A S G S C T S R S Y I Y T A D T I D A
44	CDR-L1	S S Y
45	CDR-L2	Y N
46	CDR-L3	G A Y D G N T D A G I
47	VH aa	A V T L D E S G G G L Q T P G G A L S L V C K A S G F T F S D Y S M Q W V R Q A P G K G L E W V A G I H C T G S Y T Y Y G P A V K G R V T I S R D N G Q S T V R L Q L N N L R A E D T G T Y Y C A K S A A S G S C T S R S Y I Y T A D T I D A W G H G T E V I V S
48	VL aa	A L T Q P S S V S A N P G E T V K I T C S G S S S Y Y G W Y Q Q K S P G S V P V T L I Y Y N N K R P S D I P S R F S G S T S G S T N T L T I T G V Q A E D E A V Y F C G A Y D G N T D A G I F G A G T T L T V
抗体 25A6		
49	CDR-H1	G F T F S S Y D
50	CDR-H2	I N A D G S N T
51	CDR-H3	A R S F G T G G Y Y H I A I G P G F I D A
52	CDR-L1	S N S G
53	CDR-L2	W N
54	CDR-L3	G N E D S S D P T G A I
55	VH aa	A V T L D E S G G G L Q T P G G A L S L I C K G S G F T F S S Y D M G W M R Q A P G K G L E F V A G I N A D G S N T G Y G P A V K G R A T I S R D N G Q S T V R L Q L N N L R A E D T A T Y Y C A R S F G T G G Y Y H I A I G P G F I D A W G H G T E V I V S
56	VL aa	A L T Q P S S V S A N P G E T V K I T C S G D S N S G Y G W Y Q Q K S P G S A L V T V I Y W N D K R P S N I P S R F S G S T S G S T N T L T I T G V Q A D D E A V Y F C G N E D S S D P T G A I F G A G T T L T V

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

配列番号	説明	配列
抗体 26A4		
57	CDR-H1	GFTFSDYG
58	CDR-H2	ISSSADGSST
59	CDR-H3	AKAAYGSAWNYAIIIDA
60	CDR-L1	SDN
61	CDR-L2	NN
62	CDR-L3	GGYDSSTYAGI
63	VH aa	AVTLDES GGG LQT PGGALSLVCKASGFTFSDYGMGWTRQAPGK GLEYVASISS SADGSSTWYAPAVKGRATISRDNQGSTVRLQLNNLRAEDTATYYCAKAAYGSA WNYAIIIDAWGHGTEVIVS
64	VL aa	ALTQPSSVSANLGGTVEITCSGGSDNYGWFQQKSPGSAPVTVIYNNNNRPSDI PSRFSGSKSGSTGTLTITGVQAEDEAVYFCGGYDSSTYAGIFGAGTTLTV
抗体 YU912-B09		
65	CDR-H1	GFTFSNYA
66	CDR-H2	IRSGGGTT
67	CDR-H3	AKNKAYYDSSGYDY
68	CDR-L1	SSNIGVGVD
69	CDR-L2	GN
70	CDR-L3	QSYDSSLSGVV
71	VH aa	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMTWVRQAPGKGLEWVSAIRG SGGTYYADSVKGRSTISRDN SKNTLYLQMNLSAEDTAVYYCAKNKAYYDSS GYDYWGQGTTVTVS
72	VL aa	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGVGVDVHWYQQLPGTAPKLLIYGN SNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGVVFVGGGT KLTV
抗体 YU912-G05		
73	CDR-H1	GYTFTSYG
74	CDR-H2	ISAYNGNT
75	CDR-H3	ARDGNWRGFDY
76	CDR-L1	SSNIGSNY
77	CDR-L2	RN
78	CDR-L3	AAWDDSLSGSWV
79	VH aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISA YNGNTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDGNWRGFD YWGQGT LVTVS
80	VL aa	QSVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNYVYVYQQLPGTAPKLLIYRNN QRPSGVPDRFSGSKSGASASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGSWVFVGGGT KVTV
抗体 YU912-B06		
81	CDR-H1	GFTFSSYG
82	CDR-H2	ISYDGSNK
83	CDR-H3	ANYYDSSGYLPEYFQH
84	CDR-L1	SSDVGGYNY
85	CDR-L2	DV
86	CDR-L3	SSYTSSSTYWV

10

20

30

40

50

【表 5 - 4】

配列番号	説明	配列
87	VH aa	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCANYDSSGYLPEYFQHWGQGTLVTVS
88	VL aa	QSALTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQHPGKAPKLMIDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSTYVVFGGGT KVTV
抗体 YU913-B01		
89	CDR-H1	GFTFSSYG
90	CDR-H2	IWYDGSNK
91	CDR-H3	ATQHQVTDGEPFDY
92	CDR-L1	SSNIGSNY
93	CDR-L2	RN
94	CDR-L3	AAWDDSLSGPV
95	VH aa	EVQLVQSGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATQHQVTDGE PFDYWGQGTLVTVS
96	VL aa	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRP SGVPDRFSGSGSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGPVFGGGTK LTV
抗体 YU912-D06		
97	CDR-H1	GFTFSSYS
98	CDR-H2	ISSSSSYI
99	CDR-H3	ANWSYGYRAFDY
100	CDR-L1	SSDVGGYNY
101	CDR-L2	DV
102	CDR-L3	SSYTSSSTYVV
103	VH aa	EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISS SSSIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCANWSYGYRAF DYWGQGTLVTVS
104	VL aa	QSAPTQPPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQHPGKAPKLMIDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSTYVVFGGGT KVTV
抗体 YU912-A03		
105	CDR-H1	GFTFSSYS
106	CDR-H2	ISSSSSYI
107	CDR-H3	ASSIAVAGIMGY
108	CDR-L1	QSVSSN
109	CDR-L2	GA
110	CDR-L3	QQYNNWPT
111	VH aa	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISS SSSIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASSIAVAGIM GYWGQGTLVTVS
112	VL aa	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGAST RATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGQGTKLEI
抗体 YU912-C07		
113	CDR-H1	GGTFSSYT

10

20

30

40

50

【表 5 - 5】

配列番号	説明	配列
114	CDR-H2	IIPILGIA
115	CDR-H3	ATDVEMATRV DY
116	CDR-L1	SSNIGSNY
117	CDR-L2	RN
118	CDR-L3	AAWDDSLSGAV
119	VH aa	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYTI SWVRQAPGQGLEWMGRIIP ILGIANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCATDVEMATRV DYWGQGT LTVS
120	VL aa	QSVLTQPPSASGTPGQRVTIPCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNN QRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGAVFGGGTK LTV
抗体 YU912-G08		
121	CDR-H1	GYSFTSYW
122	CDR-H2	IYPGDSDT
123	CDR-H3	ARGDYSSGWYY
124	CDR-L1	SPNVGTNY
125	CDR-L2	GN
126	CDR-L3	ETWDNSLNAYV
127	VH aa	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYP GDS DTRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGDYSSGWY YWGQGT LTVS
128	VL aa	QSVLTQPPSVSAAAGQKVTISCSGSSPNVGTNYVSWYQQLPGTAPKLLILGND RRPSAIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCETWDNSLNAYVFGTGTQ LTV
抗体 YU912-G07		
129	CDR-H1	GYTFSTSG
130	CDR-H2	INGYGSHR
131	CDR-H3	ARDHDWNGFDN
132	CDR-L1	SSNIGSNY
133	CDR-L2	RN
134	CDR-L3	AAWDDSLSGLWV
135	VH aa	QVQLVQSGAEVKEPGASVKV SCKASGYTFSTSGISWVRQAPGQGLEWMGWING YGS HRLFPQNFQGR LTLTDTSTSTAYMEVRS LRSDDTAIYYCARDHDWNGFD NWGQGT LTVS
136	VL aa	SYVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNN QRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGLWVFGGGT KLTV
ヒト LYPD3		
137	hLYPD3	MDPARKAGAQAMIWTAGWLLLLLLLRGGAQALECYSCVQKADDGCSPNKMKT VK CAPGVDVCTEAVGAVETIHGQFSLAVRGCGSLPGKNDRGLDLHGLLAFIQLQ QCAQDRCNAKLNLTSRALDPAGNESAYPPNGVECYSCVGLSREACQGTSPPVV SCYNASDHVYKGCDFGNVTLTAANVTVSLPVRGCVQDEFCTRDGVTGP GFTLS GSCCQGSRCNSDLRNKTYFSRIPPLVRLPPEPTTVASTTSVTTST SAPVRP TSTTKMPAPTSQT PRQGV EHEASRDEEPRLTGGAAGHQDRSNSGQYPAKGGF QQPHNKGCVAPTAGLAALLLAVAAGVLL

10

20

30

40

50

【表 5 - 6】

配列 番号	説明	配列
抗体 21E9 のヒト化バージョン		
138	VH_1 aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFDPSNYYMCWIRQAPGKGLEWVSCIA AGSGGYTTYASWAKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASSGDYKG FNLWGQGT LVTVS
139	VH_2 aa	LVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFDPSNYYMCWIRQAPGKGLEWVSCIA AGSGGYTTYASWAKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVWYCASSGDYKG FNLWGQGT LVTVS
140	VH_3 aa	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPSNYYMCWVRQAPGKGLEWVLCIA AGSGGYTTYASWAKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCASSGDYKG FNLWGQGT LVTVS
141	VH_6 aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPSNYYMCWVRQAPGKGLEWVSCIA AGSGGYTTYASWAKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASSGDYKG FNLWGQGT MVTVS
142	VH_7 aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDPSNYYMCWVRQAPGKGLEWVSCIA AGSGGYTTYASWAKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASSGDYKG FNLWGQGT LVTVS
143	VL_1 aa	EIVMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQSISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASN LASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQGYYSFSDIFAFGGGTK VEI
144	VL_2 aa	DIVMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQSISSYLAWYQQKPGKPPKLLIYGASN LASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQGYYSFSDIFAFGGGTK VEI
145	VL_4 aa	AIRIAQSPSSLSASTGDRVTITCQASQSISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASN LASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQSEDVATYYCQGYYSFSDIFAFGGGTK VEI
146	VL_8 aa	EIVMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQSISSYLAWYQQKPGKPPKLLIYGASN LASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQGYYSFSDIFAFGGGTK LEI

10

20

【0167】

寄託された生物学的材料の同定

細胞株 DSM ACC 2606 は、Nemod Biotherapeutics GmbH & Co. KG, Robert-Rossle-Str. 10, 13125 Berlin (DE) によって、DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Mascheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig (DE) において、以下の表に示された日付に寄託された。この生物学的材料は Nemod Biotherapeutics GmbH & Co. KG から Glycotope GmbH に譲渡されたため、Glycotope 社はこの生物学的材料を参照する権利を有する。

30

【0168】

細胞株 DSM ACC 2806、DSM ACC 2807 および DSM ACC 2856 は、Glycotope GmbH, Robert-Rossle-Str. 10, 13125 Berlin (DE) によって、DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig (DE) において、以下の表に示された日付に寄託された。

40

50

【表 C】

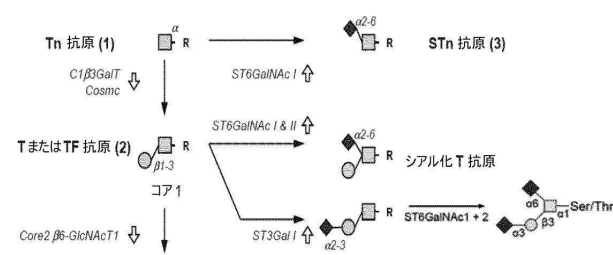
細胞株の名称	アクセッション番号	寄託者	寄託日
NM-F9	DSM ACC 2606	Nemod Biotherapeuticy	2003年8月14日
NM-H9D8	DSM ACC 2806	Glycotope GmbH	2006 年9月15日
NM-H9D8-E6	DSM ACC 2807	Glycotope GmbH	2006 年10月5日
NM-H9D8-E6Q12	DSM ACC 2856	Glycotope GmbH	2007 年8月8日

10

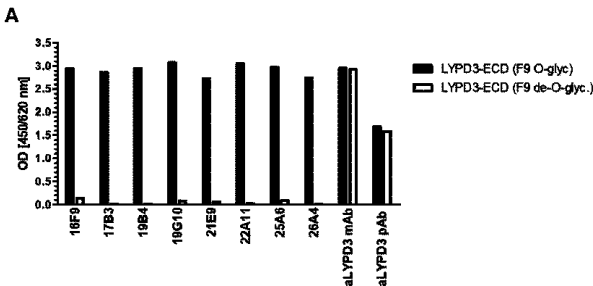
【図面】

【図 1】

Figure 1



【図 2 A】



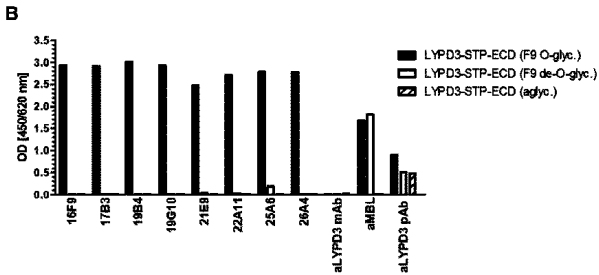
20

30

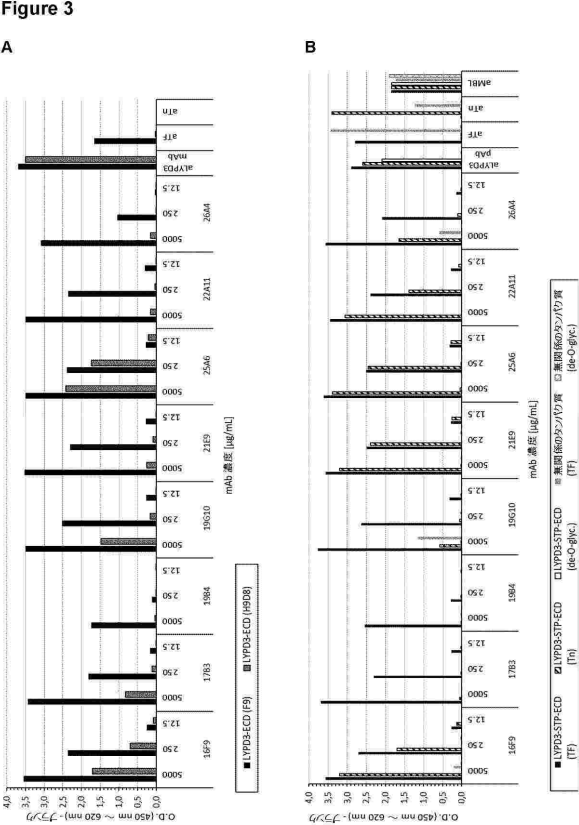
40

50

【図 2 B】

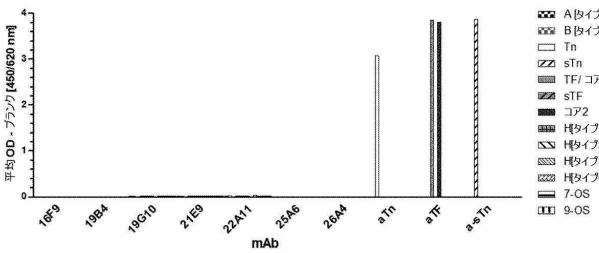


【図 3】



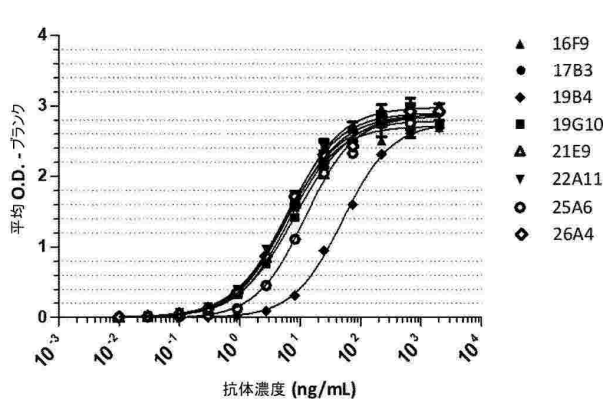
【図 4】

Figure 4



【図 5】

Figure 5



10

20

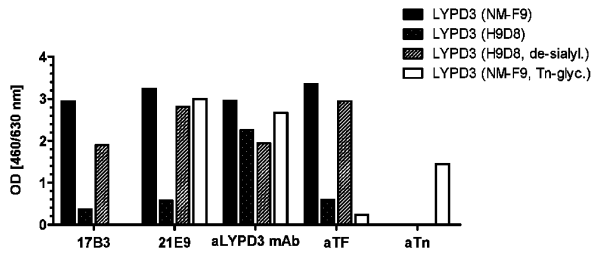
30

40

50

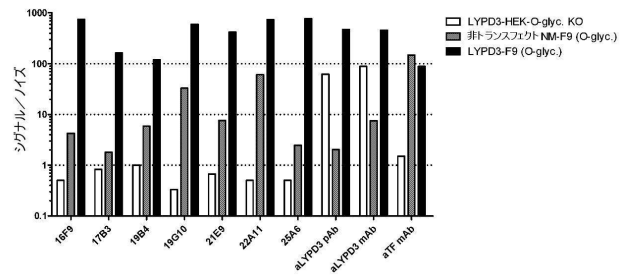
【図 6】

Figure 6



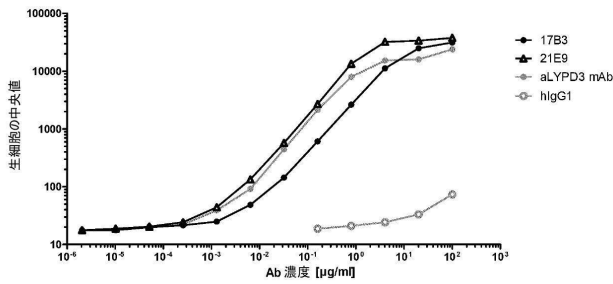
【図 7】

Figure 7



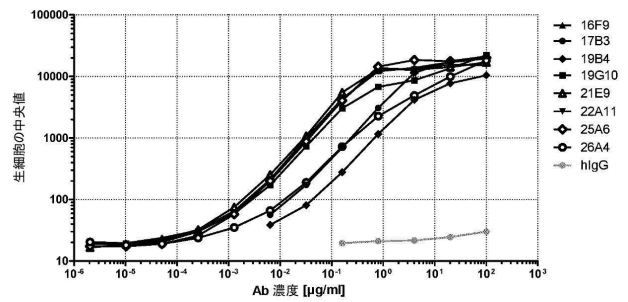
【図 8】

Figure 8



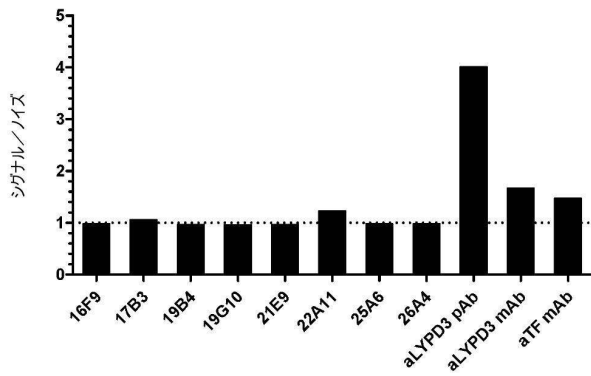
【図 9】

Figure 9



【図 10】

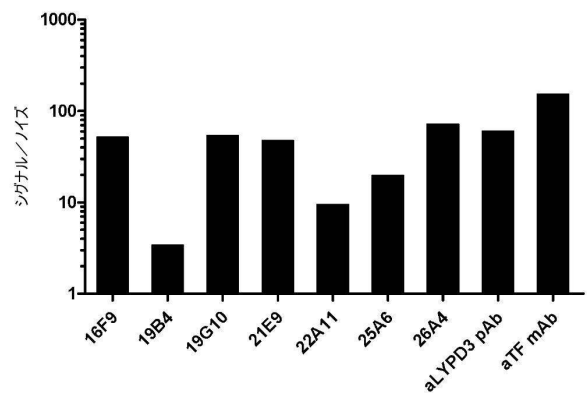
Figure 10



【図 11-1】

Figure 11

A



10

20

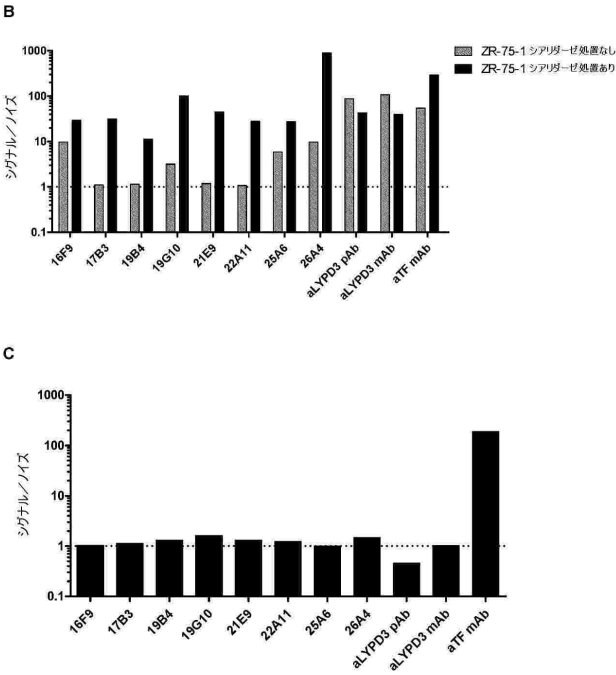
30

40

50

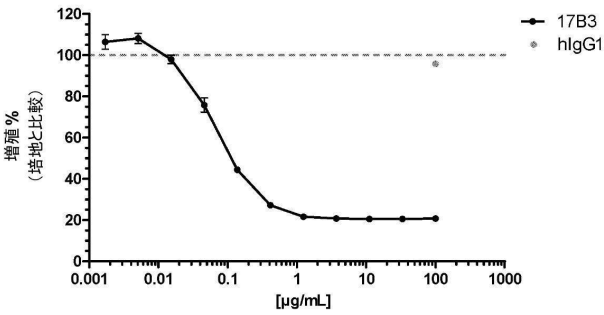
【 図 1 1 - 2 】

Figure 11 - 続き



【 図 1 2 】

Figure 12

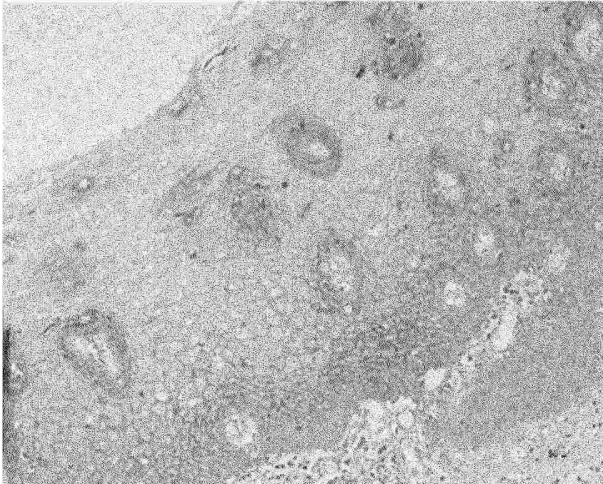


10

【 図 1 3 - 1 】

Figure 13

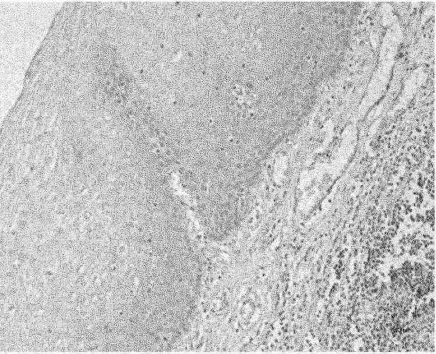
aLYPD3 pAb



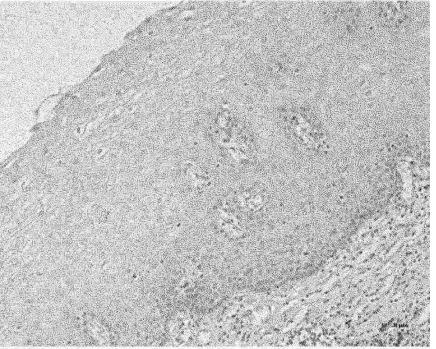
【 図 1 3 - 2 】

Figure 13- 続き

16F9



17B3



30

40

50

【配列表】

2025508042000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/056832

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/30 C07K16/44 A61K47/68 A61P35/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/070088 A1 (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE]; LINDEN LARS [DE] ET AL.) 16 June 2011 (2011-06-16) cited in the application	6, 7
Y	page 4, 1st full paragraph; page 2, line 3 - line 4; examples 1-10, 13-15	1-9, 13-25
X	WO 2016/166169 A1 (SPRING BIOSCIENCE CORP [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]) 20 October 2016 (2016-10-20)	6, 7
Y	page 28, line 11 - line 12; examples 1, 2	1-9, 13-25
X	WO 2016/040321 A1 (UNIV TEXAS [US]) 17 March 2016 (2016-03-17)	6, 7
Y	examples 4-8	1-9, 13-25
----- -/-		
☒ 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 17 May 2023		Date of mailing of the international search report 31/05/2023
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Marinoni J-C

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/056832

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/156280 A1 (VIBA THERAPEUTICS INC [US]) 14 September 2017 (2017-09-14)	6, 7
Y	examples 1-3	1-9, 13-25
X	----- WILLUDA ET AL: "Preclinical Antitumor Efficacy of BAY 1129980: a Novel Auristatin-Based Anti-C4.4A (LYPD3) Antibody-Drug Conjugate for the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 16, no. 5, 14 March 2017 (2017-03-14), pages 893-904, XP055465520, US ISSN: 1535-7163, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0474	6, 7
Y	the whole document	1-9, 13-25
Y	----- LILIANA R. LOUREIRO ET AL: "Preclinical Antitumor Efficacy of BAY 1129980: a Novel Auristatin-Based Anti-C4.4A (LYPD3) Antibody-Drug Conjugate for the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer", SCIENTIFIC REPORTS, vol. 8, no. 1, 15 August 2018 (2018-08-15), XP055567232, DOI: 10.1038/s41598-018-30421-w the whole document	1-25
Y	----- O. BLIXT ET AL: "Analysis of Tn antigenicity with a panel of new IgM and IgG1 monoclonal antibodies raised against leukemic cells", GLYCOBIOLOGY, vol. 22, no. 4, 5 December 2011 (2011-12-05), pages 529-542, XP055532408, US ISSN: 0959-6658, DOI: 10.1093/glycob/cwr178 the whole document	1-25
Y	----- SHOICHI NAITO ET AL: "Generation of Novel Anti-MUC1 Monoclonal Antibodies with Designed Carbohydrate Specificities Using MUC1 Glycopeptide Library", ACS OMEGA, vol. 2, no. 11, 1 November 2017 (2017-11-01), pages 7493-7505, XP055532389, US ISSN: 2470-1343, DOI: 10.1021/acsomega.7b00708 the whole document	1-25
	----- -/--	

1

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

page 2 of 4

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/056832

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JIN YU ET AL: "Induction of Antibodies Directed Against Branched Core O-Mannosyl Glycopeptides-Selectivity Complimentary to the ConA Lectin", CHEMISTRY - A EUROPEAN JOURNAL, JOHN WILEY & SONS, INC, DE, vol. 23, no. 14, 16 February 2017 (2017-02-16), pages 3466-3473, XP071842541, ISSN: 0947-6539, DOI: 10.1002/CHEM.201605627 the whole document -----	1-25
Y	Wohlfartt Paulus ET AL: "Antibodies against Synthetic Peptides Used to Determine the Topology and Site of Glycosylation of the cGMP-gated Channel from Bovine Rod Photoreceptors", THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 5 January 1992 (1992-01-05), pages 644-648, XP093037036, Retrieved from the Internet: URL:https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)48542-0/pdf [retrieved on 2023-04-03] the whole document -----	1-25
Y	TIKHONOV ALEKSEI ET AL: "Glycan-specific antibodies as potential cancer biomarkers: a focus on microarray applications", CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE, vol. 58, no. 10, 22 April 2020 (2020-04-22), pages 1611-1622, XP093037110, DE ISSN: 1434-6621, DOI: 10.1515/cclm-2019-1161 the whole document -----	1-25
A	THURIN MAGDALENA: "Tumor-Associated Glycans as Targets for Immunotherapy: The Wistar Institute Experience/Legacy", MONOCLONAL ANTIBODIES IN IMMUNODIAGNOSIS AND IMMUNOTHERAPY, vol. 40, no. 3, 1 June 2021 (2021-06-01), pages 89-100, XP093037109, DOI: 10.1089/mab.2021.0024 the whole document ----- -/--	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/056832

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PARET C ET AL: "C4.4A as a candidate marker in the diagnosis of colorectal cancer", BRITISH JOURNAL OF CANCER, NATURE PUBLISHING GROUP UK, LONDON, vol. 97, no. 8, 22 October 2007 (2007-10-22), pages 1146-1156, XP002626954, ISSN: 0007-0920, DOI: 10.1038/SJ.BJC.6604012 [retrieved on 2007-10-02] -----	1-25
A	LINE V HANSEN ET AL: "Structural analysis and tissue localization of human C4.4A: a protein homologue of the urokinase receptor", BIOCHEMICAL JOURNAL, PUBLISHED BY PORTLAND PRESS ON BEHALF OF THE BIOCHEMICAL SOCIETY, GB, vol. 380, no. Part 3, 15 June 2004 (2004-06-15), pages 845-857, XP002626955, ISSN: 0264-6021, DOI: 10.1042/BJ20031478 [retrieved on 2004-03-10] -----	1-25
A	JACOBSEN B ET AL: "The Urokinase Receptor and its Structural Homologue C4.4A in Human Cancer: Expression, Prognosis and Pharmacological Inhibition", CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY, BENTHAM, NL, vol. 15, no. 25, 1 October 2008 (2008-10-01), pages 2559-2573, XP002626956, ISSN: 0929-8673, DOI: 10.2174/092986708785909012 -----	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2023/056832

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.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2023/056832

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011070088 A1	16-06-2011	AR 079340 A1	18-01-2012
		AU 2010329904 A1	14-06-2012
		BR 112012013915 A2	10-01-2017
		CA 2783338 A1	16-06-2011
		CN 102812047 A	05-12-2012
		CY 1119051 T1	10-01-2018
		DK 2510012 T3	31-07-2017
		EP 2510012 A1	17-10-2012
		EP 3144323 A2	22-03-2017
		ES 2632748 T3	15-09-2017
		HK 1178920 A1	19-09-2013
		HR P20170973 T1	22-09-2017
		HU E034847 T2	28-03-2018
		IL 219801 A	31-08-2016
		JP 5989544 B2	07-09-2016
		JP 6240696 B2	29-11-2017
		JP 2013513369 A	22-04-2013
		JP 2016104820 A	09-06-2016
		JP 2018019721 A	08-02-2018
		KR 20120116958 A	23-10-2012
		LT 2510012 T	25-07-2017
		NZ 600470 A	27-02-2015
		PL 2510012 T3	29-09-2017
		PT 2510012 T	13-07-2017
		RU 2012128343 A	20-01-2014
		SI 2510012 T1	31-08-2017
		TW 201134485 A	16-10-2011
		US 2012321619 A1	20-12-2012
		US 2017158775 A1	08-06-2017
		WO 2011070088 A1	16-06-2011
		ZA 201203498 B	28-10-2015
WO 2016166169 A1	20-10-2016	AU 2016249839 A1	21-09-2017
		CA 2982536 A1	20-10-2016
		EP 3283522 A1	21-02-2018
		JP 6720208 B2	08-07-2020
		JP 2018515071 A	14-06-2018
		US 2018031566 A1	01-02-2018
		US 2021164985 A1	03-06-2021
WO 2016040321 A1	17-03-2016	WO 2016166169 A1	20-10-2016
		AU 2015315332 A1	30-03-2017
		BR 112017004510 A2	23-01-2018
		CA 2960499 A1	17-03-2016
		CN 107074940 A	18-08-2017
		EP 3191525 A1	19-07-2017
		JP 2017534251 A	24-11-2017
		KR 20170058960 A	29-05-2017
		US 2017283509 A1	05-10-2017
		WO 2016040321 A1	17-03-2016
WO 2017156280 A1	14-09-2017	NONE	

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 3/00 (2006.01)
 A 6 1 P 27/02 (2006.01)
 A 6 1 P 3/06 (2006.01)
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)

C 1 2 N 5/10
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 3/00
 A 6 1 P 27/02
 A 6 1 P 3/06
 A 6 1 K 47/68
 A 6 1 K 39/395

N

,MC,ME,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,C
 O,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,I
 R,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,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
 ,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

ドイツ国 1 3 1 2 5 ベルリン, ロベルトーロスレーシュトラッセ 1 0, グリコトープ ゲー
 エムバーハー 気付

(72)発明者

ダニエルチク, アンチェ

ドイツ国 1 3 1 2 5 ベルリン, ロベルトーロスレーシュトラッセ 1 0, グリコトープ ゲー
 エムバーハー 気付

(72)発明者

ケーラー, パトリック

ドイツ国 1 3 1 2 5 ベルリン, ロベルトーロスレーシュトラッセ 1 0, グリコトープ ゲー
 エムバーハー 気付

(72)発明者

イエケル, アニカ

ドイツ国 1 3 1 2 5 ベルリン, ロベルトーロスレーシュトラッセ 1 0, グリコトープ ゲー
 エムバーハー 気付

(72)発明者

バールケ, スヴェン

ドイツ国 1 3 1 2 5 ベルリン, ロベルトーロスレーシュトラッセ 1 0, グリコトープ ゲー
 エムバーハー 気付

(72)発明者

リシュケ, ティモ

ドイツ国 1 3 1 2 5 ベルリン, ロベルトーロスレーシュトラッセ 1 0, グリコトープ ゲー
 エムバーハー 気付

(72)発明者

ゴレッツ, クリストフ

ドイツ国 1 3 1 2 5 ベルリン, ロベルトーロスレーシュトラッセ 1 0, グリコトープ ゲー
 エムバーハー 気付

(72)発明者

フレヒナー, アンケ

ドイツ国 1 3 1 2 5 ベルリン, ロベルトーロスレーシュトラッセ 1 0, グリコトープ ゲー
 エムバーハー 気付

(72)発明者

シュテックル, ラルス

ドイツ国 1 3 1 2 5 ベルリン, ロベルトーロスレーシュトラッセ 1 0, グリコトープ ゲー
 エムバーハー 気付

(72)発明者

グルカ, シュテファニー

ドイツ国 1 3 1 2 5 ベルリン, ロベルトーロスレーシュトラッセ 1 0, グリコトープ ゲー
 エムバーハー 気付

F ターム (参考)

4B065 AA91X AB01 AC14 BA02 CA25 CA44

4C076 CC27 CC41 EE59

4C085 AA14 BB11 EE01

4H045 AA11 AA30 DA76 EA22 EA28 FA72 FA74 GA26